

FOOD PROTEIN

ENZYMATIC
HYDROLYSIS TECHNOLOGY

食物蛋白质 控制酶解技术

崔春 编著



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

食物蛋白质控制 酶解技术

崔 春 编著

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

食物蛋白质控制酶解技术 / 崔春编著. —北京:
中国轻工业出版社, 2018. 6

ISBN 978-7-5184-1724-7

I. ①食… II. ①崔… III. ①食物-蛋白酶-研究
IV. ①Q556

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 292637 号

责任编辑: 钟 雨 罗晓航

策划编辑: 伊双双

责任终审: 滕炎福

封面设计: 锋尚设计

版式设计: 华 艺

责任校对: 吴大鹏

责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市万龙印装有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2018 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 710 × 1000 1/16 印张: 36

字 数: 830 千字

书 号: ISBN 978-7-5184-1724-7 定价: 80.00 元

邮购电话: 010-65241695

发行电话: 010-85119835 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请与我社邮购联系调换

151543K1X101ZBW

前 言

蛋白质控制酶解技术具有反应条件温和、安全性高、得率高、清洁等优势,逐渐成为食品工业应用范围最广、行业关联度最大的关键技术之一,其生产和研发水平能直接或间接地反映出该国家或地区食品工业的发展水平。蛋白质经水解后得到的蛋白水解物是典型的功能性食品配料,已广泛应用于餐饮、调味品、冷冻食品、方便食品、肉制品、保健食品、乳制品等食品行业中。但由于人们对蛋白酶解技术本质认识不够深入及国外技术壁垒和技术封锁,造成蛋白质控制酶解技术在工业化应用中仍存在诸多问题。目前这一领域研究人员众多,部分研究成果已产业化,但大部分研究侧重于酶解工艺优化,国内尚未见系统、全面论述蛋白质控制酶解技术的专著。

本书以编者近十年在食物蛋白质资源深加工领域所获得的科研成果、产业化经验以及国内外大型食品公司和高等院校的授权专利为主体内容,对食物蛋白质资源控制酶解技术进行了系统介绍,以提升我国食物蛋白质资源酶解工业的技术水平,促进相关产业更好地发展。

本书全面地介绍了近 50 年来蛋白质酶解科学的发展过程、学科全貌、基本原理、最新进展和发展前景。本书在传播知识的同时,也描绘出蛋白质酶解科学发展的脉络与起伏,以及与多种学科的交叉、渗透的联系。本书从蛋白酶的酶学特性和催化特性出发,针对不同食物蛋白质资源的组成和结构特征,沿着蛋白控制酶解技术应用的脉络,从原理、技术、工艺、应用和设备等多方面系统论述了我国重要食物蛋白质资源控制酶解技术的研究进展。

本书首先介绍了蛋白酶的相关基础理论;其次,从蛋白质酶解工程的上游、中游和下游论述蛋白质控制酶解技术的影响因素和关键技术;

再次，分别从谷物、油料种子、畜禽及其加工副产物、鱼类、微生物、虾贝和乳等食物蛋白质资源的控制酶解技术和工艺进行介绍；最后，基于编者对食物蛋白质资源控制酶解的研究和认识，提出这一领域的发展前景。

在本书的编写过程中，参考了国内外前辈和同行撰写的书籍和期刊论文资料，在此一并表示衷心感谢。

由于编者知识和语言能力有限，错误在所难免，敬请读者指导。

崔 春

2018年1月

华南理工大学

cuichun@scut.edu.cn

目 录

1 蛋白酶的基本性质	1
1.1 蛋白酶的分类和命名	1
1.1.1 习惯命名法	1
1.1.2 国际系统分类法及编号	1
1.1.3 蛋白酶的分类和命名	3
1.1.4 常见蛋白酶及特性	7
1.2 酶的化学本质和结构	22
1.2.1 酶的化学本质和化学组成	22
1.2.2 酶的空间结构	22
1.2.3 酶的活性部位和别构部位	23
1.3 酶的催化本质和专一性	25
1.3.1 酶及蛋白酶的生物活性	25
1.3.2 酶及蛋白酶的催化专一性	28
1.3.3 酶的催化机制	37
1.4 酶催化反应动力学	40
1.4.1 酶促催化反应速度的测定	40
1.4.2 蛋白酶酶促催化反应动力学及 K_m 值	43
1.4.3 底物浓度对蛋白质酶解的影响	44
1.4.4 蛋白酶浓度对酶促催化反应的影响	46
1.4.5 抑制剂和激活剂对酶促催化反应的影响	47
1.4.6 pH 对蛋白酶酶促效率和酶切位点的影响	50
1.4.7 温度对酶解效率和酶切位点的影响	54
1.5 影响蛋白酶活力的因素	58
1.5.1 黏度对酶活力及水解效率的影响	58
1.5.2 压力对酶活力的影响	59
1.5.3 剪切对酶活力的影响	60
1.5.4 超声能量对酶活力的影响	60
1.5.5 离子辐射作用对酶活力的影响	61

