

二、通用名称、功能分类，用量和使用范围

本文叙述的葡糖异构酶（Glucose Isomerase，简称 GI）制剂是通过重组锈棕色链霉菌生产菌株（*Streptomyces rubiginosus*）发酵生产的，该重组锈棕色链霉菌携带有多拷贝来自锈棕色链霉菌自身的葡糖异构酶编码基因 *GI*。

通用名称： 葡糖异构酶 Glucose Isomerase

功能分类： 加工助剂 食品工业用酶制剂

使用范围： 由玉米等淀粉原料工业生产高果糖糖浆

用量： 按生产需要适量使用

来源（生产菌）： 锈棕色链霉菌 *Streptomyces rubiginosus*

供体： 锈棕色链霉菌 *Streptomyces rubiginosus*

系统名称： D-木糖醛糖-酮糖异构酶
D-xylose aldose-ketose-isomerase

其他使用名称： 葡糖异构酶 Glucose Isomerase；
木糖异构酶 Xylose Isomerase；
D-木糖酮异构酶 D-xylose ketoisomerase；
D-木糖酮醇异构酶 D-xylose ketol-isomerase

CAS 号： 9055-00-9

EC 号： 5.3.1.5

商品名称：

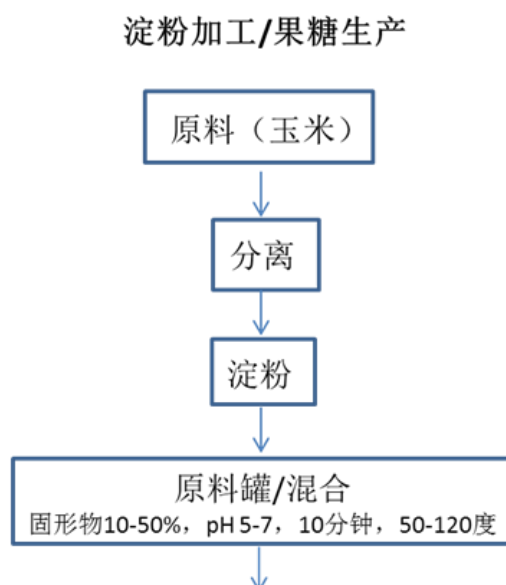
三、证明技术上确有必要和使用效果的资料 或者文件

3.1 锈棕色链霉菌来源的葡糖异构酶的功能类别及作用机理

3.1.1 功能类别

葡糖异构酶作为食品工业加工助剂，一般采用固定化的形式，用于工业化生产高果糖玉米糖浆 (HFCS, High Fructose Corn Syrup)，将由玉米淀粉酶解而来的葡萄糖异构化生成甜度更高的果糖。

葡糖异构酶在高果糖玉米糖浆的生产应用如下图所示。在食品工业生产食用糖浆的工艺中，由玉米等谷物来源的淀粉经液化、糖化、除杂等步骤加工处理生成葡萄糖糖浆，成分主要为葡萄糖，还有少量低聚糖，如麦芽糖、异麦芽糖、潘糖等。将该葡萄糖浆以一定的流速通过填充有固定化葡糖异构酶的填充柱，使部分葡萄糖异构化为果糖，则产品为高果糖糖浆。高果糖玉米糖浆是一种葡萄糖和果糖的 1: 1 等量混合糖浆，是蔗糖的甜度的 1.3 倍，被用作糖尿病人使用的甜味剂。



