

二、通用名称、功能分类，用量和使用范围

本文叙述的脂肪酶（lipase，简称 KLM1）制剂是通过重组多形汉逊酵母¹生产菌株（*Hansenula polymorpha*）发酵生产的，该重组多形汉逊酵母携带有多拷贝来自异孢镰刀菌（*Fusarium heterosporum*）的脂肪酶编码基因 *KLM1*。

通用名称：	脂肪酶 Lipase
功能分类：	加工助剂 食品工业用酶制剂
使用范围：	面包等烘焙食品，面条、意大利面等面食
用量：	按生产需要适量使用
来源（生产菌）：	多形汉逊酵母 <i>Hansenula polymorpha</i>
供体：	异孢镰刀菌 <i>Fusarium hetreosporum</i>
系统名称：	三酯基甘油脂肪酶 Triacylglycerol lipase
其他使用名称：	脂肪酶 Lipase； 三酰基甘油酰基水解酶 Triacylglycerol acylhydrolase； 甘油三酯脂肪酶 Triglyceride lipase； 甘油酯水解酶 Glycerol ester hydrolase 三丁精酶 Tributyrinase
CAS 号：	9001-62-1
EC 号：	3. 1. 1. 3
商品名称：	

¹ 多形汉逊酵母（*Hansenula polymorpha*）曾命名为安格斯汉逊酵母（*Hansenula angusta*），安格斯毕赤酵母（*Pichia angusta*）。最新的分类学建议命名为 *Ogataea polymorpha*。

三、证明技术上确有必要和使用效果的资料 或者文件

3.1 多形汉逊酵母生产的脂肪酶的功能类别及作用机理

3.1.1 功能类别

脂肪酶（又名三酰基甘油酰基水解酶）是一种常用的食品工业加工助剂，在国内外已有长期的历史。脂肪酶主要催化甘油三酯中 1 和 3 位脂肪酸的水解（如下图 3-1 所示）。