1.5.6	溶剂和溶质对蛋白酶活力的影响	62
1.5.7	脉冲电场对酶活力的影响	62
1.5.8	其他酶制剂对蛋白酶效率的影响	63
1.6	酶制剂的安全性	63
1.6.1	酶制剂产品的安全性要求	63
1.6.2	酶制剂对操作者健康造成的影响和控制	66
1.6.3	酶制剂对包装材料的安全性要求	67
2	食物蛋白质酶解工程技术基础	71
2.1	食物蛋白质酶解工艺及设备	71
2.1.1	蛋白质酶解过程控制	71
2.1.2	酶解液的灭酶	75
2.1.3	酶解液的后处理	76
2.2	蛋白质酶解产物的功能特性变化	83
2.2.1	溶解性	84
2.2.2	水合性质和持水性能	86
2.2.3	黏度	88
2.2.4	乳化特性	90
2.2.5	渗透压和水分活度	91
2.2.6	凝胶作用	93
2.2.7	发泡性	94
2.2.8	蛋白质酶解物与碳水化合物相互作用	95
2.3	蛋白质酶解过程的其他化学反应	98
2.3.1	氧化反应	99
2.3.2	美拉德反应	101
2.3.3	肽的水解反应	103
2.3.4	与多酚的反应	104
2.3.5	与脂肪的反应	105
2.4	蛋白质酶解产物的分析技术	106
2.4.1	蛋白质水解度的测定	107
2.4.2	蛋白质酶解产物的分离分析技术	115
2.4.3	蛋白质酶解产物的分析鉴定技术	121
3	谷物蛋白质控制酶解技术	129
3.1	小麦面筋蛋白控制酶解技术及应用	130
3.1.1	小麦面筋组成及结构特征	130
3.1.2	小麦面筋的预处理	136

3.1.3	高底物浓度体系中小麦面筋的酶法改性	143
3.1.4	小麦面筋控制酶解制备谷氨酰胺肽	149
3.1.5	多菌种混合制曲-液态发酵制备呈味基料	155
3.1.6	小麦面筋蛋白水解物的制备及其在饲料行业中的 应用	167
3.1.7	小麦面筋蛋白控制水解技术的其他应用	171
3.2	玉米蛋白控制酶解技术及应用	178
3.2.1	玉米蛋白组成及结构特征	180
3.2.2	玉米黄粉前处理技术及酶解工艺优化	182
3.2.3	玉米黄粉控制酶解制备醒酒肽	183
3.2.4	玉米蛋白粉控制酶解制备高 F 值寡肽	185
3.2.5	玉米蛋白来源的生物活性肽	188
4	豆类和油料种子蛋白质控制酶解技术	198
4.1	大豆蛋白组成、结构特征及酶解	199
4.1.1	大豆蛋白组成特征	199
4.1.2	大豆 11S 球蛋白的结构特征	200
4.1.3	大豆 7S 球蛋白的结构特征	201
4.1.4	大豆 2S 球蛋白的结构特征	202
4.2	大豆蛋白选择性酶解制备改性蛋白质	203
4.2.1	选择性水解 7S 伴球蛋白制备注射型大豆分离蛋白	203
4.2.2	选择性水解 11S 大豆球蛋白	205
4.2.3	限制性水解 7S 制备高白度、低凝胶温度改性 大豆产物	208
4.2.4	选择性水解制备高乳化性和搅打能力大豆多肽	211
4.2.5	低植酸含量的改性大豆蛋白的制备及应用	213
4.3	大豆蛋白控制酶解制备生物活性肽	218
4.3.1	肽的概述	219
4.3.2	肽的体内吸收机制	222
4.3.3	利用类蛋白反应制备高 F 值大豆肽	228
4.3.4	具有胆囊收缩素 (CCK) 释放活性的蛋白质 水解产物的制备	232
4.3.5	分子质量低于 500u 抗氧化肽的制备及其应用	234
4.3.6	大豆减肥肽 (lipolysis-stimulating) 的制备	237
4.3.7	具有抗幽门螺旋杆菌活性的豌豆蛋白肽	240
4.3.8	酸稳定的大豆蛋白肽混合物的制备	241

