

## 二、通用名称、功能分类，用量和使用范围

本文叙述的 $\alpha$ -淀粉酶（alpha-amylase，简称AA）制剂是通过重组李氏木霉生产菌株发酵生产的，该李氏木霉菌株携带有多拷贝来自白曲霉（*Aspergillus kawachii*）的 $\alpha$ -淀粉酶基因 *asaA*。

**通用名称：**  $\alpha$ -淀粉酶 alpha-amylase

**功能分类：** 加工助剂 食品工业用酶制剂

**使用范围：** 谷物加工、酒精生产等

**用量：** 按生产需要适量使用

**来源（生产菌）：** 李氏木霉 *Trichoderma reesei*

**供体：** 白曲霉 *Aspergillus kawachii*

**系统名称：** 4- $\alpha$ -D-葡萄糖葡聚糖水解酶  
4-alpha- D-glucan glucanohydrolase

**其他使用名称：**  $\alpha$ -淀粉酶  $\alpha$ -amylase；  
alpha-淀粉酶 alpha-amylase  
糖原酶 glycogenase；  
内淀粉酶 endoamylase；  
Taka-淀粉酶 A Taka-amylase A；

**CAS 号：** 9000-90-2

**EC 号：** 3. 2. 1. 1

**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 白曲霉来源的 $\alpha$ -淀粉酶的功能类别及作用机理

### 3.1.1 功能类别

$\alpha$ -淀粉酶从直链和支链淀粉链的内部催化水解 1,4- $\alpha$ -D 糖苷键, 将淀粉长链切断, 释放出长短不一的多聚糖链。该步骤对于淀粉分子的降解是至关重要的一步, 它不仅可将不溶性的淀粉大分子转化为水溶性的较小的淀粉糊精分子, 切断过程还可产生出更多的糖链非还原端, 有利于其他淀粉酶的进一步降解作用。因此 $\alpha$ -淀粉酶是谷物加工中非常重要的一类酶。

$\alpha$ -淀粉酶在食品加工工业中有许多应用(如下图 3-1 所示)。在谷物加工中,  $\alpha$ -淀粉酶被用于液化不溶性的淀粉分子, 生产水溶性的淀粉糊精。淀粉糊精可进一步降解生产葡萄糖浆和麦芽糖浆。葡萄糖浆在葡糖异构酶的作用下可生产高甜度的果糖糖浆。麦芽糖浆在转葡糖苷酶的作用下可生产具有益生元作用的低聚异麦芽糖(IMO)。在酒精发酵生产中, 添加 $\alpha$ -淀粉酶可以帮助将淀粉类底物到可发酵糖的转化进行得既快又彻底。在谷物类和其他植物来源的淀粉(包括燕麦, 玉米, 小麦, 黑麦, 高粱, 大米, 木薯和土豆等)液化过程中使用 $\alpha$ -淀粉酶可提高液化速率。结合糖化酶的使用生产的麦芽汁等液体可进一步经微生物发酵生产酒精和其他有机酸(如乳酸等)。