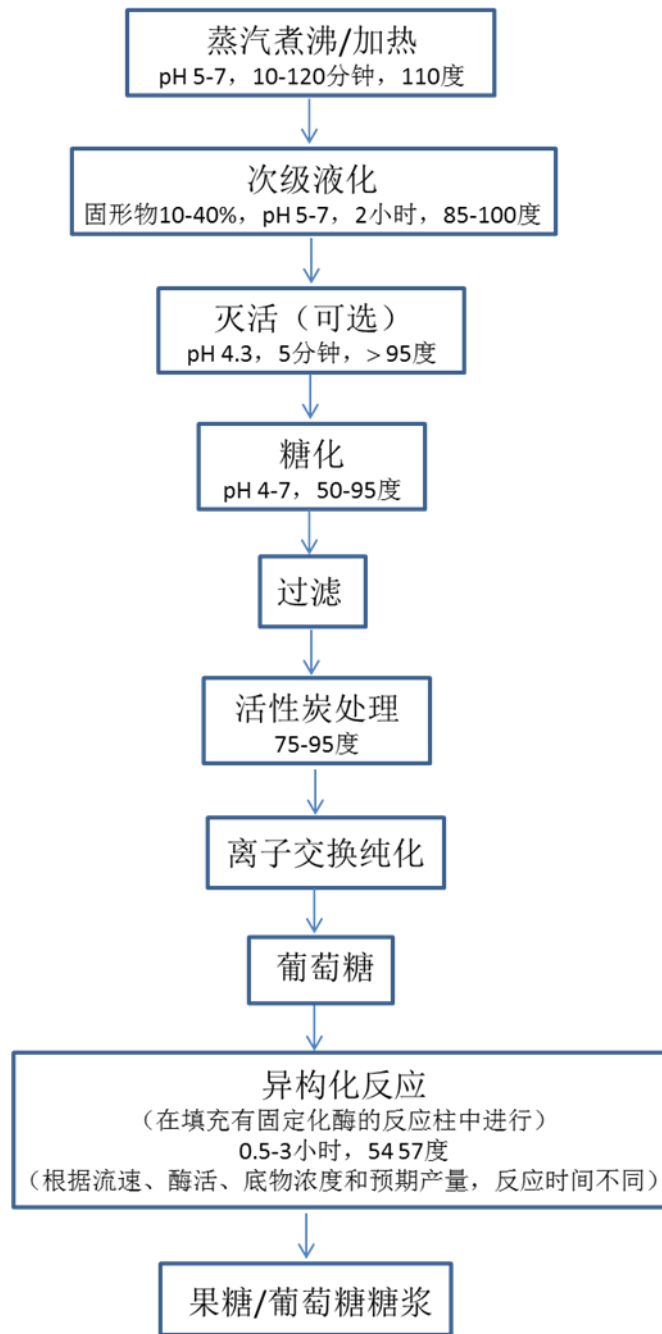


图 3-1、葡糖异构酶在工业生产高果糖玉米糖浆的应用

3.1.2 作用机理

葡糖异构酶 (GI) 将葡萄糖转化为果糖于 20 世纪 60 年代首次获得专利。然而, 由于酶悬浮在终产品的溶液中不易去除, 也不能被循环使用, 因此该工艺在工业生产上是不可行的。将酶制剂固定在惰性

载体表面的固定化木糖/葡糖异构酶最初是由 Takanashi 在日本开发的, 这一技术上的发展对于将葡糖异构酶开发用于制造高果糖玉米糖浆的大规模工业生产工艺是关键性的。

在现有的生产模式下, 葡糖异构酶在淀粉加工工业中采用固定化酶的形式。酶被固定在衍生化的纤维素载体上, 填充于一定大小的填充柱中, 将葡萄糖浆底物从填充柱的一端连接流入, 柱内的固定化葡糖异构酶将一定比例的葡萄糖转化为果糖, 再将果糖糖浆产物从填充柱的另一端流出。

3.2 拟添加的食品中添加与否的效果对比

葡糖异构酶(系统命名:D-木糖醛糖-酮糖异构酶, IUB 编号 5.3.1.5, CAS 编号 9055-00-9)。该酶含有两个二价金属离子, 首选镁, 位于活性位点内的不同金属结合位点。该酶具有广泛的底物特异性, 催化醛糖和酮糖的相互转化。该酶结合其底物的环状形式(在葡萄糖的情况下, 只有 α 端基异构体)并催化开环以产生与其中一个金属位点配位的开链构象形式。葡糖异构酶的催化过程主要分为 4 个步骤: 底物结合、底物开环、氢迁移反应(异构化)和产物分子的闭环(如图 3.2 所示), 其中氢迁移反应被认为是整个反应过程的限速步骤。