4.3.9	脱脂豆乳肽的制备	243
4.3.10	利用大豆蛋白酶解物抑制淀粉回生的方法	244
4.3.11	β -大豆伴球蛋白控制酶解制备大豆糖肽	245
4.3.12	花生粕酶解物-葡萄糖浆反应物改善 沙琪玛风味利用	246
4.3.13	用于减麦芽或无麦芽发酵啤酒的大豆蛋白水解物	251
4.4	大豆蛋白深度水解制备呈味基料	253
4.4.1	酸水解植物蛋白质 (HVP) 和酶水解植物蛋白质 (EVP) 的风味特征及比较	253
4.4.2	豆粕复合酶酶解制备大豆呈味肽	261
4.4.3	固态制曲-液态酶解制备呈味基料	266
4.4.4	液态发酵法制备呈味基料	271
4.4.5	利用美拉德反应提高大豆蛋白水解物呈味效果	273
5	畜禽加工副产品控制酶解技术	279
5.1	咸蛋清及蛋制品控制酶解技术	279
5.1.1	鸡蛋的化学组成	279
5.1.2	鸡蛋蛋白质的功能性质及加工性能	285
5.1.3	控制酶解降低蛋清蛋白过敏性	287
5.1.4	咸蛋清控制酶解制备溶菌酶、呈味基料和蛋黄油	289
5.1.5	咸蛋清控制酶解制备虾肉保水剂	295
5.1.6	禽蛋蛋白制备功能性肽	301
5.2	畜禽血液中血红细胞控制酶解技术	308
5.2.1	酶解血红细胞制备脱色血红蛋白酶解物与血红素肽	309
5.2.2	牛血红细胞制备具有抗糖尿病作用的蛋白质水解物	315
5.2.3	血红蛋白源的生物活性肽	316
5.3	畜禽骨架控制酶解技术	318
5.3.1	畜禽骨架的组成及利用现状	319
5.3.2	畜禽骨架控制酶解制备肉类抽提物	322
5.3.3	畜禽加工副产物控制酶解技术的其他应用	325
6	鱼类蛋白质控制酶解技术	332
6.1	鱼类蛋白质的组成、结构及风味特征	332
6.1.1	鱼类蛋白质的组成和结构特征	332
6.1.2	鱼类呈味物质	334
6.2	海产小杂鱼深度酶解制备呈味基料	337
6.2.1	鱼内源性蛋白酶及其自溶工艺	338

6.2.2	小杂鱼蛋白质深度酶解工艺优化	341
6.2.3	鱼酶解过程中腐败变质的控制	344
6.2.4	小杂鱼酶解过程中生物胺和挥发性盐基氮的 形成及控制	345
6.2.5	鱼酶解液腥味、异味形成的原因及去除	347
6.3	鱼类控制酶解制备功能性肽	351
6.3.1	控制酶解黄鲫蛋白质制备功能性肽	352
6.3.2	控制酶解乌鱼蛋白质制备促进伤口愈合肽	355
6.3.3	深度水解制备二肽基肽酶IV抑制肽	356
6.3.4	利用金枪鱼暗色肉控制酶解制备抗宫颈癌多肽	358
6.3.5	鱼皮胶原控制酶解制备抗冻肽	359
6.3.6	胶原蛋白源生物活性肽	360
6.4	罗非鱼加工副产物高值化利用技术	363
6.4.1	罗非鱼鱼皮、鱼鳞控制酶解制备胶原蛋白肽	363
6.4.2	罗非鱼鱼排高值化利用	372
6.5	添加蛋白酶缩短鱼露生产周期	375
6.5.1	鱼露的传统发酵方法	375
6.5.2	添加蛋白酶缩短鱼露生产周期	377
7	酵母控制酶解制备酵母抽提物	382
7.1	酵母及酵母抽提物简介	382
7.1.1	酵母的化学组成及结构	382
7.1.2	酵母抽提物及其特性	385
7.2	酵母抽提物的制备技术	390
7.2.1	酵母破壁技术	391
7.2.2	啤酒酵母的脱苦及清洗	394
7.2.3	酵母内源性酶及自溶	396
7.2.4	酵母酶解制备酵母抽提物	401
7.2.5	高酵母浓度酶解体系及酵母抽提物的制备	410
7.3	特种酵母抽提物的制备	422
7.3.1	高谷氨酸酵母抽提物的制备	422
7.3.2	酱油用酵母抽提物的制备	423
7.3.3	高核苷酸酵母抽提物的制备	425
7.4	风味化酵母抽提物的制备	430
7.4.1	反应物浓度对美拉德反应的影响	431
7.4.2	反应时间对美拉德反应的影响	433