### 3.1.2 作用机理

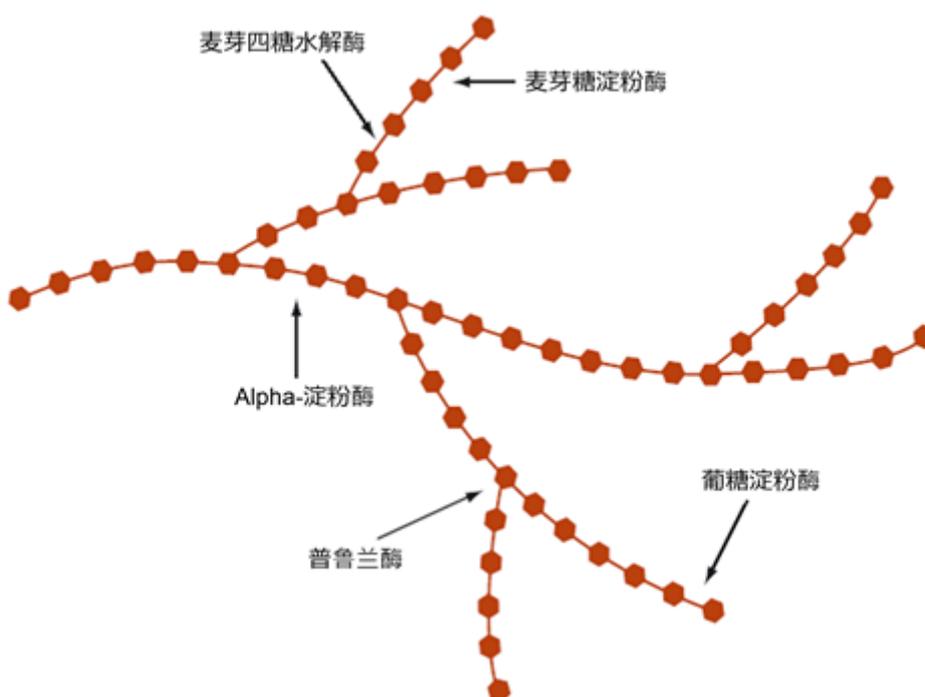
天然状态下的白曲霉酸稳定 $\alpha$ -淀粉酶(AkAA)的表达量根据不同发酵条件而有非常大的不同。在通常工业酶制剂生产的液体发酵条件下, 该酶几乎不表达, 而在使用大麦为原料的固相发酵条件下, 该酶能大量表达。

本申报的 $\alpha$ -淀粉酶制剂(AkAA)由经基因工程改造的李氏木霉(*Trichoderma reesei*)通过可控发酵生产。李氏木霉产蛋白能力较高, 适合作为宿主菌开发并进行DNA重组表达。杰能科公司对宿主李氏木霉的安全性进行了全面的毒理学试验, 证明其不致病、不产毒。

白曲霉来源的 $\alpha$ -淀粉酶的作用既与其它 $\alpha$ -淀粉酶相同, 可从淀粉长链的内部水解 $\alpha$ -1, 4-糖苷键, 生成水溶性的短链多聚糖, 又称可溶性糊精, 该步骤在淀粉加工过程中称为液化。它与其他 $\alpha$ -淀粉酶的不同之处在于其酸稳定性(*asaA* 名称来源为酸稳定 $\alpha$ -淀粉酶, acid stable alpha amylase), 具有 pH4.0 的最适反应 pH (pH 范围: 2.5

- 4.5), 反倒是液化步骤最重要的热稳定性并不突出(温度范围: 60°C - 70°C)。因此 AkAA  $\alpha$ -淀粉酶主要用于糖化步骤, 与葡糖淀粉酶协同作用, 缩短糖化时间、使糖化更彻底。 $\alpha$ -淀粉酶以及其他淀粉酶的作用机理和作用位点如下图 3-3 所示。在其应用中,  $\alpha$ -淀粉酶作为加工助剂使用, 在最终产品的淀粉糖或发酵有机小分子中并不存在。

图 3-3 淀粉水解酶的作用模式



### 3.2 拟添加的食品中添加与否的效果对比

谷物加工中将不溶性淀粉部分水解为可溶性的糊精的过程称为“液化”。通过进一步水解生产葡萄糖的过程称为“糖化”，工业上常用的糖化方法有酸法和酶法。用无机酸作为催化剂使淀粉发生水解反应转变为葡萄糖称为“酸法”，使用葡糖淀粉酶的方法则称为“酶法”。由于酸法水解对设备要求高，对环境影响大等缺点，已被酶法水解所取代。由下表 3-1 可见，酶法水解所具有的反应条件温和，淀粉转化率高等优点使其可以取代酸法水解而被广泛应用。

