

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C08B 37/00

C12P 19/04

A61F 13/15

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 97191853.8

[45]授权公告日 2002年8月21日

[11]授权公告号 CN 1089345C

[22]申请日 1997.1.27

[21]申请号 97191853.8

[30]优先权

[32]1996.1.26 [33]DK [31]0092/96

[86]国际申请 PCT/DK97/00037 1997.1.27

[87]国际公布 W097/27221 英 1997.7.31

[85]进入国家阶段日期 1998.7.24

[73]专利权人 诺沃奇梅兹有限公司

地址 丹麦巴格司瓦德

[72]发明人 G·布多福森 L·S·佩德森

审查员 朱芳

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

代理人 陈文平

权利要求书 2 页 说明书 16 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 含果胶的材料酶促凝胶化及其所得产品和用途

[57]摘要

公开了一种导致含可凝胶化聚合材料的水介质凝胶化或粘度增加的方法,其中可凝胶化聚合材料具有带酚羟基的官能团,且其在水介质中,在存在羧酸酯水解酶时,对粘度增加或凝胶化敏感,该方法包括在存在适宜于与氧化酶制成过氧化物酶一起使用的氧化剂时,将水介质用下面的酶处理:羧酸酯酶(EC 3.1.1);和氧化酶(EC 1.10.3)和/或过氧化物酶(EC 1.11.1)。可将可通过本方法获得的凝胶化产物干燥或脱水产生可用作吸收水介质如体液的吸收剂的产品。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

知识产权出版社出版

权 利 要 求 书

1. 一种导致含有含果胶的材料的水介质凝胶化或粘度增加的方法，其中含果胶的材料具有带酚羟基的官能团，并且其在水介质中，在存在羧酸酯水解酶时对粘度增加或凝胶化敏感；该方法包括在存在适宜于与所述氧化酶和/或过氧化物酶一起使用的氧化剂时，将所述水介质在 pH4 - 9 和 25 - 45℃ 的温度下用下面的酶处理：

羧酸酯水解酶 EC 3.1.1； 和

氧化酶 EC 1.10.3 和/或过氧化物酶 EC 1.11.1.

2. 根据权利要求 1 的方法，其中所述含果胶的材料为果胶。

3. 根据权利要求 2 的方法，其中所述果胶材料为可从藜料植物的成员中获得的材料。

4. 根据权利要求 2 或 3 的方法，其中所述果胶材料可从制糖甜菜中获得。

5. 根据权利要求 2 - 4 任一项的方法，其中所述果胶材料是从制糖甜菜浆中提取的。

6. 根据权利要求 2 - 5 任一项的方法，其中在所述的对所述水介质的处理之前用 α -呋喃阿拉伯糖苷酶处理。

7. 根据权利要求 2 - 5 任一项的方法，其中在所述的对所述水介质的处理之前用乙酰基酯酶处理。

8. 根据权利要求 7 的方法，其中的乙酰基酯酶是果胶 - 乙酰基酯酶或木聚糖 - 乙酰基酯酶。

9. 根据前述任一项权利要求的方法，其中所述羧酸酯水解酶为果胶酯酶 EC 3.1.1.11.

10. 根据前述任一项权利要求的方法，其中所述氧化酶为漆酶 EC 1.10.3.2.

11. 根据前述任一项权利要求的方法，其中所述过氧化物酶为分类在 EC 1.11.1.7 的过氧化物酶。

12. 根据前述任一项权利要求的方法，其中将形成的凝胶产物进行

干燥或脱水过程。

13. 可由根据权利要求 1-12 任一项的方法而获得的凝胶化产物。

14. 根据权利要求 13 的产物, 其中该产物是干燥或脱水的凝胶产物。

15. 根据权利要求 13 或 14 的产物在生产用来吸收水介质的吸附材料中的应用。

16. 根据权利要求 15 的应用, 其中该产物是干燥或脱水的凝胶产物。

17. 根据权利要求 15 或 16 的应用, 其中所述水介质为体液。

说明书

含果胶的材料的酶促凝胶化及其所得产品和用途

发明的领域

本发明涉及一种导致含可凝胶化的聚合材料特别是果胶或果胶类物质的水介质发生凝胶化（凝胶化作用）或增加其粘度的方法，其中这些聚合材料具有带酚羟基的官能团或取代基，并且在水介质中它们在存在某些羧酸酯水解酶，尤其是果胶酯酶（参见下文）时对粘度增加或凝胶化敏感。

发明的背景

业已知使用称为“果胶酯酶”（EC 3.1.1.11；系统命名“果胶果胶基水解酶”；还称为“果胶酯酶”，“果胶甲基酯酶”，“果胶甲氧基酶”或“果胶脱甲氧基酶”；下文简称为 PE）来导致含某些果胶的水介质产生凝胶化作用或粘度增加。作为实例，WO 94/12055（Gist-Brocades N. V.）和 WO 94/25575（Novo Nordisk A/S）均描述了尤其是含果胶介质的 PE-催化的凝胶化作用或粘度增加与食品相关的应用。

