



Shipin Meizhiji Ji Yingyong

食品酶制剂及应用

张春红 主编



中国计量出版社
CHINA METROLOGY PUBLISHING HOUSE

Food preservatives: Manufacturing & Usage pattern

食品防腐剂及应用

宋书红 编著



食品酶制剂及应用

张春红 主编

中国计量出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

食品酶制剂及应用/张春红主编. —北京: 中国计量出版社,
2008. 5

ISBN 978 - 7 - 5026 - 2835 - 2

I. 食… II. 张… III. 酶制剂: 食品添加剂 IV. TS201. 3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 055554 号

内 容 提 要

本书重点介绍了目前国内外主要应用的 90 余种食品酶制剂的特性。全书共分为酶制剂的生产、分离纯化与应用、淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶、其他酶制剂、微生物制剂、酶活化剂、酶制剂国家标准检测方法和附录等部分，对每种酶制剂的名称、别名、编号、性状、作用形式、性质、来源、催化机理、生产方法、产品质量指标、用途、限量、毒性、包装和贮藏等进行了较全面的介绍。

本书内容全面、翔实、特色突出，具有知识面广、实用性强的特点，是食品酶制剂生产企业、食品加工企业生产、研发和质量检验人员必备的工具书，也可为广大食品院校师生教学、科研的主要参考书。

中国计量出版社出版

北京和平里西街甲 2 号

邮政编码 100013

电话 (010) 64275360

<http://www.zgjl.com.cn>

北京市密东印刷有限公司印刷

新华书店北京发行所发行

版权所有 不得翻印

*

850 mm×1168 mm 32 开本 印张 8.5 字数 208 千字

2008 年 6 月第 1 版 2008 年 6 月第 1 次印刷

*

印数 1—2 000 定价：22.00 元

编 委 会

主 编 张春红

副主编 刘 玲 翟爱华 王淑琴

编 委 (按姓氏笔画排序)

王淑琴 冯 颖 刘 欣

刘 玲 李 斌 李淑荣

张 鹏 张春红 郑 艳

宣 炎 郭维维 黄晓杰

翟爱华

主 审 吕淑霞

前 言

Enzyme Technology and Application
酶制剂生产与应用

酶制剂是一类从动物、植物、微生物中提取具有生物催化能力的蛋白质。具有用量少、催化效率极高、高度的专一性、易变性、酶活性可调控性，以及反应条件温和等特点，在食品生产中得到广泛的应用，可应用于轻工、食品、化工、医药、农业以及能源、环境保护等方面。酶制剂的使用具有加速食品加工工程进度，提高食品质量，降低生产成本，节约原料和能量，有利于环境保护等作用。

目前酶的生产方法可归纳为提取法、发酵法和化学合成法三种。提取法是最早采用而沿用至今的方法，它是采用各种提取方法、分离技术，从动物、植物或微生物细胞或组织中将酶提取分离出来。发酵法是 20 世纪 50 年代以来酶生产的主要方法，它利用细胞，主要是微生物细胞的生命活动而获得人们所需要的酶。根据微生物培养方式的不同，发酵法可分为固体培养发酵、液体深层发酵、固定细胞发酵和固定化原生质发酵等。化学合成法是 20 世纪 60 年代中期出现的新技术，目前仍处于实验室阶段。

酶制剂的生产应用与现代生物技术有着密切的联系。作为当前社会最具潜力和前景的技术之一的

现代生物技术，主要应用于医药领域的红色生物技术、农业食品领域的绿色生物技术、白色生物技术。随着科学技术的发展及生物技术应用研究的深入，酶的应用面不断扩展。在世界经济全球化的发展趋势下，国内外酶制剂公司不断应用基因工程、蛋白质工程等高新技术，研制新酶和开发其新用途的进程不断深入；酶制剂的剂型不断向多品种、多剂型、功能性、专用性和复合性的方向发展；国际上大型酶制剂公司在酶生产工艺中投入的研究开发经费一般可达15%以上，这使酶的生产采用高新技术的含量不断提高。

本书尤为适用于食品酶制剂生产企业和食品加工企业的生产、研发和质量检验人员使用，也可供有关大专院校作教材或参考书用。本书在编写过程中得到了中国计量出版社等单位的关心和支持。沈阳农业大学食品学院、黑龙江八一农垦大学食品学院部分同志参加了本书的编写工作，沈阳农业大学生物技术学院副院长吕淑霞教授担任本书主审。在此一并对在本书编审过程付出辛苦劳动的同仁致以诚挚的谢意。