项目	酸法水解与酶法水解的比较
----	--------------

反应条件	酶法水解反应条件温和，常温、常压条件下即可反应；而酸法水解需要在高温、高压的条件下才能作用
设备要求	由于酶法水解在常温、常压下即可进行，所以不需要耐高温、耐高压的设备，对设备也无耐腐蚀的要求；酸法水解则需配备耐高温、耐高压、耐腐蚀的设备
使用效果	酶法水解副反应少，水解糖液纯度高，淀粉转化率高，制得糖液质量好，有利于糖液的充分利用；酸法水解易发生葡萄糖复分解反应，生成的有色物及复合糖类降低了淀粉转化率及糖液质量
对环境影响	酶法水解反应条件温和，对环境几乎无影响；酸法水解中使用酸作为催化剂，对环境影响大

表 3-1 酸法水解与酶法水解在糖化工艺中的效果对比

由于该 $\alpha$ -淀粉酶的酸稳定性，以及不太高的热稳定性，该酶一般不用在需要高温的淀粉液化步骤，而是用在液化后的糖化步骤，与葡糖淀粉酶协同作用使糖化进行更彻底。

### 3.2.1 AkAA $\alpha$ -淀粉酶在生产葡萄糖浆工艺中添加与否的效果对比

AkAA  $\alpha$ -淀粉酶可直接加入葡萄糖浆生产的糖化步骤，与酸性葡糖淀粉酶协同作用，使糖化进行更彻底，生产的葡萄糖浆 DP1（葡萄糖单体）含量更高，糖浆的纯度更高。下图 3-5 是在添加一定浓度的葡糖淀粉酶的条件下，增加 AkAA 浓度可提高 DP1 产量的检测数据图。

### 3.2.2 AkAA $\alpha$ -淀粉酶在酒精发酵工艺中添加与否的效果对比

AkAA  $\alpha$ -淀粉酶主要用于在谷物加工的糖化步骤，与葡糖淀粉酶协同作用将糖化进行更彻底。由于该 $\alpha$ -淀粉酶的酸稳定性以及 pH4.0 的最适反应酸碱度，它可直接加入到糖化反应液中使用，也可直接添加

到同步糖化与发酵过程中。

添加 AkAA  $\alpha$ -淀粉酶的 SSF 酒精发酵过程不仅可以缩短发酵时间，还可以提高酒精的得率。下图是分别测试添加不同剂量 AkAA 酶制剂（公斤/吨玉米）在其他发酵条件相同的情况下检测在发酵终点（蓝色曲线为 67 小时发酵时间，红色曲线为 52 小时发酵时间）时发酵液中的乙醇含量。