而且，一些果胶（下文通常称为“酚式果胶”），特别是可从蓼科植物的成员（包括甜菜和菠菜）获得的果胶，以及从一些谷类（如从小麦和玉米）获得的半纤维素材料在某种程度上被来自含有酚羟基的某些羧酸的取代基所取代。这些酚式取代基通常来自取代的肉桂酸，并且在一些情况下，如酚式果胶，讨论的取代基通常为“阿魏基”官能团，即来自“阿魏酸”（4-羟基-3-甲氧基肉桂酸；看来它还未被清楚地确定是否“阿魏酸”包括顺或反式异构体形式，或包括两者）的酯官能团。

对于含该酚式果胶（和一些相关酚式多糖）的水介质的凝胶化和粘度的增加，其中不涉及使用 PE 的方法可能提及下面这些：

J. -F. Thibault 等，在果胶的化学和工艺，Academic Press 1991，第 7 章，P. 119-133，描述了通过纯粹的化学修饰，使用强氧化剂如过硫酸盐对甜菜明胶进行氧化交联（与其凝胶化相联系）。对于酶催化方

法，Thibault 等的参考文献还描述了结合使用过氧化物酶和过氧化氢使制糖甜菜果胶凝胶化。

FR 2545101 A1 描述了一种修饰（包括凝胶化）甜菜果胶的方法，包括使用“包含至少一种氧化剂和以讨论的氧化剂为底物的酶的氧化体系”。具体说明的和/或给出实施例的唯一种类的氧化剂和酶分别为过氧化氢和过氧化物酶。

类似地，WO 93/10158 描述了使用包含一种过氧化物（如过氧化氢）和一种“加氧酶”（优选过氧化物酶）的氧化体系凝胶化含酚式取代基〔例如来自阿魏酸（参见下文）〕的取代基〕的含水半纤维素材料。

申请人的共同未决 PCT 申请 No. PCT/DK95/00317（在本申请的申请日时未公开）公开了一种导致含具有带酚羟基取代基的可凝胶化的聚合材料（如上述酚式果胶）的水介质凝胶化或粘度增加的方法，该方法包括向水介质中加入氧化酶。讨论的氧化酶（通常分类在 EC 1.10.3）为能催化酚基团氧化并采用分子氧作为接受体的氧化还原酶（EC1）。公开在 PCT/DK95/00317 中的该发明上下文中的优选的氧化酶为漆酶（EC. 1.10.3.2）。

作为本发明的优选起始材料的上述类型的酚式果胶如上所述为天然产生的酚式多糖，它们易于得到并相对便宜，且在被人和动物摄取或与它们接触方面被证实具有生理上的安全性。

发明的概述

目前已惊奇地发现，(i)具有带酚羟基的官能团或取代基，并(ii)在一些羧酸酯水解酶（如果胶酯酶）存在下在水介质中对凝胶化或粘度增加敏感的物质（如酚式果胶），在适宜的氧化剂〔即适宜于与讨论的氧化酶和过氧化物酶一起使用的氧化剂，优选为与存在于反应介质中的其它成分（如可凝胶化的起始材料或存在的其它酶）能满意地相容的氧化剂，即在本发明的方法中使用而不对这些成分导致不利影响的氧化剂〕存在下，当不仅用一种所述羧酸酯酶，而且用一种氧化酶（特别是分类在 EC 1.10.3 下的氧化酶）和/或一种过氧化物酶（EC 1.11.1；如分类在 EC 1.11.1.7 下的过氧化物酶）处理时，可进行改进的凝胶化或粘度增加。

产生的凝胶化或粘性产物的应用范围包括如下所述（参见下文），

但决不局限于下面：

食品应用：在调味汁、肉卤、甜点、顶饰物、冰淇淋等中作为增稠剂和/或稳定剂；在果子酱、果浆、果冻等中作为凝固剂；在香料提取物等中作为粘度调节剂。

医学/医药应用：作为药物包囊的材料；作为药物释放（如口，肛门或阴道）的缓释载体；作为伤口或烧伤绷带的材料。

农业/园艺应用：作为杀虫剂输送的缓释载体（即作为生物容器）；作为植物培养基。

发明的详细描述

本发明涉及一种导致含可凝胶化材料 - 通常为可凝胶化的聚合材料，如果胶或其它果胶材料 - 的水介质凝胶化或粘度增加的方法，其中可凝胶化的聚合材料具有带酚式基团的官能团或取代基，并且在水介质中，在存在羧酸酯水解酶，尤其是果胶酯酶（参见下文）时对粘度增加或凝胶化敏感。本发明的方法包括在存在适宜与氧化酶和/或过氧化物酶一起使用的氧化剂时，将水介质用：羧酸酯水解酶〔优选果胶酯酶（PE），EC 3.1.1.11〕；和氧化酶（优选漆酶，EC 1.10.3.2）和/或过氧化物酶（优选分类在 EC 1.11.1.7 的过氧化物酶）处理。