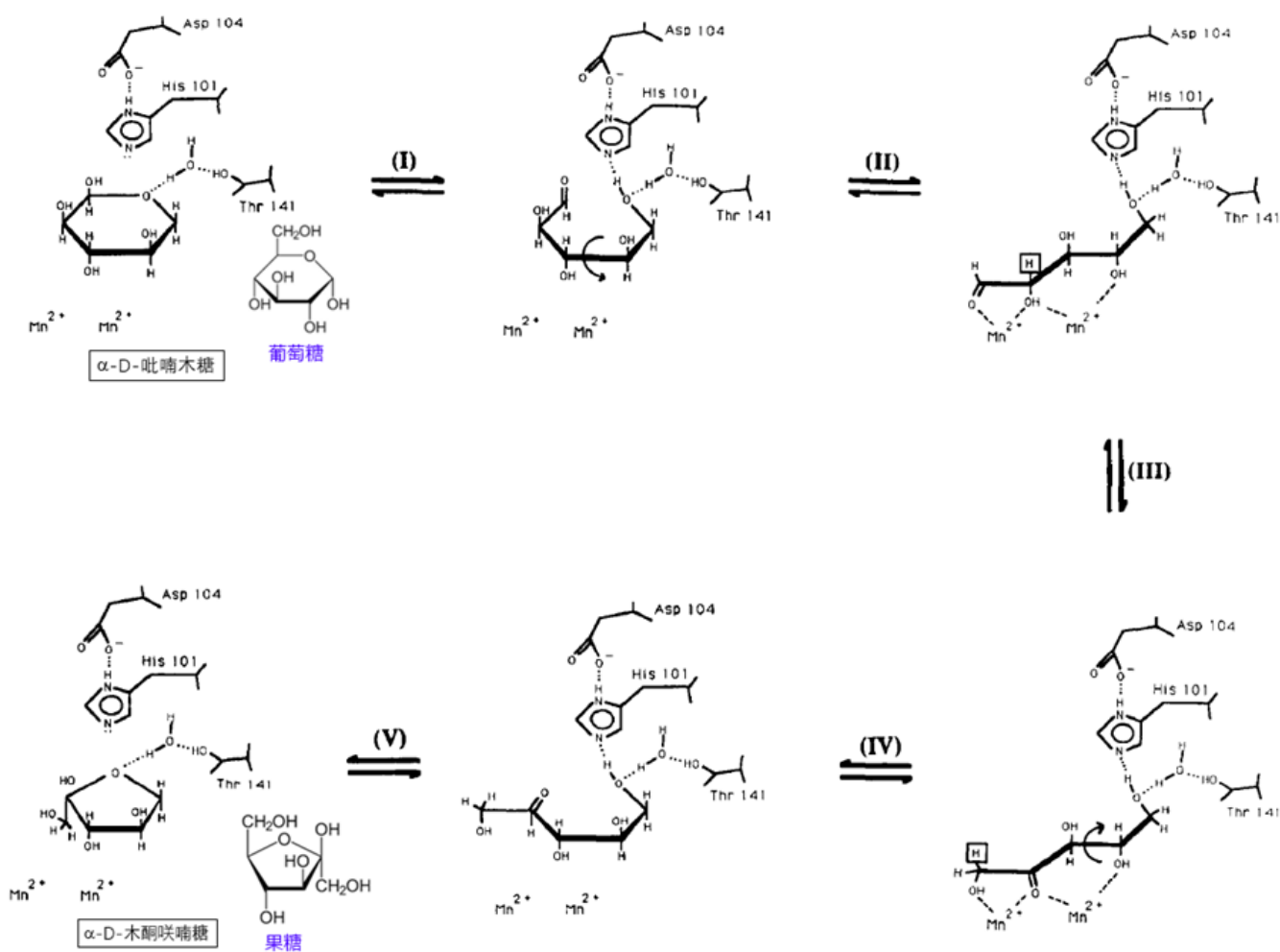


图 3-2、葡糖异构酶催化木糖到酮糖、葡萄糖到果糖的反应机理示意图

葡糖异构酶催化醛糖到酮糖的异构化反应，具有广泛的底物专一性。在食品加工工业主要利用的是其对葡萄糖的催化作用，产生具有更高甜度的果糖分子，大规模生产高果糖玉米糖浆，已在国内外有多年的安全使用历史了。