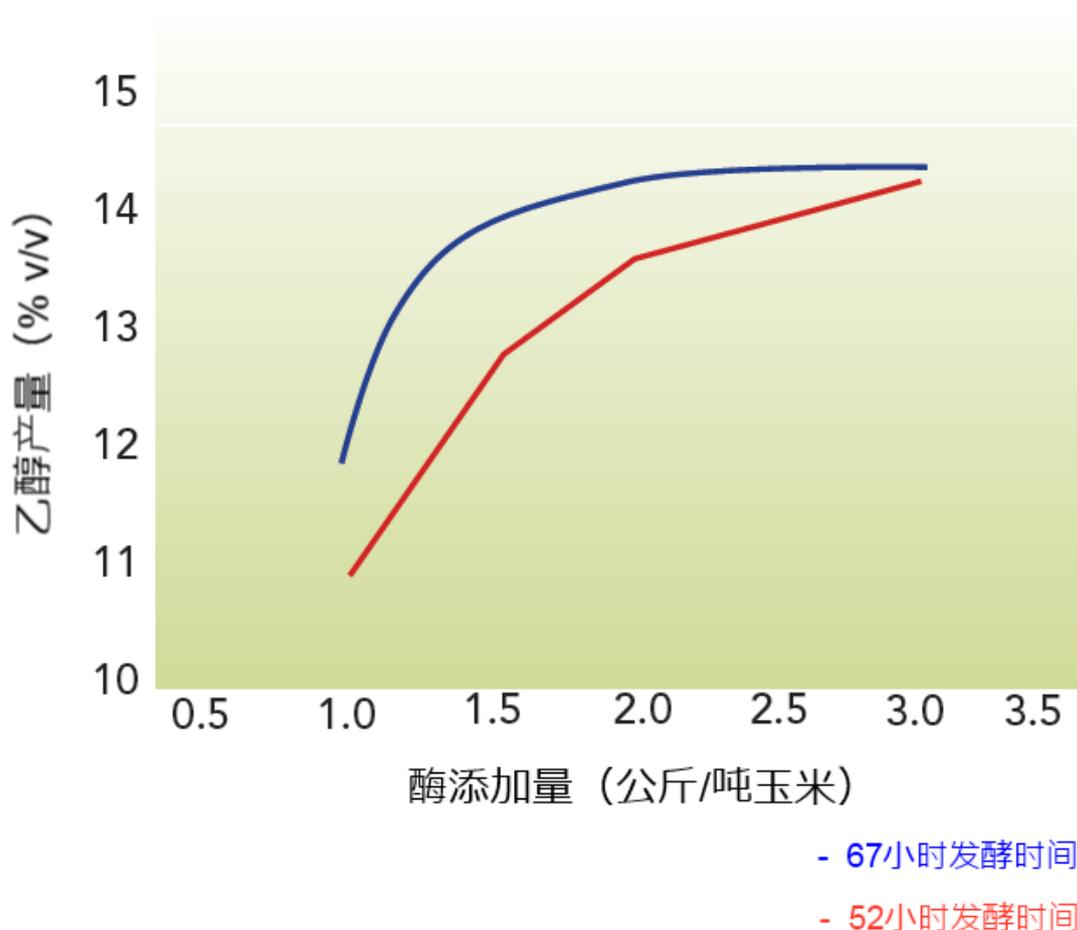


图 3-7 添加了不同剂量 AkAA 的酒精发酵在发酵终点的酒精产量比较

### 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

### AkAA 的使用量:

杰能科产品  $\alpha$ -淀粉酶的常用添加量为 0.13-0.16 公斤/吨干物质。实际的添加量需要根据工厂糖化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。下表列出了在一些常用发酵原料进行酒精发酵所推荐的 AkAA 添加量。

谷物原料	$\alpha$ -淀粉酶添加量 (公斤/吨干物质)
黑麦	0.13
小麦	0.16
黑小麦	0.13
大麦	0.13
玉米	0.16

表 3-2 常用谷物原料的推荐添加量

### AkAA 的灭活:

在 SSF 发酵法生产酒精的工艺中，终产物的发酵液需经过酒精的蒸馏过程，在此过程中 AkAA 因高温而失活并最终残留在水相中，在最终产品酒精中没有该酶的存在。在生产葡萄糖浆的工艺中，葡萄糖浆会经过离子交换等纯化步骤，得到不含酶的高纯度葡萄糖浆。

### 在 pH4.0 左右进行发酵:

在酸性条件下进行酒精发酵，可有效抑制除酒精酵母以外的其它杂菌（如乳酸菌等）的生长，将发酵原料最大化地转化为酒精。

综上所述，白曲霉酸稳定 $\alpha$ -淀粉酶 AkAA 的优点包括：生产菌种稳定；生产过程更易于控制；可直接分泌到胞外，回收过程相对简单，因此节约了宝贵的能源、原料、水等，生产效率更高；产品纯度高，活力高，作用稳定等。

### 3.5 参考文献:

[1] Nagamine et al, Mode of alpha-amylase production by the shochu

koji mold *Aspergillus kawachii*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67 (10), 2194-2202, 2003.

[2] Sugimoto et al, Production of multiple extracellular enzyme activities by novel submerged culture of *Aspergillus kawachii* for ethanol production from raw cassava flour. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* (2012) 39: 605-612.