对于向水介质中加入讨论的酶的顺序，通常优选在加入氧化酶和/或过氧化物酶之前向介质中加入羧酸酯水解酶，或向介质中基本上是同时加入各种酶。

凝胶的形成

通过用羧酸酯水解酶处理促进凝胶的形成：不受任何具体的理论所束缚，在不加入氧化酶时，向含所讨论类型的可凝胶化材料的水介质中加入羧酸酯水解酶（如果胶酯酶）后的凝胶的形成或粘度增加被认为主要是由于在二价金属离子特别是 Ca^{2+} 离子与羧酸根（即 $-\text{COO}^-$ ）官能团之间显著的静电相互作用（离子键）形成的三维网络所造成的，其中至少一些羧酸根官能团是作为酯键的水解酶催化的水解结果而存在的（果胶材料的情况下，主要为甲酯键；参见下文）。

因此这种方式的凝胶形成或粘度增加通常要求羧酸酯水解酶所加入的水介质中包含足够浓度的适宜的金属离子（非常适合的为钙离子），

并且如果介质中该离子的起始浓度太低时，这可能需要向介质中加入适宜的金属离子。

通过用氧化酶和/或过氧化物酶处理促进凝胶的形成：不受任何具体理论所束缚，在存在适宜的氧化剂时，在向含相关类型的酚式聚合物（如酚式果胶）的水介质中加入氧化酶和/或过氧化物酶（不加入羧酸酯水解酶）后，凝胶的形成或粘度增加被认为是由于借助于所讨论材料的酚式基团之间的交联聚合—推测借用于从羟基化的芳香取代基形成苯氧基而形成—所造成的。以这种方法增加的交联被认为伴随着凝胶化作用，导致了扩大的三维交联结构的形成。

凝胶的强度：已熟知凝胶的物理性质与相应的非凝胶化的溶液有极大的不同。凝胶化产物的物理性质以及通过在其中包含凝胶使产物具有的性质可通过各种技术来表征。

在一个称为“结构分析”并在本文实施例中采用的技术中（参见下文），通过将凝胶以预定的比例压缩选定的程度（如 20 - 30 %）并记录作为如时间函数的外加力来测定凝胶的“强度”或硬度。接着在力—时间曲线上确定作为峰力的凝胶强度（通常以每平方米牛顿(N/m²)来给出）。

可凝胶化的材料

如上面已经描述的，适用于本发明方法的可凝胶化材料通常为聚合材料。

可用的可凝胶化聚合材料包括某些类型的多糖基聚合物，它们中的许多种可很容易地从自然来源中获得（主要来自植物）并且当根据该方法形成的产物用于例如生产人和/或动物摄食的食品，或生产用于人或动物摄取或外部施用的药物、治疗剂或其它产品中时尤其特别适宜。而且，由于它们较为容易地生物可再生性和可降解性的缘故，这些自然来源的聚合材料通常对环境极为有利。

果胶构成了尤其令人感兴趣的这类物质。如上所述，可从藜科植物成员（它包括制糖甜菜，饲料甜菜、甜菜根，君达菜，菠菜和昆诺阿藜）得到的果胶包含来自肉桂酸的酚式取代基。果胶由基于线性高半乳糖醛酸聚糖的“光滑”区和基于带变化长度的侧支的鼠李半乳糖醛酸聚糖骨

架的“毛状”（分支）区组成。

果胶的线性高半乳糖醛酸聚糖部分以 1, 4 - 连接的 α - D - 半乳糖醛酸链为基础，取决于讨论的植物种类，该聚半乳糖醛酸被变化程度地甲酯化（也称为“甲氧基化”），并可（如在制糖甜菜果胶中）进一步被部分乙酰化。在本文中，果胶有时被分为“高甲氧基”果胶（通常定义为其中聚半乳糖醛酸的甲酯化程度大于约 50 % 的那些）或“低甲氧基”果胶（通常定义为其中聚半乳糖醛酸的甲酯化程度为约 50 % 或更低的那些）。

如上所述，由于在羧酸根阴离子和如 Ca^{2+} 离子之间的离子键形成三维网格，在例如果胶基的水介质中可发生凝胶化或粘度增加。这里可适宜地提出，一些果胶特别是具有相对高的固有含量的未酯化羧酸官能团的低甲氧基果胶可在存在如钙离子时，不用果胶酶或其它羧酸酯水解酶进行任何处理而发生一定程度的凝胶化或/粘度增加。

当在本发明的方法中采用果胶材料（如制糖甜菜果胶或相关的酚式果胶）作为可凝胶化材料时，讨论的水介质将优选包含二价金属离子（如 Ca^{2+} ， Mg^{2+} 或 Fe^{2+} ），其量为 0.1-100mg/g 果胶材料（干重），较优选为 0.5-50mg/g（干重），如 1 - 30mg/g 果胶材料（干重）。优选钙离子（ Ca^{2+} ）。

鼠李半乳糖醛酸聚糖为在主链中具有或多或少的有规律交替的鼠李糖和半乳糖醛酸残基的多糖。在果胶的毛状区中在鼠李半乳糖醛酸聚糖主链上有半乳糖醛酸残基的乙酰基〔参见 H. A. Schols 碳水化合物研究 206（1990），p. 117-129〕；侧链包括寡糖和多糖，如阿拉伯聚糖和阿拉伯半乳聚糖，它们与鼠李半乳糖醛酸聚糖主链上的鼠李糖连接。

制糖甜菜果胶尤其富含阿拉伯聚糖。阿拉伯聚糖在具有 α - (1 \rightarrow 3) - 或 α - (1 \rightarrow 2) - 连接的阿拉伯糖残基的主链上包含 β - 1, 5 - 连接的阿拉伯糖，而阿拉伯半乳聚糖在具有 α - (1 \rightarrow 3)或 α - (1 \rightarrow 2) 连接的阿拉伯糖残基的主链上包含 β - 1, 4 - 连接的半乳糖。阿魏基取代基与鼠李半乳糖醛酸聚糖部分的阿拉伯聚糖和阿拉伯半乳聚糖侧链中的阿拉伯糖和/或半乳糖相连。制糖甜菜果胶中的“阿魏酸”（阿魏基）的含量取决于提取方法，但通常为约 0.6 %（参见 F. Guillon 和 J. -F.