本书在编写过程中由于时间紧，任务重，内容覆盖面广，疏漏和错误在所难免，恳请广大读者给予批评指正。

编 者

2008年4月

目 录

第一章 概 述	(1)
第二章 酶的生产、分离纯化与应用	(14)
一、酶的发酵技术	(14)
(一) 产酶微生物	(15)
(二) 酶的发酵技术	(16)
(三) 食品生产常用酶的发酵技术举例	(22)
二、酶的分离纯化	(26)
(一) 酶原料的选择	(26)
(二) 酶的提取	(27)
三、酶的纯化	(32)
(一) 沉淀法	(33)
(二) 凝胶过滤	(43)
(三) 亲和层析法	(49)
(四) 染料层析法	(56)
(五) 疏水层析法	(57)
(六) 电泳法	(58)
四、酶分离、纯化的评价	(64)
(一) 概念	(64)
(二) 酶纯化评价实例	(64)
(三) 酶的剂型与保存	(68)

五、酶应用新技术	(69)
(一) 固定化酶	(70)
(二) 固定化细胞	(84)
(三) 共固定化技术	(86)
(四) 抗体酶	(87)
第三章 淀粉酶	(90)
(一) 淀粉酶	(90)
(二) α -淀粉酶	(93)
(三) β -淀粉酶	(95)
(四) 葡萄糖淀粉酶	(96)
(五) 耐高温 α -淀粉酶	(99)
(六) α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶	(101)
(七) 生麦芽糖淀粉酶	(102)
(八) 麦芽糖酶	(102)
(九) 异淀粉酶	(103)
(十) 普鲁蓝酶	(104)
第四章 蛋白酶	(105)
(一) 蛋白酶	(105)
(二) 木瓜蛋白酶	(106)
(三) 菠萝蛋白酶	(108)
(四) 无花果蛋白酶	(109)
(五) 胃蛋白酶	(110)
(六) 凝乳酶	(110)
(七) 单宁酶	(112)
(八) 胰蛋白酶	(113)
(九) 碱性蛋白酶	(113)
(十) 支链淀粉酶	(114)

(十一) 凝乳酶 A	(114)
(十二) 凝乳酶 B ₁	(115)
(十三) 凝乳酶 B ₂	(115)
(十四) 中性蛋白酶.....	(116)
(十五) 碱性蛋白酶.....	(116)
(十六) 弹性蛋白酶.....	(116)
(十七) 中性金属蛋白酶.....	(117)
第五章 脂酶.....	(118)
(一) 脂酶.....	(118)
(二) 柚苷酶.....	(119)
(三) 果胶酶.....	(120)
(四) α-乙酰乳酸酯脱羧酶	(122)
第六章 其他酶制剂.....	(123)
(一) 花色素酶.....	(123)
(二) 糖酶.....	(123)
(三) 糖酶和蛋白酶混合制剂.....	(125)
(四) 过氧化氢酶.....	(126)
(五) 纤维素酶.....	(128)
(六) β-葡聚糖酶	(129)
(七) 葡萄糖异构酶.....	(131)
(八) 葡萄糖氧化酶.....	(132)
(九) 半纤维素酶.....	(133)
(十) 柚苷酶.....	(134)
(十一) 橙皮苷酶.....	(134)
(十二) 蔗糖酶.....	(135)
(十三) 乳糖酶.....	(136)
(十四) 溶菌酶.....	(137)

(十五) 固定化葡萄糖异构酶.....	(139)
(十六) 脲酶.....	(140)
(十七) 葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶.....	(140)
(十八) 转葡萄糖苷酶.....	(141)
(十九) 谷氨酰胺转氨酶.....	(142)
(二十) 消色肽键端解酶.....	(146)
(二十一) 酸式磷酸酯酶.....	(146)
(二十二) 猕猴桃碱.....	(147)
(二十三) 酰基转移酶.....	(147)
(二十四) 琼脂水解酶.....	(148)
(二十五) 海藻酸裂解酶.....	(149)
(二十六) 氨肽酶.....	(150)
(二十七) 抗坏血酸氧化酶.....	(150)
(二十八) 羧肽酶.....	(151)
(二十九) 甲壳质酶.....	(151)
(三十) 壳聚糖酶.....	(152)
(三十一) 环糊精葡聚糖转移酶.....	(152)
(三十二) 5'-脱氨酶	(153)
(三十三) 麦芽低聚糖生成酶.....	(154)
(三十四) 内麦芽六糖水解酶.....	(154)
(三十五) 内麦芽五糖水解酶.....	(155)
(三十六) 外麦芽四糖水解酶.....	(155)
(三十七) 果糖基转移酶.....	(156)
(三十八) α -半乳糖苷酶	(156)
(三十九) 葡聚糖酶.....	(157)
(四十) α -葡糖基转移酶	(158)
(四十一) 谷氨酰胺酶.....	(158)
(四十二) 菊糖酶.....	(160)