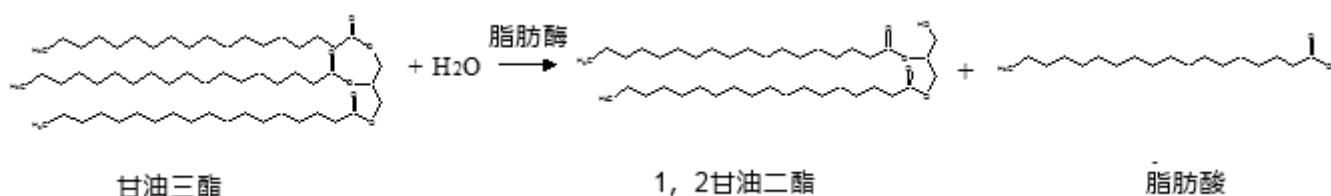


图 3-1、脂肪酶 KLM1 催化甘油三酯水解示意图

该酶还对其他脂质组分中的 sn-1 酯键具有活性，包括二酰基-磷脂和二酰基-半乳糖脂，其催化反应示意图如下所示

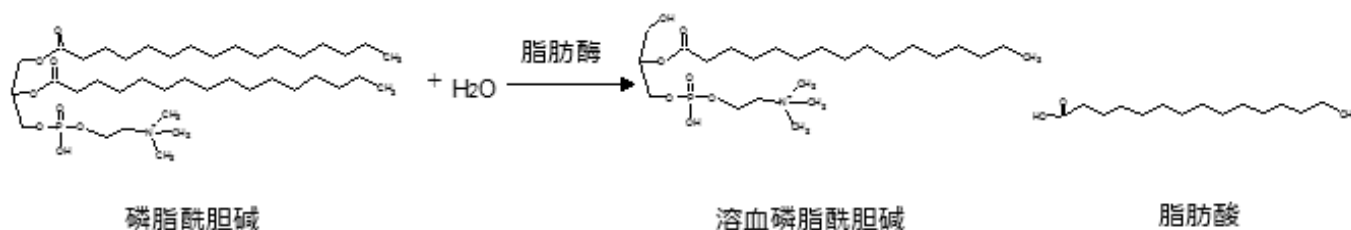


图 3-2、脂肪酶 KLM1 催化磷脂酰胆碱水解示意图

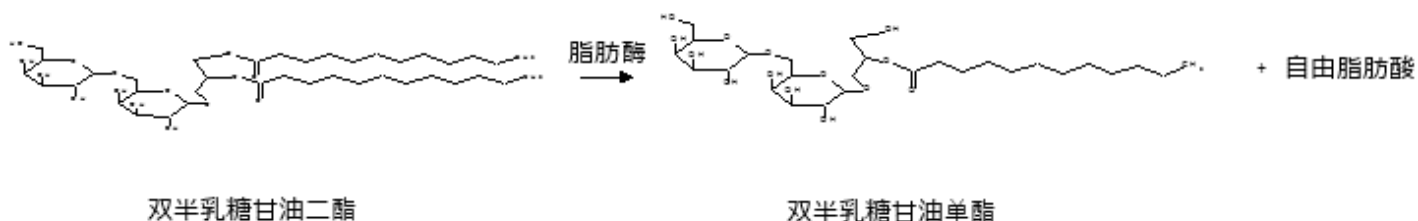


图 3-3、脂肪酶 KLM1 催化双半乳糖甘油二酯水解示意图

食品本身内源性的甘油三酯在 KLM1 脂肪酶的催化下形成具有极性的溶血磷脂和溶血半乳糖脂和自由的脂肪酸,可达到增加烘焙中面团的稳定性、谷物加工的同步糖化和酒精发酵中体系的黏度和泡沫体积,在食品中油、烘焙食品、奶酪以及以奶为原料的调味品的加工中具有长期的使用历史,脂肪酶能使面团更蓬松和稳定,成品面包和馒头的结构更均匀,口感更好。

3.1.2 作用机理

KLM1 脂肪酶在烘焙中的应用是针对面粉中天然含有的脂类底物。用于面包制作的小麦面粉通常含有约 2%的脂质。这些脂质中的一半是非极性脂质,包括甘油三酯,甘油二酯,甾醇和甾醇酯。小麦粉中的其他脂质为极性脂质,主要为半乳糖脂和磷脂。将 KLM1 脂肪酶用于面团,可水解这些内源性脂质并产生更多极性脂质,如溶血磷脂和溶血半乳糖脂。KLM1 脂肪酶能将内源性非极性脂质转化为极性脂质的特性有助于提高面团稳定性,使面团更好处理。在面团中形成的极性脂质将增加面包体积,使面包结构更均匀(图 3-4)从而达到提升烘焙产品、面条或其它面食的质量,改善口感和降低烹饪损失的目的。