Thibault, 碳水化合物聚合物 12 (1990)353 - 374)。

业已知通过导致部分除去以在例如甜菜浆中存在的形式存在于甜菜果胶中的阿拉伯糖残基的方法而获得的甜菜果胶可能显示出改善的胶凝性质。因此, 例如包括温和酸处理和/或用 α - 呋喃阿拉伯糖苷酶处理的方法将改善果胶的胶凝性质 [F. Guillon 和 J. -F. Thibault (参见下文)]。如下面所描述及说明的, 这种处理也可在本发明方法的一些具体实例中采用。

上述类型的酚式果胶材料 (即酚式果胶或修饰的酚式果胶) - 特别是可从蓼料植物成员获得的, 如制糖甜菜果胶 - 是本发明酚式聚合物中优选的类型。

在酚式果胶中的酚取代的肉桂酸酯 (阿魏酸酯) 键可被阿魏酸酯酶水解。在例如包含肉桂酸类型的取代基的多糖纯化中采用的酶因而应当是基本上不含对讨论的多糖的阿魏酸酯具有特异性的阿魏酸酯酶活性。在低水活性的条件下, 阿魏酸酯酶催化形成与碳水化合物中的羟基的新酯键, 并从而可被用来增加果胶 (包括来自甜菜的果胶, 或来自蓼料植物的其它成员的果胶) 中酚式肉桂酸酯类型 (如阿魏基残基) 的酯残基的含量, 并因此改善它们在本发明上下文中的胶凝性质。

因此, 在低水活性的条件下, 阿魏酸酯酶被用来将肉桂酸酯类型的基团 (如阿魏酸酯基团) 与不包含可用于完成凝胶化作用的酚式残基的果胶 (可能是其它类型, 如在存在羧酸酯水解酶, 如果胶酯酶时对粘度增加或凝胶化敏感的含羟基聚合物) 相连, 并且从而使得它们对氧化酶和/或过氧化物酶催化的凝胶化作用敏感。

与酚式肉桂酸 (或其它酚式羧酸) 的酯键也可通过本领域已知的非酶方法来合成。为了获得具有进行氧化性凝胶化作用能力的酚式聚合物, 可将含有酸基团的聚合物如果胶用多羟基的酚式物质如阿魏醇、芥子醇或木素衍生物酯化。

本发明上下文中特别令人感兴趣的酚式取代基包括包含在芳环中相对于酚式羟基基团为邻位的一个或两个甲氧基的那些 (如在例如阿魏基 (4 - 羟基 - 3 - 甲氧基肉桂酰) 取代基的情况) 。

本发明方法中采用的存在于水介质中的酚式聚合物 (如酚式果胶材

料) 的浓度通常在介质的 0.1-10% (重量计) 的范围内, 例如在 0.5 - 5 % (重量计) 的范围内。酚式聚合物的浓度在约 1 - 5 % (重量计) 的范围内通常是适宜的。

酶

本说明书和权利要求书中所涉及的酶的分类号 (EC 号) 按照生物化学和分子生物学国际联盟命名委员会的推荐 (1992), Academic Press Inc., 1992。

羧酸酯水解酶: 如所述, 本发明上下文中优选的羧酸酯水解酶 (EC 3.1.1) 为果胶酯酶 (EC 3.1.1.11)。其它可能相关的羧酸酯水解酶包括羧酸酯酶 (EC 3.1.1.1)。

适用于本发明方法中的果胶酯酶可从例如各种植物和微生物来源中获得。优选的果胶酯酶包括可从真菌如曲霉属的真菌如可从曲霉 *A. japonicus* (S. Ishii 等, 食品科学杂志 44 (1979), p. 611-614)、曲霉 *A. aculeatus*、黑曲霉 (EP 0388593 A1) 或泡盛曲霉 (EP 0388593 A1), 或镰孢霉属, *Sclerotonia* 或青霉属 (DE 2843351; US 4,200,694) 的真菌获得的果胶酯酶。这些真菌果胶酯酶显示出相对低的最佳 pH, 并且非常适宜于用于本发明中。

当例如果胶材料被作为可凝胶化材料用于本发明的方法中时, 该方法中采用的果胶酯酶的量应通常在 0.1-100PEU/kg (干重) 果胶材料的范围内。优选为 1 - 100 PEU/kg, 如 10 - 100 PEU/kg。