7.4.3	反应温度对美拉德反应的影响	435
7.4.4	还原糖添加量对美拉德反应的影响	436
7.4.5	半胱氨酸添加量对美拉德反应的影响	438
7.4.6	硫胺素添加量对美拉德反应的影响	439
7.5	其他特种酵母抽提物的制备	440
7.5.1	具有味道增强效果的酵母抽提物	440
7.5.2	复合蛋白酵母抽提物的制备	441
7.5.3	增强高汤风味的酵母抽提物	442
7.5.4	高蛋白质含量的酵母抽提物	443
7.5.5	火锅用鲜味稳定的酵母抽提物	444
8	甲壳动物蛋白质控制酶解技术	448
8.1	贝肉蛋白质控制酶解技术	448
8.1.1	贝类蛋白质组成、结构及特征风味	449
8.1.2	牡蛎控制酶解技术	454
8.1.3	其他贝类控制酶解技术及应用	465
8.1.4	贝类酶解液中重金属的去除	477
8.2	虾、蟹蛋白质控制酶解技术	481
8.2.1	虾头、蟹的化学组成及特征风味	482
8.2.2	虾头和虾壳控制酶解技术	489
9	牛乳蛋白控制酶解技术	505
9.1	牛乳蛋白的组成与结构特征	505
9.1.1	酪蛋白组成与结构特征	505
9.1.2	乳清蛋白的组成与结构特征	509
9.2	乳源生物活性肽及其制备	512
9.2.1	降血压肽的制备技术	514
9.2.2	阿片肽制备技术	521
9.2.3	免疫调节肽的制备技术	524
9.2.4	酪蛋白磷酸肽的活性、制备方法及分离方法	526
9.2.5	抗焦虑肽的制备技术	536
9.2.6	酪蛋白糖巨肽的制备技术	540
9.3	酶解降低牛乳蛋白过敏性	542
9.4	乳清蛋白选择性水解技术	546
9.4.1	选择性水解 β -乳球蛋白富集 α -乳白蛋白	546
9.4.2	选择性水解 α -乳白蛋白富集 β -乳球蛋白	548
9.4.3	乳清蛋白水解制备美白肽	550

9.4.4	乳清蛋白水解制备皮肤改善肽	551
9.4.5	乳清蛋白水解提高干酪得率	553
9.4.6	乳清蛋白水解制备具有改善肌肉恢复功能的 乳清蛋白水解物	554
9.4.7	乳清蛋白酶解-美拉德反应制备仔猪诱食配料	554
9.4.8	乳蛋白水解物改善乳酪品质	556
9.4.9	乳蛋白控制水解制备具有预防或治疗糖尿病的二肽	558

1 蛋白酶的基本性质

1.1 蛋白酶的分类和命名

酶的分类比较复杂,常用的是习惯命名法和国际系统分类法。蛋白酶的分类和命名尤为复杂,包括多种习惯命名法、酶学委员会分类法和 MEROPS 系统分类。这些分类和命名方法互相交叉,相互补充。