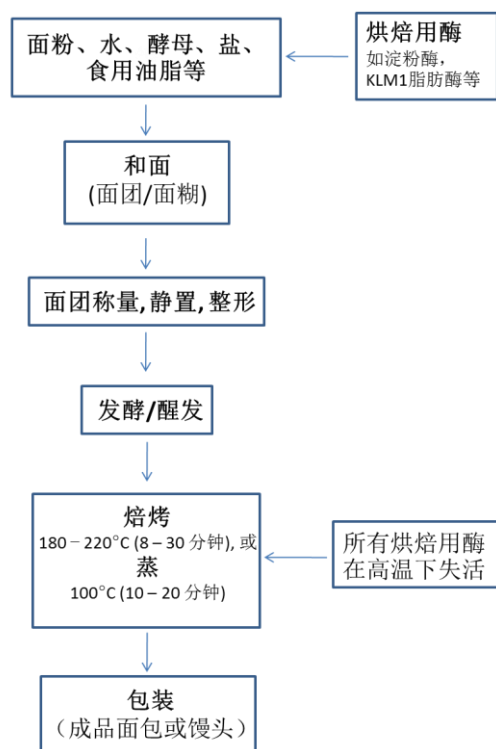


图 3-4、KLM1 脂肪酶在烤面包中的应用

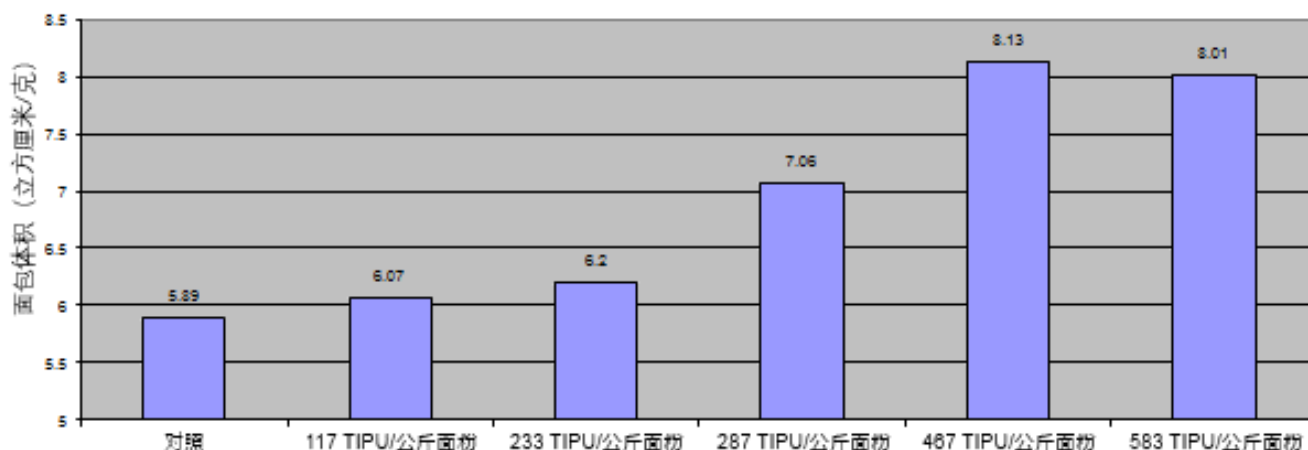
3.2 拟添加的食品中添加与否的效果对比

3.2.1 在面包烘焙中添加 KLM1 脂肪酶的效果比较

脂肪酶（系统命名：三酰基甘油脂肪酶，IUB 编号 3.1.1.3，CAS 编号 9001-62-1），该酶主要催化甘油三酯中 1 和 3 位脂肪酸的水解（如图 3-1 所示）。KLM1 脂肪酶在烘焙中的应用，旨在改变内源性脂类物质，在面团中产生极性较高的脂类如溶血磷脂和溶血半乳糖脂。用于面包制作的小麦面粉通常含有约 2% 的脂质。这些脂质中的一半是非极性脂质，包括甘油三酯，甘油二酯，甾醇和甾醇酯。KLM1 脂肪酶对面团中的这类非极性甘油三酯进行水解，生成极性的甘油一酯、甘油二酯和游离脂肪酸。这些极性脂质有助于提高面团稳定性，使面团更好处理。在面团中形成的极性脂质将增加面包体积，使面包结构更均匀（图 3-8）从而达到提升烘焙产品、面条或其它面食的质量，改善口感和降低烹饪损失的目的。