[3] Shoji et al, Simultaneous production of glucoamylase and acid-stable  $\alpha$ -amylase using novel submerged culture of *Aspergillus kawachii* NBRC4308. *J. of Biosci. and Bioeng.* Vol. 103, No. 2, 203-205, 2007.

#### 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： $\alpha$ -淀粉酶 alpha-amylase

来源：李氏木霉 *Trichoderma reesei*

供体：白曲霉 *Aspergillus kawachii*

$\alpha$ -淀粉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  $\alpha$ -淀粉酶的产品要求、检测方法和三批次产品的检测报告。

## 4.2 生产使用工艺

### 该产品在葡萄糖浆生产上的应用

白曲霉酸稳定 $\alpha$ -淀粉酶 AkAA 可在淀粉糖生产中与葡糖淀粉酶一起在糖化步骤时加入，用于糖化已液化的糊精，生产高纯度（高 DP1 值）的葡萄糖浆（图 4-1 示），葡萄糖浆可被进一步转化成高甜度的果糖。

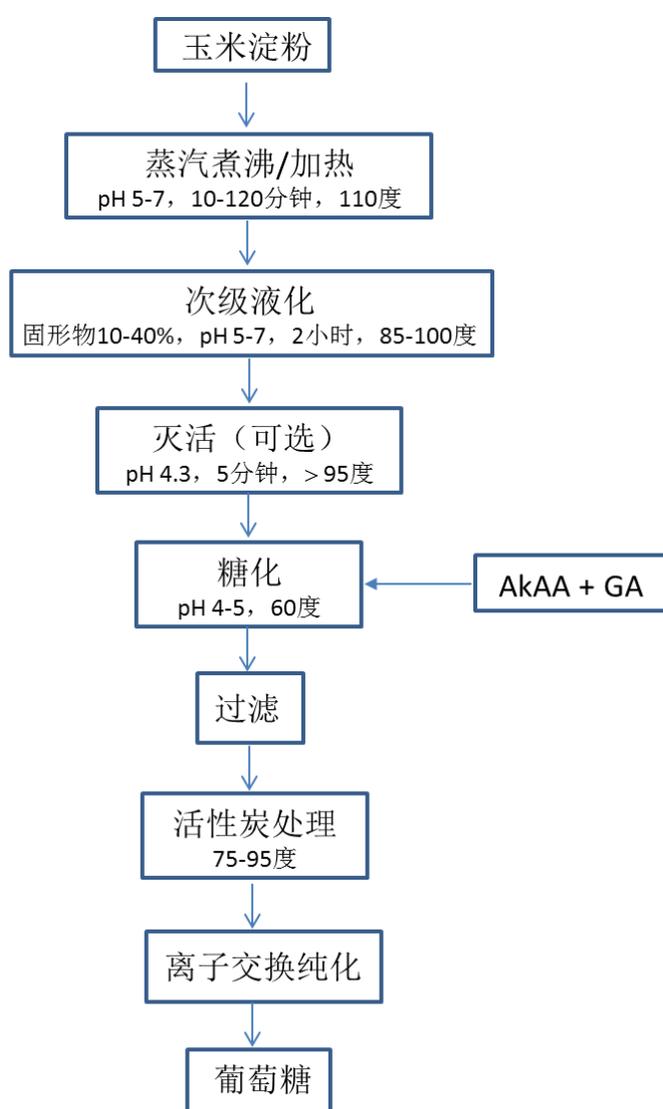


图 4-1 白曲霉 AkAA 淀粉酶在葡萄糖浆生产中的应用

### 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。杰能科产品 $\alpha$ -淀粉酶的常用添加量为0.13-0.16 公斤/吨淀粉干物质。实际的添加量需要根据工厂糖化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。在葡萄糖浆和酒精发酵工艺中,存在高温灭菌、纯化及蒸馏等步骤,在此类过程中 AkAA 因高温而失活并除去,在最终产品中并没有该酶的存在。

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。