

博士学位论文  
蛋白质酶法改性的研究  
及其在豆乳工艺中的应用  
葛世军

1988

无锡轻工业大学

TS201/B03

000255

分类号

~~TS201/B03~~

密级

UDC

B88001

学 位 论 文

蛋白质酶法改性的研究  
及其在豆乳工艺中的应用

葛世军

指导教师姓名

汤 达

沈 学 源

申请学位级别

博士

专 业 名 称

食品工程

论文提交日期

论文答辩日期

学位授予单位和日期

答辩委员会主席

评阅人 丁霄霖教授

王文生教授

严曰仁教授

1988 年 月 日

## 致 谢

本论文是在汤逢教授、向瑞春教授、王璋副教授、**沈学源**教授精心指导下进行的。王璋副教授负责了论文的具体指导工作。在此我要向我的导师们表示崇高的敬意，向他们三年来为了论文研究工作所做的一切努力和辛劳表示最诚挚的谢意。并对沈学源导师表示深切的怀念。

在论文工作中，还得到了院系领导的热情关怀，食品科学教研室全体老师给予作者提供了很大的方便，没有他们的大力协助，论文就不可能如期完成。在此一并表示感谢。

承蒙丁霄霖教授、王文生教授、陈锡资教授、全文海副教授在百忙之中审阅了论文的初稿，并对论文提出许多宝贵意见，为作者进一步修改完善提供了依据，在此特向他们表示感谢。

此外，美籍专家 Seymour.G.Gilbert 教授来华讲学期间，曾与作者就论文作过几次讨论，感谢他对论文的意见和进一步研究的指导。



# 蛋白质酶法改性的研究及其 在豆乳工艺中的应用

## (摘 要)

本论文主要进行了蛋白质酶法改性理论，酶法提高大豆利用率原理，以及酶法豆乳工艺三个方面的研究。

在蛋白质酶法改性理论研究部分，首先分析了前人的工作，并在前人研究工作的基础上提出新的假设，采用分子生物物理学方法对蛋白质酶法改性过程进行分析模拟，推导出了改性蛋白质的平均分子量与水解度，水化面积与水解度，极性与平均分子量，憎水性与水解度及分子体积，柔性与平均分子量以及净电荷与水解度之间的关系。并在实验上加以验证。实验结果证实了理论模型中关于改性蛋白质的平均分子量与水解度的反比例函数关系，水化面积与水解度之间的对数函数关系，极性与平均分子量之间的反比例函数关系，以及柔性与平均分子量之间的负指数函数关系。并用实验确证了改性蛋白质憎水性与水解度之间的反比例函数关系。根据理论和实验研究的结果，作者认为蛋白质经蛋白酶控制水解后，其平均分子量，极性、憎水性和柔性等发生了很显著的变化。如果能找出它们与功能性质之间的关系，那么就有可能通过对改性蛋白质的平均分子量，极性、憎水性和柔性的控制达到控制改性蛋白质功能性质的目标。在此基础上，本文研究了改性蛋白质的极性、憎水性和柔性与溶解度，乳化性质和起泡性质之间的关系。实验结果表明，改性蛋白质的溶解度随极性的增加呈线性规律增加，随憎水性的增加

呈线性规律减小。乳化能力随极性的增加呈反比例函数关系减小，随相对憎水性的增加呈对数函数规律增加。乳化能力还可表示成极性，与憎水性的二元函数。乳状液稳定性随极性和柔性的增加呈反比例函数关系减小，而且还能表示成憎水性与极性，憎水性与柔性的函数。改性蛋白质的起泡能力和泡沫稳定性，均随柔性的增加呈反比例函数关系降低。根据上述结果，作者建议采用极性，憎水性和柔性作为预测和控制改性蛋白质功能性质的结构参数。最后研究了改进蛋白质的构象与酶作用及酶特异性的关系，结果表明在酶作用下，改进蛋白质的构象发生了很明显的变化，而且这种变化的方面和程度与酶的特异性关系很大。此外，酶作用还增加了蛋白质分子结构的运动性，减小了憎水域的大小，并改变了蛋白质分子表面的氨基分布，而这些均与酶的特异性有着密切的关系。构象研究表明，酶特异性的影响主要反映在构象的差异上，而后者则是即使改性蛋白质的水解度相同，不同酶改性的蛋白质在功能性质上产生差异的根本原因。上述研究结果以前尚无人报导过。

在酶法提高大豆利用率的研究中，作者首先分析了蛋白酶，果胶酶和纤维素酶增溶作用的原理，然后又探讨了它们之间的协同作用。由于增溶作用主要是由于将不溶性物质转化为可溶性物质所致，所以选用大豆不溶性残渣作为研究对象。实验结果表明，蛋白酶的作用是分解残渣细胞壁，膜及其它细胞器上的蛋白质，并使之转化为可溶性物质，这样就增加了原材料的利用率。纤维素酶的作用是分解残渣细胞壁，使之部分降解释放出壁上的纤维素和部分蛋白质，同时也有可能使细胞中的贮存蛋白质释放出来，这样就增加了原材料的利用率。果胶酶作用于大豆残渣的细胞壁，分解了细胞