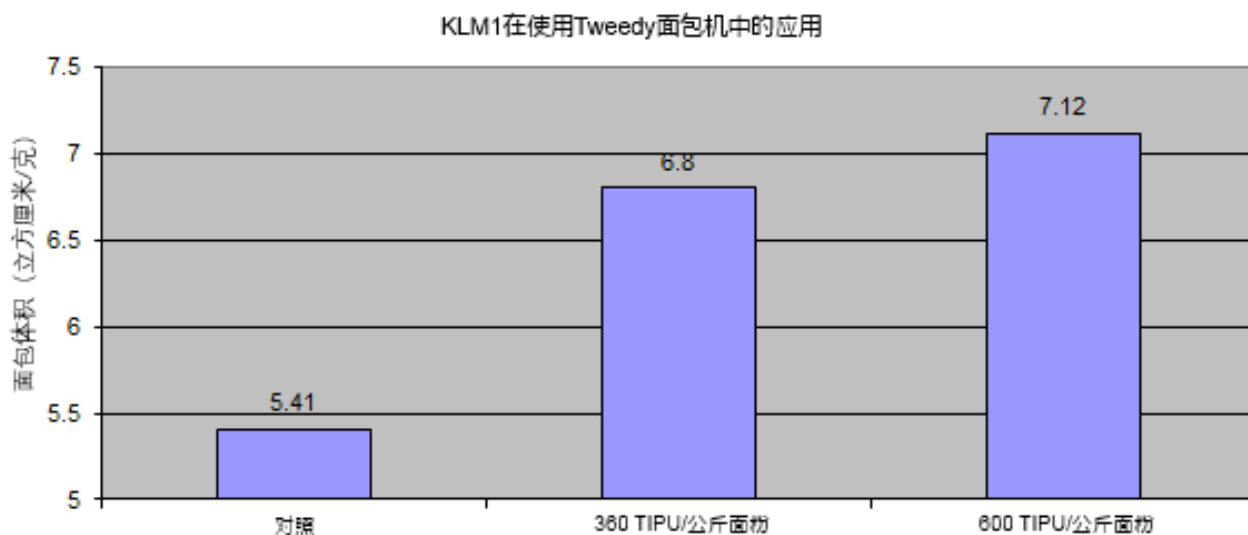
下图 3.6 比较了在脆皮面包卷的烘焙中添加 KLM1 脂肪酶与否以及不同添加剂量与面包体积之间的关系。我们可以看出，未添加 KLM1 脂肪酶的对照组面包卷体积最小，在添加低剂量 KLM1 脂肪酶（117 TIPU/公斤面粉，TIPU 为 KLM1 的酶活单位，见附录 6 的酶活测定方法）的试验组，面包卷的体积增加不明显；随着添加剂量的上升，面包卷的体积在添加 467 TIPU/公斤面粉的试验组达到最大，体积相对于未添加的对照组增加近 40%。KLM1 脂肪酶在烘焙中的添加剂量一般推荐为 100 - 500 TIPU/公斤面粉，实际使用剂量取决于面粉质量和生产工艺，需根据实际情况进行调整。

KLM1在脆皮面包卷烘焙中的应用



(TIPU 为脂肪酶活力单位, 参见附件六、酶活测量方法)

图 3-6、KLM1 脂肪酶在脆皮面包卷烘焙中的应用



(TIPU 为脂肪酶活力单位, 参见附件六、酶活测量方法)