果胶酯酶活性 (PEU) 的测定

1 PEU 相当于 pH4.8 底物浓度为 0.5 % (重量计, % w/w)、使用柑橘果胶 (72 % 甲酯化) 底物, 每分钟水解 1mmol 果胶甲酯的果胶酯酶的量。有关分析方法的进一步的详细情况提供在手册 ABT-SM-0005.1.01/Drf5.3 中, 可从 Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Denmark 索取获得。

用于本发明上下文中的果胶酶制备物优选基本上不含任何果胶解聚酶活性 (即基本上不含任何催化果胶的多糖主链解聚的酶 - 如“果胶裂解酶”, “果胶裂解酶”或“聚半乳糖醛酸酶”)。这些果胶酯酶可通过使用基本上不产生果胶解聚酶的用于酶表达的宿主系统而获得 (参

见例如 WO 94/25575)。

氧化酶：本发明情形中优选的氧化酶为分类在 EC 1.10.3 下的氧化酶，它们为能催化酚式基团氧化的氧化酶。氧化酶为采用分子氧作为接受体的酶（即催化其中分子氧起氧化剂作用的氧化反应的酶）。

如上所述，漆酶（EC 1.10.3.2）是本发明上下文中非常适宜的氧化酶。本发明情形中可能有用的其它酚-氧化氧化酶的实例包括儿茶酚氧化酶（EC 1.10.3.1）。在一些情况下，使用不同的酚-氧化氧化酶的混合物也可能是适宜的。

漆酶可从各种微生物来源获得，主要是细菌和真菌（包括丝状真菌和酵母），漆酶的适宜的实例见于可从真菌获得的那些，包括可从曲霉属、脉孢菌属（如粗糙脉孢菌）、柄孢壳属、葡萄孢属、金钱菌属、层孔菌属、香菇属、侧耳属、栓菌属[其中一些种类/菌株以各种其他名称为人所知和/或以前被分类在其它属；例如栓菌 *Trametes villosa*=*T. pinsitus*=多孔菌（也称为 *P. pinsitus* 或 *P. villosus*）=筛孔革盖菌]，多孔菌属、丝核菌属（如立枯丝核菌）、鬼伞属（如褶纹鬼伞）、小脆柄菇属（*Psathyrella*），毁丝霉属（如 *M. thermophila*）*Schytalidium*、射脉菌属（如辐射射脉菌，参见 WO 92/01046）/或革盖菌属（如毛革盖菌，参见 JP 2 - 238885）。

本发明的情形中优选的漆酶包括可从栓菌 *Trametes villosa* 获得的漆酶和可从毁丝霉 *M. thermophila* 获得的漆酶。

对于栓菌 *Trametes villosa* 漆酶，用于本发明方法中的漆酶的量通常应在 0.01-1000KLACU/kg（干重）可凝胶化材料范围内，优选 0.05-100 KLACU/kg 可凝胶材料，并且通常在 0.1-100KLACU/kg 可凝胶材料的范围内（LACU 为如下定义的漆酶活性单位：1 KLACU = 1000LACU）。

漆酶活性（LACU）的测定

根据对在需氧条件下丁香醛连氮氧化的分光光度测定来确定本文定义的漆酶活性。在 530nm 处测定氧化反应中产生的紫色的强度。

分析条件为：19 μ M 丁香醛连氮，23.2mM 乙酸盐缓冲液，pH5.5，30℃，反应时间 1 分钟，摇动，1 个漆酶单位（LACU）为在

此条件下每分钟催化 1 μ M 丁香醛连氮转化的酶量。

对于总体漆酶来说，用于本发明方法中的漆酶的量通常在 0.0001-10mg 漆酶（以纯酶蛋白质计算）/g（干重）可凝胶化材料的范围，更通常为 0.001-1mg/g，并且典型地在 0.01-1mg 漆酶/g 可凝胶化材料的范围内。

过氧化物酶：用于本发明方法中的过氧化物酶（EC 1.11.1）优选为可从植物（如辣根过氧化物酶或大豆过氧化物酶）或可从微生物如真菌或细菌获得的过氧化物酶。在这方面，一些优选的真菌包括属于半知菌亚门，丝孢菌纲，如镰孢霉属，腐植菌属，木霉属（*Trichoderma*），漆斑菌属，轮枝孢属，*Arthromyces*，卡尔黑霉属，*Ulocladium*，*Embellisia*，枝孢属或 *Dreschlera* 的菌株，尤其是尖镰孢（DSM 2672），腐质霉 *H. insolens*，木霉 *T. resii*，漆斑菌 *M. verrucana*（IFO 6113），黄萎轮枝孢，大丽花轮枝孢，*Arthromyces ramosus*（FERM P - 7754），烟色卡尔黑霉，*Ulocladium chartarum*，*Embellisia alli* 或 *Dreschlera halodes*。

其它优选的真菌包括属于担子菌亚门，担子菌纲，如鬼伞属，*Phanerochaete*，革盖菌属或栓菌属的菌株，尤其是灰盖鬼伞 *f. microsporus*（IFO 8371），长根鬼伞，*Phanerochaete chrysosporium*（如 NA - 12）或栓菌 *T. versicolor*（如 PR4 - 28 - A）。