壁，破坏了细胞结构，将不溶性的碳水化合物及结合在细胞壁上的蛋白质转化为可溶性物质，增加了原材料的利用率。三种酶相比较，蛋白酶增溶蛋白质的作用较强，而果胶酶和纤维素酶对碳水化合物的增溶作用较强。此外，蛋白酶对果胶酶和纤维素酶有较明显的协同作用，而果胶酶与纤维素酶对蛋白酶无明显的协同作用，它们之间也无明显的协同作用。在果胶酶的作用条件下（ $\text{pH}4.5$ ， $50^{\circ}\text{C}$ ）大豆蛋白质溶液及大豆粉提取液中的可溶性蛋白质将有一部分不可逆的转化为不溶性蛋白质，这样就降低了蛋白质的提取率。但如果在纤维素酶和果胶酶之前，先用蛋白酶将蛋白质部分降解，则可溶性蛋白质的损失率明显降低。同此，作者建议在豆乳工艺中应先使用蛋白酶，后使用果胶酶。以上结果尚无人报导过。

在蛋白质酶法改性和酶法提高大豆利用率研究的基础上，进行了酶法豆乳工艺的研究。首先通过对脂肪氧合酶，大豆胰蛋白酶抑制因子以及蛋白质提取率与热处理条件关系的研究确定了热处理的条件，然后分别分析了蛋白酶、果胶酶和纤维素酶的反应动力学，确定了这些酶的最适作用条件。最后对酶法豆乳工艺的条件进行了选择，优化，并分析了产品的性质。本研究提出的新工艺包括调浆热处理，均质化，蛋白酶处理，果胶酶处理，离心分离，喷雾干燥等几个主要步骤。经过此工艺生产的豆乳的固形物含量为 $7.8\%$ ，蛋白质的利用率为 $82.37\%$ ，原材料的利用率为 $68.90\%$ ，胰蛋白酶抑制因子残存活力为 $37.89\%$ 。产物中蛋白质的分子量在 $18000$ 左右，无特征性水解苦味，更重要的是产品具有良好的复溶性。以上各项指标，均以达到国际先进水平。



Dissertation For Ph. D. Degree

The Study On Enzymatic Modification Of Proteins  
And Its Applications In Soymilk Processing Technology

Graduated Student    Ge Shijun

Directors            Tang Feng  
                         Xiang Ruichun  
                         Wang Zhang  
                         Shen Xueyuan

# The Study on Enzymatic Modification of Proteins and Its Applications in Soymilk Processing Technology

## Abstracts

This dissertation includes the theoretical study on enzymatic modification of proteins and the mechanism of enzymatic improving the yield of soluble soybean matter , and the study on enzymatic soymilk processing technology.

In the first section of the dissertation, the author reviewed the preceding works in this field, then , several assumptions on the relationships between the structural properties ( average molecular weight, water accessible area , polarity , flexibility, and hydrophobicity ) and the degree of hydrolysis of modified proteins have been put forward according to the molecular biophysical principles. With the help of mathematical treatment the relations among the average molecular weight , the degree of hydrolysis, the water accessible area, the polarity , the hydrophobicity, the flexibility and the net charge of modified proteins have been given. The evidences provided by experiments lead the author to conclude :

1. The average molecular weight of modified proteins is inversely proportional to the degree of hydrolysis.
2. The water accessible area of the modified proteins is a logarithmic function of the degree of hydrolysis.
3. The polarity of modified proteins is inversely



proportional to the molecular weight of the modified proteins.

4. The hydrophobicity of modified proteins is inversely proportional to the degree of hydrolysis

5. The flexibility of modified protein is a negative exponential function of the average molecular weight.

6. The relations among  $DH(TCA)$ ,  $DH(PH)$  and  $DH(TNBS)$  are linear for specific enzyme - substrate system, but are variable for different enzymes.

So the average molecular weight, polarity, hydrophobicity and flexibility can be used as the characteristic parameters to predict and control the functional properties of the modified proteins if the relations between them and the functional properties of modified properties are available. Then, the author studied the relations between these parameters and the functional properties of the modified proteins. The results of experiments indicate:

1. The solubility of modified protein is linearly increase with the increase of polarity, is linearly decrease with the increase of hydrophobicity.

2. The emulsifying ability of modified proteins is logarithmically dependent on the hydrophobicity, or linearly dependent on the flexibility, or inversely related with polarity. Emulsifying ability can be represented as a two-variable function of polarity and hydrophobicity.

3. The emulsion stability is inversely related with

polarity and flexibility. It can be represented as a two-variable function of hydrophobicity and polarity or flexibility.