图 3-7、KLM1 脂肪酶在使用面包机加工面包中的应用

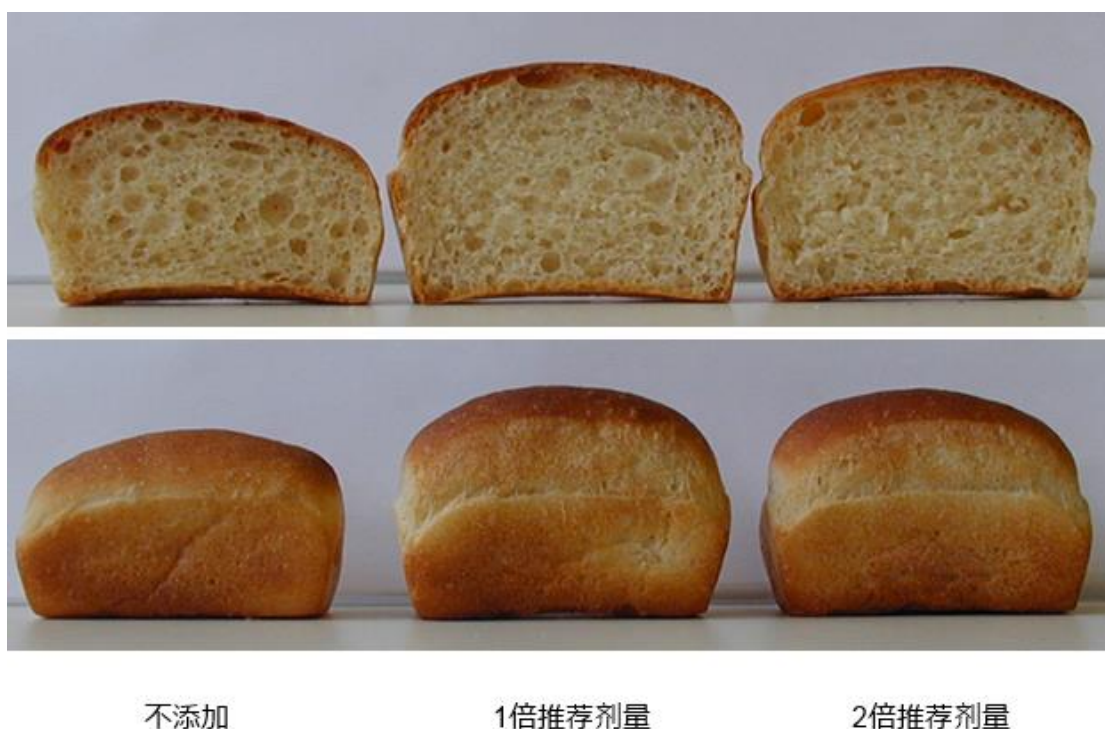


图 3-8、添加 KLM1 脂肪酶的面包与未添加的内部组织结构比较

3.3 与同一功能类别的食品添加剂效果对比

详见申报资料。

3.4 其他有关技术必要性的资料

KLM1 脂肪酶的热稳定性：

将脂肪酶在下图所示温度下温育 30 分钟，接着使用卵磷脂作为反应底物，测定酶的残留活性，得出以下的温度稳定性曲线。该曲线表明，在超过 37°C 的条件下，KLM1 脂肪酶开始快速失活，45°C 温育 30 分钟会将脂肪酶完全灭活，这一状态与脂肪酶是据有催化活性的蛋白质一致，高温会使蛋白质变性。经过烘焙，面包中使用的烘焙用酶（包括脂肪酶）被全部灭活。

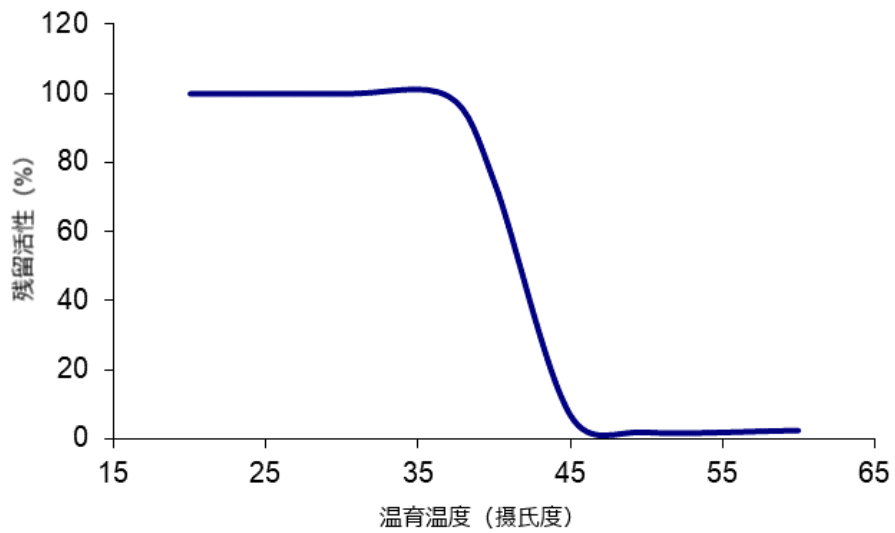


图 3-13、温度对 KLM1 脂肪酶稳定性的影响

3.5 参考文献

- [1] Lien R. Gerits, Bram Pareyt, Karolien Decamps, and Jan A. Delcour. Lipases and their functionality in the production of wheat-based food systems. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. Vol. 13, 2014; 978 – 989.

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：脂肪酶 lipase

来源：多形汉逊酵母 *Hansenula polymorpha*

供体：异孢镰刀菌 *Fusarium heterosporum*

KLM1 脂肪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 脂肪酶的产品要求、检测方法和三批次产品检测报告。

4.2 生产使用工艺

该产品在面包烘焙中的应用

KLM1 脂肪酶作为烘焙用酶旨在改变内源性脂质极性，在面团中产生极性较高的脂质，如溶血磷脂和溶血半乳糖脂，以改善烘焙产品的质量，以提高口感和降低烹饪损失。下图 4-1 所示的生产流程图演示了批次发酵和连续发酵两种不同生产流程以及包括 KLM1 脂肪酶在内的烘焙酶的添加步骤。