其它优选的真菌包括属于接合菌亚门，*Mycoraceae* 纲，如根霉属或毛霉属的菌株，尤其是冻土毛霉。

一些优选的细菌包括放线菌目的菌株，如浑球链霉菌（ATCC 23965），热紫链霉菌（IFO 12382）或轮枝链霉菌（*streptoverticillum verticillium ssp. verticillium*）。

其它优选的细菌包括短小芽孢杆菌（ATCC 12905），嗜热脂肪芽孢杆菌，红色杆菌（*Rhodobacter sphaeroides*），红细胞藻 *Rhodomonas palustri*，乳链球菌，假单孢菌 *P. purrocinia*（ATCC 15958）或荧光假单孢菌（NRRL B - 11）。

其它优选的细菌包括属于粘球菌属的菌株，如变绿粘球菌。

特别有用的过氧化物酶的其它可能的来源列在 B. C. Saunders 等，

过氧化物酶，伦敦 1964, p. 41-43 中。

如上所述，本发明的情形中优选的过氧化物酶包括分在 EC1.11.1.7 下的过氧化物酶。这种类型的适宜的过氧化物酶的一个实例为可从灰盖鬼伞获得的过氧化物酶。

当在根据本发明方法中采用过氧化物酶时，其量为 0.00001-1mg 过氧化物酶（以纯酶蛋白质计算）/g(干重)可凝胶化材料通常是适宜的。采用的量通常为 0.0001-0.1mg/g，如 0.0001-0.01mg 过氧化物酶/g 可凝胶化材料。

氧化剂

用于本发明方法中的酶和氧化剂很显然应互相匹配，很显然优选讨论的氧化剂仅参与与结合过程有关的氧化反应，并且对参与该方法的物质/材料不具有任何不利影响。

由于如上所述它们催化分子氧进行的氧化，从许多方面来说，讨论的氧化酶类型，如漆酶非常适宜于本发明的情形。因此，在与空气接触的容器中进行的包含氧化酶作为酶的反应能使用空气中的氧作为氧化剂；然而，在反应期间用空气或其它含氧气体（如富氧空气，或如果适宜为基本上为纯氧）在反应介质强制通气以确保充足的氧供应可能是有利的。

如上所述，氧化酶催化（如漆酶催化的）的氧化作用涉及氧，并且在本发明方法中的氧的消耗导致了以一种方式利用该方法的可能性，从增加如食品或医学产品的贮存期限上来看，它可以是有利的，其中食品或医学产品的制备需要使用其中采用氧化酶（如漆酶）的本发明方法的方案，因为起初存在于密封食品包装等中的氧的消耗将减少包装的内含物的氧化降解的可能性。

在过氧化物酶的情况下，过氧化氢是本发明情形中优选的过氧化物（氧化剂），并通常以 0.01-500mM 的浓度（在反应介质中），通常以 0.01-100mM 范围的浓度采用。对于许多过氧化物酶，适宜的浓度范围为 0.05-10mM，如 0.05-5mM。

反应介质的 pH

尤其取决于采用的酶的特性，进行本发明方法的水介质（反应介质）

的 pH 一般为 3 - 10，优选 4 - 9，通常为 4 - 7。

反应介质的温度

对进行本发明方法的水介质（反应介质）的温度选择尤其取决于采用的酶的最佳温度和/或热稳定性。对于羧酸酯水解酶特别是果胶酯酶，10 - 50 °C 的温度范围对于相关的许多果胶酯酶通常是适合的，同时 10 - 70 °C 的温度范围对于许多氧化酶和过氧化物酶常常是适合的。

因此，例如如果在加入氧化酶（如漆酶）和/或过氧化物酶之前向讨论的反应介质中加入果胶酯酶，可能（并且从加速整个凝胶化速度或增加介质中的粘度的角度来看可能是有利的）将反应介质的温度最初保持在果胶酯酶正常温度范围的上限值，并当酯水解反应被认为已进行至足够程度时，接着将介质的温度升至氧化酶和/或过氧化物酶正常温度范围的上限值。

然而，在采用基本上同时向反应介质中加入果胶酯酶和氧化酶和/或过氧化物酶的情况下，一般希望将反应介质的温度限制在不超过约果胶酯酶的正常范围的上限值。

当例如在本发明的方法中采用果胶材料（如甜菜果胶）作为可凝胶化材料，并采用果胶酯酶和氧化酶（如漆酶）和/或过氧化物酶的混合物作为酶，在反应介质保持在室温（通常为约 25 °C）- 约 45 °C 的温度范围内时，本发明的方法通常能令人满意地进行。

应用

如上所述，根据本发明生产的凝胶化产品或粘液增加的产品具有广泛的用途，如在食品和饲料领域、药物和农业领域、个人保健/个人卫生用品领域以及动物宠物产品中。

在食品领域，例如相信本发明尤其适宜于“食物”罐头的凝胶化，如含糖很少或不含糖的果酱、果子酱等。

根据本发明生产的一些凝胶产品（“水凝胶”）的特别令人感兴趣和有价值的特性为当被干燥或脱水时，它们能吸收为它们本身重量的许多倍的液体（尤其是水或水介质，如体液，例如尿和血液）的能力。显示出这些吸附特性的材料有时被称为“超吸附”材料。