3.3 与同一功能类别的食品添加剂效果对比

本申报的葡糖异构酶是由锈棕色链霉菌 (*Streptomyces rubiginosus*) 表达多拷贝锈棕色链霉菌自身的葡糖异构酶基因，该葡糖异构酶与 GB2760-2014 中 (下图所示) 来源于锈棕色链霉菌的葡糖异构酶完全

相同，唯一不同之处在于由于重组生产菌株含有表达该葡糖异构酶的质粒。

36	葡糖异构酶(木糖异构酶) Glucose isomerase (xylose isomerase)	橄榄产色链霉菌 <i>Streptomyces olivochromogenes</i>	
		橄榄色链霉菌 <i>Streptomyces olivaceus</i>	
		密苏里游动放线菌 <i>Actinoplanes missouriensis</i>	
		凝结芽孢杆菌 <i>Bacillus coagulans</i>	
		锈棕色链霉菌 <i>Streptomyces rubiginosus</i>	
		紫黑吸水链霉菌 <i>Streptomyces violaceoniger</i>	
		鼠灰链霉菌 <i>Streptomyces murinus</i>	

图 3-3、GB2760-2014 中批准的葡糖异构酶来源

3.4 其他有关技术必要性的资料

葡糖异构酶的最适反应 pH:

使用本申请提供的酶活检测方法，测量出葡糖异构酶在不同的酸碱度条件下的催化活性，如下图所示。结果表明，葡糖异构酶在 60°C 时的最适酸碱度为 7.5 – 9.5。

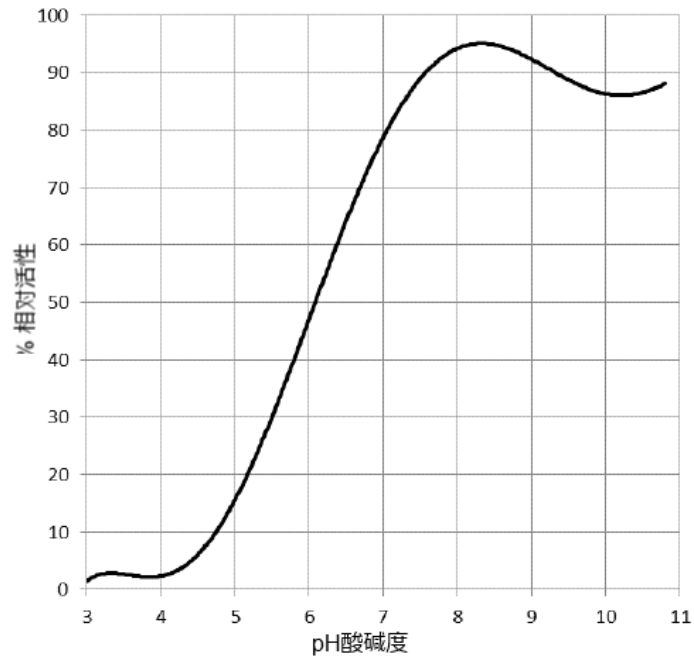


图 3-6、酸碱度对葡糖异构酶活力的影响(在 60°C 温育 15 分钟)

葡糖异构酶的最适反应温度:

在不同的温度条件下测量葡糖异构酶的催化活性，可得出在 pH 7.5 时葡糖异构酶的最适反应温度为 75°C - 87°C。

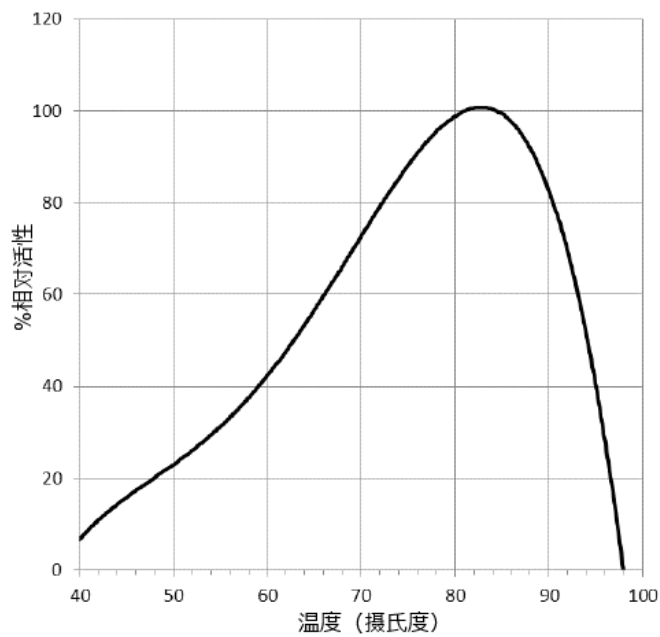


图 3-7、温度对葡糖异构酶活力的影响 (在 pH 7.5, 温育 15 分钟)

尽管葡糖异构酶的最适反应温度在 75°C 至 87°C 之间，但在实际的高果糖玉米糖浆的生产中，不会采用很高的生产温度。原因是因为维持如此高的生产温度，工厂需要耗费大量的能源，且葡糖异构酶作为蛋白质生物催化剂，在高温条件下会变性失去活性（如下图 3.8 所示）。

3.5 参考文献

- [1] Bosale SH., Rao MB., Deshpande VV. Molecular and Industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiol Rev.* 1996 Jun; 60(2): 280 – 300.
- [2] Palazzi E., Converti A. Generalized linearization of kinetics of glucose isomerase to fructose by immobilized glucose isomerase. *Biotechnol Bioeng.* 1999 May 5; 63(3): 273 – 84.
- [3] 杨海军，中国发酵工业协会低聚糖协作秘书处，前景看好的甜味剂 – 果葡糖浆，*发酵科技通讯* 第 35 卷。
- [4] 刘佐才、侯平然，北京理工大学化工与材料学院，酶法生产果葡糖浆的发展，*冷饮与速冻食品工业* 2001 年第 7 卷第 3 期 第 39-42 页。

四、质量规格要求、生产使用工艺和检验方法，食品中该添加剂的检验方法或者相关情况说明

4.1 质量规格要求和检验方法

名称：葡糖异构酶 glucose isomerase

来源：锈棕色链霉菌 *Streptomyces rubiginosus*

供体：锈棕色链霉菌 *Streptomyces rubiginosus*

葡糖异构酶为食品工业用酶制剂，其质量规格要求和检验方法符合 GB 1886.174-2016 《食品安全国家标准 食品添加剂 食品工业用酶制剂》的规定，详见 5.5 葡糖异构酶的产品要求、检测方法和三批次产品检测报告。

4.2 生产使用工艺

该产品在高果糖玉米糖浆生产上的应用

在食品工业生产食用糖浆的工艺中，由玉米等谷物来源的淀粉经液化、糖化、除杂等步骤加工处理生成葡萄糖糖浆，成分主要为葡萄糖，还有少量低聚糖，如麦芽糖、异麦芽糖、潘糖等。将该葡萄糖浆以一定的流速通过填充有固定化葡糖异构酶的填充柱，使部分葡萄糖异构化为果糖，则产品为高果糖糖浆，生产流程图如下所示。

4.3 食品中该酶制剂检验方法的情况说明

该酶制剂为加工助剂，在淀粉加工工业中采用固定化酶的形式。葡糖异构酶被固定在衍生化的纤维素载体上，填充在一端连接葡萄糖浆底物流入，将一定比例的葡萄糖转化为果糖，再将产物从另一端流出的填充柱中。填充柱产物端流出的糖浆中残留酶量可以忽略，生产的糖浆再经过脱色、脱盐和层析纯化，终产品的果葡糖浆不含葡糖异构酶。

目前国内外均未建立食品中该酶制剂的检验方法。

特此说明。