(四十三) 海藻糖酶.....	(160)
(四十四) 异麦芽糖葡聚糖酶.....	(161)
(四十五) 乳过氧化物酶.....	(161)
(四十六) 脂氧合酶.....	(161)
(四十七) 胞壁质酶.....	(162)
(四十八) 神经氨酸苷酶.....	(162)
(四十九) 脍水解酶.....	(163)
(五十) 胰酶.....	(163)
(五十一) 肽酶.....	(164)
(五十二) 过氧化物酶.....	(165)
(五十三) 磷酸二酯酶.....	(165)
(五十四) 磷脂酶.....	(166)
(五十五) 植酸酶.....	(167)
(五十六) 多酚氧化酶.....	(167)
(五十七) 苕霉多糖酶.....	(168)
(五十八) 超氧化物歧化酶.....	(169)
(五十九) 木聚糖酶.....	(170)
(六十) 几丁质内切酶.....	(170)
(六十一) 甘露聚糖酶.....	(171)
第七章 微生物制剂.....	(172)
(一) 乳酸杆菌.....	(172)
(二) 面包酵母.....	(172)
(三) 甜酒曲.....	(174)
第八章 酶活化剂.....	(175)
(一) 赤霉素.....	(175)
(二) 赤霉酸钾.....	(176)

第九章 酶制剂国家标准检测方法	(178)
(一) 淀粉酶的活力测定	(178)
(二) 木瓜蛋白酶活力测定	(183)
(三) 胃蛋白酶活力测定	(186)
(四) 蛋白酶的活力测定	(188)
(五) 凝乳酶活力测定	(195)
(六) 胰蛋白酶活力测定	(197)
(七) 耐热性的 α -淀粉酶活力的测定	(198)
(八) 酯酶活力测定	(205)
(九) 果胶酶活力测定	(206)
(十) 过氧化氢酶活力测定	(207)
(十一) 纤维素酶活力测定	(209)
(十二) 葡萄糖异构酶活力测定	(210)
(十三) 葡萄糖氧化酶活力测定	(213)
(十四) 半纤维素酶活力测定	(214)
(十五) 蔗糖酶活力测定	(217)
(十六) 乳糖酶活力测定	(219)
(十七) 溶菌酶活力测定和质量指标分析	(221)
(十八) 固定化葡萄糖异构酶活力质量指标分析	(223)
(十九) 面包酵母质量指标分析	(225)
(二十) 赤霉酸含量分析	(228)
(二十一) 赤霉酸钾含量分析	(229)
附 录	(231)
附录 1 通用试液 (TS)	(231)
附录 2 通用鉴别试验法 (IT)	(232)
附录 3 通用测试方法 (GT)	(233)
参考文献	(254)

第一章 概 述

酶（Enzymes）是一类具有专一性生物催化能力的蛋白质。从生物体中提取的具有酶活力的酶制品，称酶制剂。具有以下特点：

①催化效率高，可在常温、常压和接近中性的条件下反应，因此在食品加工中，酶能防止食品中的色、香、味和营养成分受到破坏；

②专一性强，一种酶只能催化一种或一类物质的反应，可从复杂的成分中将某一组分加工成为产品，或从原料中除去某一不需要的组分；

③本身为蛋白质，无毒、无臭，可安全地用于食品加工，它们对一些化学试剂及温度、pH 非常敏感，可用简单的办法来控制反应过程；

④来源广泛，一切动植物和微生物都是酶的生产者，酶制剂容易获得。

由于这些特点，酶在食品工业中的用途十分广泛，主要用于食品加工，如回收副产品，制造新的食品，提高提取的速度和产量，改进产品的风味和食品质量等。属于食品加工助剂类添加剂。

按生物化学的标准来衡量，食品加工中所用的酶制剂是一种粗制品，大多数酶制剂含有一种主要酶和几种其他的酶。如木瓜蛋白酶制剂，除木瓜蛋白酶外，还含有木瓜凝乳蛋白酶、溶菌酶及纤维素酶等。

概括地说，酶制剂的生产方法可分为两种：一种是从动、植

物组织或汁液中提取分离酶；二是采用微生物发酵法生产酶。早期的酶制剂（如胰蛋白酶、胰淀粉酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、麦芽淀粉酶、辣根过氧化物酶等）的生产方法主要采用前一种方法。该方法的基本过程包括：酶的提取、浓缩、分离和纯化。胞外酶的提取可采用水、盐溶液或缓冲溶液直接提取，胞内酶则需要先对动、植物组织进行匀浆，然后再提取。匀浆可采用绞肉机或高速组织捣碎机进行。酶提取后，需对提取液进行浓缩，然后再将酶分离纯化。

生产酶制剂来源于动物、植物和微生物。以往常局限于动物脏器（如取自小牛第四胃的皱胃酶，由猪或牛胰腺提取的胰蛋白酶）和高等植物（如无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶等）。随着发酵工业的迅速发展，近年来酶制剂的主要来源已被微生物所取代。由微生物所产生的酶制剂的特点是不受季节、地区、数量等条件的限制，而且种类多、繁殖快、质量稳定、成本低。