起先，与超吸附材料相关的最重要的性质被认为是总吸附容量。然

而，后来许多其它性质被认为极具重要性。这些性质包括下面：吸附速例；抗所谓凝胶结块的能力（其中吸附材料的一部分被液体饱和并阻止更多的液体进入吸附材料的其余部分）；和负荷下的吸附（AUL：即当例如承受压缩或离心力时，超吸附材料吸收液体的能力）。

可根据本发明获得的一些产品，如从果胶材料，如制糖甜菜果胶生产的凝胶化产品看来非常适宜于用作上述类型的吸附材料，本发明包括这些应用。作为可根据本发明获得的干燥或脱水凝胶产品的液体吸附性质应用的实例，可提及它们作为吸附剂在下列方面中的应用：用于婴儿或失禁病人的一次性尿布；一次性使用的女性保健产品（卫生巾，卫生餐巾，短内裤保护层，卫生塞、等）；和用于吸附家养和其它动物（如猫或啮齿类）的尿/粪便的“猫床”类型的一次性材料。

讨论的这类干燥或脱水的凝胶化产品可适宜地通过如在室温或在适当升高的温度（如高至约 40 °C）下将它们进行真空干燥而获得。在一些情况下，例如用与水混溶的有机溶剂（如丙酮，乙醇等）洗涤进行预处理可能在通过例如真空处理的最终干燥之前的降低凝胶的水含量中具有价值。

对于本领域普通技术人员来说，与使用吸附材料相关的环境和其它优点是显而易见的，其中吸附材料为例如根据本发明制备的凝胶化的果胶产品，它可从生物可再生来源直接和安全地制备。并且它们本身容易生物降解。

本发明其它方面涉及：

通过根据本发明的方法获得或可获得的凝胶化产品；

根据本发明的方法的一个实施方案，其中从中形成的凝胶化产品经过一个干燥或脱水过程（例如如上所述）；

(i)通过根据本发明的方法的上述实施方案；或(ii)通过干燥或脱水根据本发明的凝胶产品而获得或可获得的干燥或脱水的凝胶产品；

本发明的凝胶产品在生产用于吸附水介质（如体液，例如尿或血液）的吸附材料中的应用；和

根据本发明的干燥或脱水凝胶产品作为用于吸附水介质（如上面提到的体液）的吸附材料的应用。

本发明通过下面实施例进一步说明，它决不打算限制如权利要求所述的本发明的范围。

实施例 1：制糖甜菜果胶的凝胶化作用

下面实施例中采用下面的酶：

果胶酯酶（PE；如 WO 94/25575 描述所获得）；栓菌 *Trametes villosa* 漆酶（由 Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Denmark 生产）；

鼠李半乳糖醛酸聚糖 - 乙酰基酯酶（RGAE；如 WO 93/20190 描述所获得）；

α - 呋喃阿拉伯糖苷酶（ α - ARA；可从如 MEGAZYME, Austrilia 获得）。

凝胶化过程

80 °C 下，通过剧烈搅拌将 24.0g 制糖甜菜果胶（GENU β 果胶，BETA 型，来自 Hercules Inc.）溶解在 1176g 去离子水中来制备 1200g 2 % w/w 的制糖甜菜果胶的水溶液。向冷却的溶液（约 25 °C）中加入氯化钙二水合物的水溶液以使 Ca^{2+} 离子的含量相当于 1.5% w/w（干重）的果胶量，然后通过加入 4M NaOH 水溶液调节 pH 至 4。

接着将得到的溶液的三个 300g 的等分试样分别进行如下处理（分别产生样品 I，II 和 III）：

样品 I：不加酶

样品 II：加入 RGAE（25 μ g 酶蛋白/g 果胶）

样品 III：加入 α - ARA（25 μ g 酶蛋白/g 果胶）

制备后，40 °C 下让三个样品静置 30 分钟。随后将三个样品 I、II 和 III 每一种的四份 50g 的等分试样均放入 100ml 烧杯中（分别为 A，B，C 和 D）。接着将烧杯中的等分试样如下处理：

烧杯 A：对照（不加入酶）

烧杯 B：PE（10 PEU/kg 果胶）

烧杯 C：漆酶（3.5 LACU/g 果胶）

烧杯 D：PE（10 PEU/kg 果胶 + 漆酶（3.5LACU/g 果胶）

45 °C 下，将烧杯放置 30 分钟，在此期间，通过用空气吹泡对每个烧杯的内容物通气；随后将每个烧杯的内容物分为两个样品。将得到的

样品（总共 $2 \times 12 = 24$ ）在冰箱中放置 1 周，此后通过使用带有直径为 20mm 的平底压缩量筒的 SMS 质地分配仪 TA - XT2（Stable Micro Systems; XT. RA Dimensions, Operating Manual version 37）的质地分析测定它们的硬度（见上）。

测定条件如下：

凝胶变形（压缩）%： 30 %

形变的速度（压缩）： 2mm/秒

在样品未显示出凝胶形成（或仅有微弱的凝胶形成）的情况下，仅进行肉眼评价。

获得的结果在下面给出（两次测定的平均值）。应注意到为了简便起见，在这里对于每个凝胶的峰力以牛顿（N），而不以 N/m^2 表示，因为全部采用相同的试验探测器（具有相同的量筒截面面积）：