1.1.1 习惯命名法

(1) 根据酶催化的反应性质分类,分为六大类:① 氧化还原酶;② 转移酶;③ 水解酶;④ 裂合酶;⑤ 异构酶;⑥ 合成酶。蛋白酶属于水解酶。

(2) 根据酶在代谢调节中的作用分类,分为三大类:① 组成酶;② 潜在酶,包括酶原、非活力型酶和与抑制剂结合的酶;③ 调节酶,包括诱导酶、同工酶等。

(3) 根据酶的来源和作用底物分类,分为三大类:① 动物酶;② 植物酶;③ 微生物酶。

(4) 根据酶在细胞合成后存在部位,可分为胞内酶和胞外酶。

1.1.2 国际系统分类法及编号

1978 年国际生物化学与分子生物化学联盟命名委员会 [(Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, NC - IUBMB), <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>] 将已发现的 2000 多种酶根据催化反应的性质进行分类,分别用 1、2、3、4、5、6 表示;再根据底物中被作用的基团或化学键等特点,将每一大类分为若干亚类、次亚类;最后,再排列各个具体的酶,采用四位数字编号系统,其中第一位数表示酶的大类,第二位数表示亚类,第三位数表

示次亚类，第四位数表示次亚类中具体酶的编号，前面冠以 E. C. 标志，为酶学委员会“Enzyme Commission”的缩写。这种分类法比较科学，每种酶都有特定的编号，并可从中了解酶的性质，新发现的酶也可对号入座，不会造成紊乱，也便于检索。如表 1.1 所示。

表 1.1

酶的编号和分类

1. 氧化还原酶	3.2 作用于糖苷键
1.1 作用于供体的 CH—OH 基团	3.3 作用于醚键
1.2 作用于供体的醛或桥氧基团	3.4 作用于肽键
1.3 作用于供体的 CH—CH 基团	3.5 作用于碳—氮键，肽键除外
1.4 作用于供体的 CH—NH ₂ 基团	3.6 作用于酸酐
1.5 作用于供体的 CH—NH 基团	3.7 作用于碳—碳键
1.6 作用于 NADH 或 NADPH	3.8 作用于卤化物键
1.7 作用于供体的其他含氮化合物	3.9 作用于磷—氮键
1.8 作用于供体的含硫基团	3.10 作用于硫—氮键
1.9 作用于供体的血红素基团	3.11 作用于碳—磷键
1.10 作用于供体的二酮和相关物质	4. 裂合酶
1.11 作用于受体的过氧化氢	4.1 碳—碳裂合酶
1.12 作用于供体的氢	4.2 碳—氧裂合酶
1.13 作用于单个供体同时并入分子氧	4.3 碳—氮裂合酶
1.14 作用于成对供体同时并入分子氧	4.4 碳—硫裂合酶
1.15 作用于受体的超氧化物基	4.5 碳—卤化物裂合酶
1.16 氧化金属离子	4.6 磷—氧裂合酶
1.17 作用于 CH ₂ 基团	4.7 其他裂合酶
1.18 作用于供体的还原型铁氧化还原蛋白	5. 异构酶
1.19 作用于供体的还原型黄素氧化还原蛋白	5.1 外消旋酶和表异构酶
1.20 其他氧化还原酶	5.2 顺—反异构酶
2. 转移酶	5.3 分子内氧化还原酶
2.1 转移 1—碳基团	5.4 分子内转移酶
2.2 转移醛或酮残基	5.5 分子内裂解酶
2.3 酰基转移酶	5.6 其他异构酶
2.4 糖基转移酶	6. 连接酶
2.5 转移烷基或烯基、甲基除外	6.1 形成碳—氧键
2.6 转移含氮基团	6.2 形成碳—硫键
2.7 转移含磷基团	6.3 形成碳—氮键
2.8 转移含硫基团	6.4 形成碳—碳键
3. 水解酶	6.5 形成磷脂键
3.1 作用于酯键	

1.1.3 蛋白酶的分类和命名

蛋白酶 (protease、proteinases、proteolytic enzymes、peptidase) 是描述一种分解蛋白质的酶的术语, 从内部切割多肽链生成大片段的酶被称为蛋白水解酶 (proteinase) 或内肽酶 (endopeptidase); 有些酶在靠近多肽链的末端发挥作用, 切下一个或几个氨基酸残基的产物, 这种酶被称为外肽酶 (exopeptidase)。肽酶 (peptidase) 是 NC - IUBMB 推荐的一个词, 作为所有蛋白水解酶的一种术语。蛋白酶和肽酶本质上均是指分解蛋白质的酶, 但在国内肽酶往往指外切蛋白酶, 这是在阅读文献时需要注意的地方。