4. The foaming properties ( ability and stability ) is inversely proportional to flexibility

So the author considers that polarity , hydrophobicity and flexibility can be used as structural parameters to control the functional properties of modified proteins. Finally in this section, the conformations of modified proteins were studied. The conformations of modified proteins is closely related to the degree of hydrolysis and the specificity of enzymes . Enzymatic modification can also increases the mobility of molecular structure and decreases the hydrophobic district of proteins. That is the reason why the functional properties of modified proteins can be differently from each other even if they are with the same degree of hydrolysis.

In the second section of the dissertation, the author first investigated the mechanism of protease, cellulase, and pectic enzyme separately. Then studied the coordination effects among those enzymes. The results of experiments indicates that:

1. Protease, which can decomposes the insoluble proteins in cell wall and cell matrix, transfers insoluble proteins into soluble. That is the reason why protease can increase the yield of soluble proteins from insoluble soybean material.

2. Cellulase can partly destroy the structure of cell wall, release the insoluble proteins and polysaccharides in cell wall and make them soluble.

3. Pectic enzyme can destroy the cell wall structure, decompose the pectic substance in the middlemella of cell wall. So the proteins and polysaccharides in the cell wall can be released.

4. Protease has coordinating effects on pectic enzyme and cellulase, but there is no coordinating effects between cellulase and pectic enzyme, and both of cellulase and pectic enzyme have no effects on protease. So the protease should be used before cellulase and pectic enzyme in the soymilk processing.

In the last section of the dissertation, the processing parameters of heating treatment were obtained by studying the impact of heating treatment on the activity of lipoxxygenase, trypsin inhibitors, and the relationships between it and protein solubility, and the kinetical characteristics of protease, cellulase and pectic enzymes were investigated. Finally, the parameters for soymilk processing were selected and optimized. The process includes heating treatment, homogenization, protease treatment, pectic enzyme treatment, centrifuging, concentration and spray drying. The resulted soymilk contains 7.8% solid substances, 3.8% proteins, 37.89% survival activity of trypsin inhibitors, and represents a yield of 82.37% proteins, 68.90% raw materials, and with



the degree of hydrolysis of 13.43% (DH(TCA)) and molecular weight of protein in product about 18000. After spray drying, the product can be resolvable. There is no any bitter taste produced by the enzymatic hydrolysis.

# 蛋白质酶法改性的研究及其在

## 豆乳工艺中的应用

### 目 录

致谢

摘要

#### 第一部分 蛋白质酶法改性的研究

第一章 蛋白质酶法改性理论研究的现状和存在的问题	1
第二章 酶法改性的机制及与酶特异性的关系	15
第三章 改性蛋白质结构与功能性质的关系	95
第四章 改性蛋白质的构象及与酶特异性的关系	133

#### 第二部分 酶法提高大豆利用率的研究

第五章 酶法提高大豆利用率的研究进展	163
第六章 蛋白酶增溶作用原理分析	172
第七章 纤维素酶增溶作用原理分析	201
第八章 果胶酶增溶作用原理分析	230
第九章 蛋白酶、果胶酶和纤维素酶协同作用分析	260

#### 第三部分 酶法豆乳工艺的研究

第十章 酶法豆乳工艺的现状及进一步研究的设想	274
第十一章 大豆脂肪氧化酶, 胰蛋白酶抑制因子的热失活及与蛋白质	

	溶解度的关系	286
第十二章	蛋白酶反应动力学特征及与底物性质的关系	303
第十三章	纤维素酶——大豆不溶性残渣水解反应动力学	319
第十四章	果胶酶最适作用条件的选择	335
第十五章	工艺条件的选择, 优化及产品性质分析	347



# 第一章 蛋白质酶法改性理论研究的现状及存在的问题

目次

文摘

引言

## 一 蛋白质酶法改性理论研究的现状

(一) 改性的基本原理

(二) 水解度

(三) 水解度与功能性质的关系

1. 改性蛋白质溶解度与水解度之间的关系

2. 乳化性质与水解度的关系

3. 起泡性质与水解度的关系

4. 粘度与水解度之间的关系

5. 味觉与水解度之间的关系

(四) 改性蛋白质结构与功能性质之间的关系

(五) 酶作用对蛋白质构象的影响

## 二 存在的问题及其进一步研究的途径

1. 水解度指标未能全面反映酶作用的真实情况

2. 改性蛋白质结构研究缺定量的指标, 因而很难说明问题

### 3. 改性蛋白质的构象问题

### 三 酶法改性理论对酶法豆乳工艺研究的意义

#### 参考文献

## 文 摘

本文在综述前人关于蛋白质酶法改性研究的基础上，介绍了现存蛋白质酶法改性理论以及它们的缺陷。提出由于没有考虑到酶的特异性，以及改性蛋白质结构性质等问题，现存理论不可能预测改性蛋白质的功能性质。作者认为：只有定量研究酶作用对改性蛋白质结构的影响，并找出这些性质与改性蛋白质功能性质之间的关系，才有可能准确预测并控制改性蛋白质的功能性质。

关键词：蛋白质，酶法改性，蛋白质结构性质，

蛋白质功能性质、蛋白酶