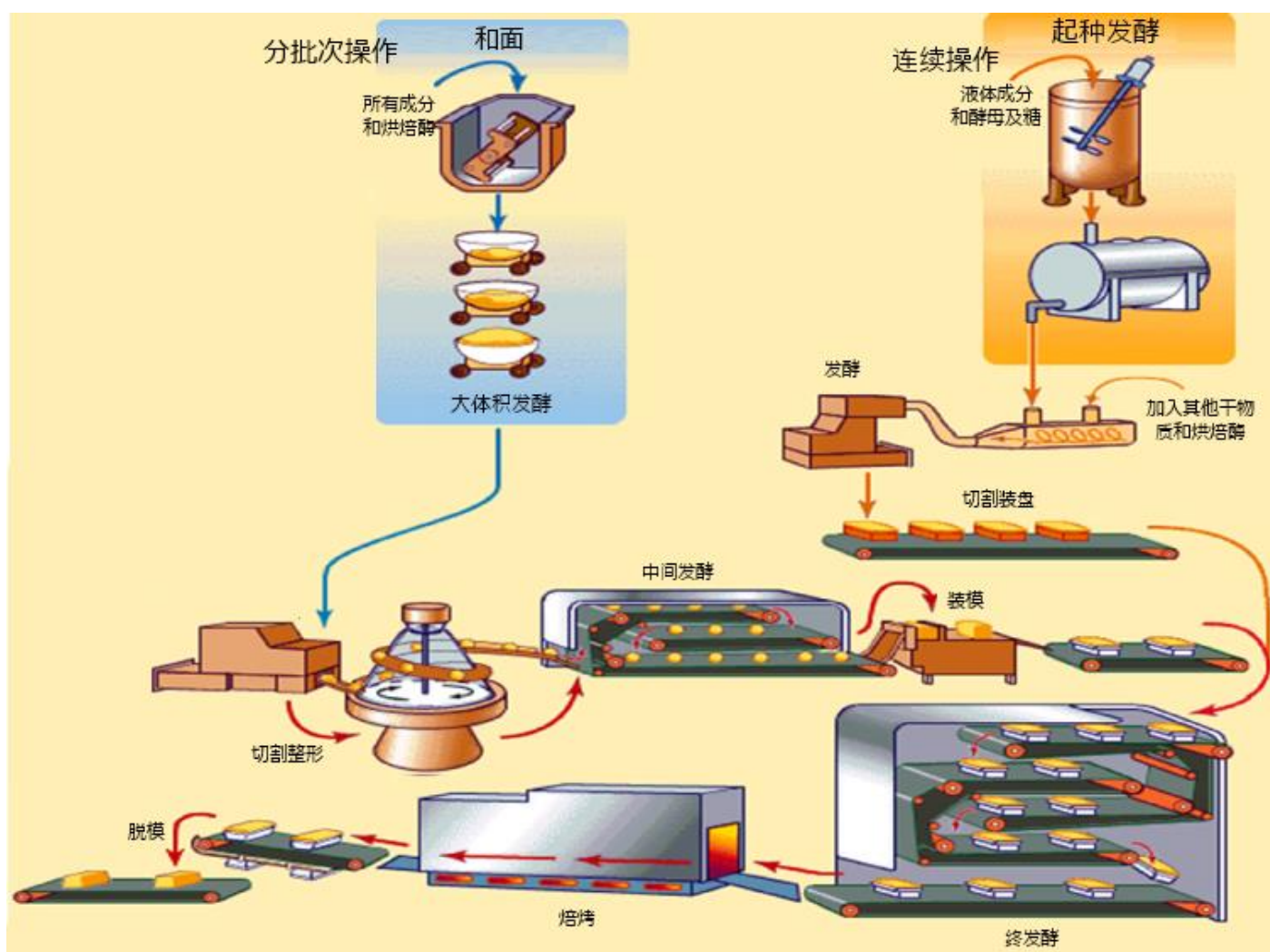


图 4-1、批次操作和连续操作焙烤面包的生产流程及 KLM1 脂肪酶的添加

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，在面包烘焙中常用添加量为 100 - 500 TIPU/公斤面粉。实际的添加量需要根据烘焙所用面粉质量和发酵过程的实际情况，如温度、反应时间和 pH 以及所要达到的结果来决定。在烘焙工艺中，存在高温烘焙、步骤，在此过程中 KLM1 脂肪酶因高温而失去活性，在最终产品的面包中没有该活性酶的存在。

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。