来源于动植物的酶制剂一般不存在毒性问题。许多传统食品工业常用的酶制剂（如酒类、酱油等），如来源于酵母、乳杆菌、乳酸链球菌、黑曲霉、米曲霉等属的酶，和来源于非致病菌（如大肠杆菌、枯草杆菌）的酶，一般也被认为是安全的。为保证食品的安全性，FAO/WHO（联合国粮农组织/世界卫生组织）在制订每种酶制剂的 ADI（半致死剂量）值同时，还规定该酶制剂的来源，如只有来源于米曲霉、黑曲霉、根霉、枯草杆菌和地衣形牙孢杆菌的酶可作为食品加工用酶制剂。

(1) 按 FCC-IV (美国食用化学品法典, 第四版, 1996) 的规定, 所有食品级酶制剂的通用质量指标:

- ① 酶活力 (为所标示值) 85%~115%;
- ② 重金属 (GT-3, 试样 0.5 g) ≤30 mg/kg;
- ③ 铅 (GT-4) ≤5 mg/kg;
- ④ 大肠杆菌 (GB 4789.3—1994) ≤30 个/g;
- ⑤ 沙门氏菌 (GB 4789.4—1994) 阴性/25g。

(2) 按 FAO/WHO (2001. 规定:

- ①铅 (原子吸收法) $\leqslant 5 \text{ mg/kg}$;
- ②沙门氏菌和致病性大肠杆菌 阴性/25g;
- ③杂菌总数 (GB 4789.2—1994) $\leqslant 30 \text{ 个/g}$;
- ④抗菌活性 由微生物制得在阴性。

随着微生物菌种突变技术的发展和生物工程的开发, 酶制剂的品种和经济效益正在不断扩大。目前已制备的酶制剂有近百种, 已工业化生产的约 50 种, 在食品工业中常用的约 35 种。它们的主要品种、来源、作用的最适 pH 和最适温度等基本情况见表 1—1。

表 1—1 食品加工用酶的主要品种、来源、性质和用途

种类 (编号)	来源	最适 pH	最适温度 / °C	用途及其他
碳水化合物酶类				
α -淀粉酶 (EC 3.2.1.1.)	谷类	5~6	50	酒类和糖浆制造中的淀粉液化、糖化。广泛应用于葡萄糖、葡萄糖浆、麦芽寡糖、啤酒、黄酒、白酒、酒精、味精、乳酸、柠檬酸等的制造; 改善焙烤制品的质量。钙离子能激活、提高热稳定性, 受氧化剂抑制
	胰脏	6.0~7.0	40~50	
	黑曲霉变种	5	55~100	
	米曲霉变种	4.8~5.8	45~55	
	枯草杆菌变种	5~7	60~70	
	大麦芽	4~5.8	50~65	
β -淀粉酶 (EC 3.2.1.2.)	谷类	5.5	55	还原剂能提高活性耐酸用于高麦芽糖浆生成(麦芽糖含量可达 60% 以上)
	大麦芽	5~5.5	40~55	
	大豆	4~7	55	
	细菌性	5~7	60	

续表

种类(编号)	来源	最适pH	最适温度/℃	用途及其他
葡萄糖淀粉酶 (EC 3.2.1.3)	泡盛曲霉 黑曲霉变种 米曲霉变种 根霉 枯草杆菌 地衣形芽孢杆菌	4~5 4~5 4~5 4~5 6~7 7~8	60 55~65 55~60 55 70~80 90~95	制造淀粉糖浆、果汁、干酪、啤酒等, 钙离子, 能抑制螯合剂
花青素酶	黑曲霉变种、米曲霉变种	3~9	50	水果制品的除色(如桃子), 制白葡萄酒等
过氧化氢酶 (EC 1.11.1.6)	黑曲霉变种 牛肝 辣根 溶纤维的蛋白小球菌	5~8 7 5~7 7~9	35 45 45 35	干酪制造等 低酸稳定、碱性抑制
纤维二糖酶 (E3.2.1.21.)	黑曲霉变种	5	60	纤维素的分解, 防止浑浊
纤维素酶 (EC 3.2.1.4)	黑曲霉变种 担子菌类 菌丝青霉 根霉变种 木霉变种	5 4 5 4 5	45 50 65 45 55	分解纤维素, 提高果汁得率, 有利于淀粉的制备
葡萄糖酶 (EC 3.2.1.11.)	青霉变种	5	55	产生异麦芽糖和异麦芽三糖
双乙酰还原酶	产气气杆菌	6~8	30	乙醇可抑制, 除去啤酒中双乙酰