样品/烧杯号（处理）	力（N）
IA(无酶处理)	无凝胶形成
IB(PE)	微弱的凝胶形成
IC(漆酶)	1.4
ID(PE + 漆酶)	3.7
IIA(RGAE)	无凝胶形成
IIB(RGAE+PE)	微弱的凝胶形成
IIC(RGAE+漆酶)	0.6
IID(RGAE+PE+漆酶)	3.0
IIIA(α -ARA)	无凝胶形成
IIIB(α -ARA+PE)	微弱的凝胶形成
IIIC(α -ARA+漆酶)	0.3
IIID(α -ARA+PE+漆酶)	4.3

从上面的结果清楚地看出在所有情况下，用 PE 和漆酶的处理产生强度（硬度）明显高于在不存在漆酶时使用 PE 或在不存在 PE 时使用漆酶而获得的那些凝胶。结果还表明在用 PE 和漆酶结合处理之前用一些果胶脱支酶（在此情况下为 α - ARA）处理果胶起始材料可导致产生的凝

胶的强度（硬度）的进一步增加。

在这方面，特别是当在本发明的方法中采用果胶材料作为可凝胶化材料时，设想在进行本发明方法之前进行例如预处理时，使用一些其它的脱支酶（或其它类型的酶），如一些类型的乙酰基酯酶〔而不是鼠李半乳糖-乙酰基酯酶（RGAE）〕，如果胶-乙酰基酯酶或木聚糖-乙酰基酯酶，或如阿拉伯聚糖酶或半乳糖酶，也可导致改善的性能（如改善的凝胶强度，或改善的对干燥的凝胶产品的液体吸附或液体保留的能力）。

干燥的凝胶化产品的液体-吸附和液体-保留性质

下面是对用来测定根据本发明的干燥形式凝胶化产品的吸附和保留水介质的能力的举例说明：

可通过让其在蒸馏水中静置 1 - 2 小时来洗涤凝胶样品。可通过如在钢筛过滤器上过滤除去水。接着将样品用大量的水充分漂洗，用丙酮洗涤并在真空干燥器中干燥，如在 30 °C 下过夜。

将由此获得的产物切成片并例如在小型实验室研磨机中（如具有环形筛 6.0 的 Retsch Ultra Centrifugal Mill ZM 1000 通常适用于此目的）粉碎。

接着可如下适宜地测定干燥凝胶样品的自由溶胀容量（FSC；即液体吸收量/g 干燥凝胶）和保留容量（RC；即液体保留量/g 干燥凝胶）。

FSC：将 0.2g 粉碎的干燥凝胶样品放入均匀网格的尼龙“茶叶袋”中（3.5 × 6cm）。接着将封好的“茶叶袋”在目的水介质中浸 2 小时，如模仿人尿的水溶液，其具有下面的组成：60mM KCl, 130mM NaCl, 3.5mM MgCl₂ × 6H₂O, 2.0mM CaCl₂ × 2H₂O, 300mM 尿素，通过加入 Triton™X - 100（Rohm & Haas）将表面张力调至 60 达因/cm〔表面张力的测定可用如 CAHN 动态触角分析仪（Cahn Instrument Inc.），使用 Wilhelmy 平板技术来进行〕。

让装有内含物的被浸泡的“茶叶袋”滴液干燥 2 分钟，所讨论凝胶的 FSC 通过将茶叶袋中凝胶样品吸收的液体的重量(g)除以干燥凝胶样品的起始重量（在此情况下为 0.2g）来计算。

RC：将滴液干燥的“茶叶袋”离心（使用如 WIFUG 实验室离心

机 500E，327 × g 离心 10 分钟)。接着通过将离心后留在茶叶袋的被吸收的液体的重量(g)除以干燥凝胶样品的起始重量(在此情况下为 0.2g)来计算所讨论凝胶的 PC。

实施例 2：凝胶的溶胀和保留容量

在下面的实施例中采用下面的酶：

果胶酯酶 (PE；如 WO 94/25575 描述所获得)，*Myceliophthera thermophila* 漆酶 (由 Novo Nordisk A/S 生产，Bagsvaerd，丹麦)。

通过剧烈搅拌将 3.0g 制糖甜菜果胶 (GENU β 果胶，BETA 类型，来自 Hercules Inc.) 溶解在 100ml 热 (约 80 °C) 的去离子水中来制备制糖甜菜果胶的 3 % (w/v) 水溶液等份样品。不调 pH。冷却至室温后 (约 25 °C)，在此温度下，将溶液与不同量的 PE 保温 2 小时。接着向各溶液中加入漆酶 (0.6mg/g 果胶)，室温下，将溶液再保温 2 小时。使用上述方法测定凝胶的 FSC 和 RC。

得到的结果如下：

PE 的量 (PEU/kg 果胶)	FSC (g/g)	RC (g/g)
0	10.5	6.4
13.3	16.5	9.5
25.9	15.6	8.5
51.7	17.6	10.8

结果清楚地表明在用漆酶处理之前，先用 PE 处理导致凝胶的液体吸收 (溶胀) 和液体保留性质的显著改善。