蛋白酶的分类方法较多, 比较复杂, 常用的分类方法如下。

按蛋白酶的来源可分为动物蛋白酶、植物蛋白酶和微生物蛋白酶, 如胰蛋白酶 (trypsin)、木瓜蛋白酶 (papain) 和微生物碱性蛋白酶 (alcalase)。微生物内源性蛋白酶中内切蛋白酶和羧肽酶以微生物 + 英文字母命名, 如羧肽酶 Y; 而氨肽酶用微生物 + 罗马字母命名, 如酵母蛋白酶 A。

一些蛋白酶以它们水解的特定蛋白质或多肽来简单命名, 如角蛋白酶、胶原酶、弹性蛋白酶。

按蛋白酶作用的最适 pH, 可分为酸性蛋白酶、碱性蛋白酶和中性蛋白酶。

按蛋白酶的作用方式可分为内肽酶 (内切蛋白酶) 和外肽酶 (外切蛋白酶)。内肽酶包括动物蛋白酶, 如胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶等; 植物蛋白酶, 如木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、生姜蛋白酶、合欢蛋白酶、贯筋藤蛋白酶等; 微生物蛋白酶, 如丹麦诺维信公司生产的碱性蛋白酶、中性蛋白酶以及国产的碱性蛋白酶地衣型芽孢杆菌 2709、中性蛋白酶枯草杆菌 1.398、酸性蛋白酶黑曲霉 3350 等。大量实验数据均表明内肽酶也有一定的外切蛋白酶活力。以碱性蛋白酶为例, 添加大豆蛋白 0.3% 的碱性蛋白酶, 55℃ 水解 30min, 酶解产物中游离氨基酸占总氮含量的 0.3%。

外肽酶按作用方式可分为氨肽酶、羧肽酶、二肽酶和三肽酶。氨肽酶从多肽的 N 端水解出游离氨基酸, 按有限水解氨基酸的种类可分为亮氨酸氨肽酶、丙氨酸氨肽酶、半胱氨酸氨肽酶、三肽 - 氨肽酶、脯氨酸氨肽酶、精氨酸氨肽酶和谷氨酸氨肽酶等, 其酶学国际系统分类号分别为 E. C. 3. 4. 11. 1 - E. C. 3. 4. 11. 7。目前已分离纯化出来的氨肽酶超过 26

种。羧肽酶从多肽的 C 端水解出游离氨基酸。羧肽酶按活性中心可分为丝氨酸羧肽酶、金属羧肽酶和半胱氨酸羧肽酶，其中以金属羧肽酶最为常见。食品工业中常用的牛羧肽酶 A (E. C. 3. 4. 17. 1) 可从 C 端释放出游离氨基酸，但当 C 端含有 Asp、Glu、Arg、Lys 或 Pro，无法水解。二肽酶按作用机制可分为两类：一类是从多肽链的 C 端或 N 端水解产生二肽，命名为肽基二肽酶 (dipeptidyl - peptidase 或 peptidyl - dipeptidase)；另一类是水解二肽产生游离氨基酸，命名为二肽酶 (dipeptidase)。三肽酶一般既可以从多肽链的 C 端或 N 端水解产生三肽，又可以水解三肽产生二肽，命名为 tripeptidyl - peptidases。商品化的肽酶一般是多种蛋白酶、肽酶的混合物，如丹麦 Novozymes 公司生产的风味蛋白酶 (Flavourzyme) 就含有羧肽酶和氨肽酶。外切酶在食品工业上的一个重要应用是能够把处于肽链末端的氨基酸逐个水解出来，降低水解液的苦味。

根据蛋白酶的水解特异性，还可将蛋白酶命名为：脯氨酸内切蛋白酶 (脯氨酰内切蛋白酶)、组氨酸内切蛋白酶 (组氨酰内切蛋白酶)、谷氨酸内切蛋白酶 (谷氨酰内切蛋白酶) 等。

然而，目前国内外广泛使用的蛋白酶分类方法是根据蛋白酶的活性中心，将蛋白酶分为 6 类：天冬氨酸型、半胱氨酸型、金属型、丝氨酸型、苏氨酸型蛋白酶和未知型，其中天冬氨酸型、半胱氨酸型、金属型和丝氨酸型最为常见。如表 1.2 所示。

表 1.2 蛋白酶的催化类型

类型	实例	典型的抑制剂
天冬氨酸型	胃蛋白酶、组织蛋白酶 E	胃蛋白酶抑制剂
半胱氨酸型	木瓜蛋白酶、组织蛋白酶 K	碘乙酸
金属型	嗜热菌蛋白酶、脊椎动物胶原酶、羧肽酶 A	1,10 - 二氮菲、EDTA
丝氨酸型	胰蛋白酶、脯氨酸寡肽酶	氟磷酸二异丙酯
苏氨酸型	蛋白酶体	(乳胞素可抑制一些蛋白酶体)
未知型	gpt 内肽酶，IV 型 prepilin 蛋白酶	上述抑制剂都无效

过去，通常用不同类型的抑制剂来鉴定蛋白酶活性位点的催化类型。如果一种酶与催化类型已知的蛋白酶具有同源性，则通常可以根据其氨基酸序列进行识别，如果不行，对可能的催化残基进行位点特异性突变可能会有所帮助。

丝氨酸蛋白酶的活性中心是由一个丝氨酸残基连接一个咪唑基和天冬氨酸羧基构成的，其编码的前三位为 E. C. 3. 4. 21。丝氨酸蛋白酶几乎全是内肽酶，胰蛋白酶、糜蛋白酶、弹性蛋白酶、枯草杆菌碱性蛋白酶、凝血酶（thrombin）均属于此类。胰蛋白酶（E. C. 3. 4. 21. 4）专一性水解赖氨酸与精氨酸羧基形成的肽键，具有消化蛋白质的功能，在脊椎动物、昆虫、甲壳动物等体内主要起蛋白消化作用，此外还可激活所有胰腺分泌的酶原，迅速地激活其他蛋白酶原（糜蛋白酶原、羧肽酶原、弹性蛋白酶原）而行使消化功能。

半胱氨酸蛋白酶，又称巯基蛋白酶，是一种活性中心由半胱氨酸、组氨酸两种必需基团组成的内肽酶。半胱氨酸蛋白酶的活性依靠巯基（—SH）来维持，一些重金属离子、烷化剂、氧化剂可抑制半胱氨酸蛋白酶的活性。半胱氨酸蛋白酶编码的前三位为 E. C. 3. 4. 22。目前，已有报道的动物消化系统中的半胱氨酸蛋白酶在酸性条件下活性较高，在碱性条件下几乎无活性，主要种类有组织蛋白酶 B、组织蛋白酶 L 和组织蛋白酶 S。此外，木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶以及某些链球菌蛋白酶也属于此类。

金属蛋白酶是一种活性中心含有二价金属阳离子的水解酶，化学修饰试验表明其活性中心可能存在至少一个酪氨酸残基和一个咪唑基与金属盐离子结合。金属蛋白酶的活性中心含有镁、锌、铁、铜等金属离子，金属螯合剂如乙二胺四醋酸（EDTA）、邻菲绕啉（OP）等能将金属原子从酶金属剥离而引起失活，失活的酶重新加入金属可使酶的活性恢复，这种酶也可受到氰化物和其他金属离子的强烈抑制。这一类的蛋白酶包括许多微生物中性蛋白酶、胰羧肽酶 A 和某些氨肽酶。

天冬氨酸蛋白酶是一类在酸性 pH 条件下具有较高的催化活性和稳定性的内肽酶，活性中心含有两个天冬氨酸残基的羧基端，能被对 - 溴苯甲酰甲基溴（P - BPB）或重氮试剂如重氮乙酰正亮氨酸甲酯（DAN）不可逆地失活。

这种分类仍不完善，如宛氏拟青霉（*PaE. C. ilomyces varioti*）蛋白酶最适 pH 为 3 ~ 5，但它的活性中心含有 SH 基。紫色链霉菌（*Streptomyces violaceus*）蛋白酶的最适 pH 为 9.5，不能被 DFP 所抑制，而对 EDTA 敏感，在酶的抑制性质上像典型的金属蛋白酶，因此上述分类仍有待改进。

1.1.3.1 酶学委员会分类法

在 EC（酶学委员会）系统中，所有酶被分成 6 类，其中水解酶为第 4 类，而蛋白酶为第 3.4 亚类。表 1.3 所示为本亚类的 14 种亚亚类。