

知网个人查重服务报告单 (全文标明引文)

报告编号:BC2024062915385313036395645

检测时间:2024-06-29 15:38:53

篇名: 油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐在豆乳中的应用

作者: 孙彬言

检测类型: 毕业设计

比对截止日期: 2024-06-29

检测结果

去除本人文献复制比: 26.6%

去除引用文献复制比: 5.3%

总文字复制比: 26.6%

单篇最大文字复制比: 9.3% (乳清分离蛋白-阿拉伯木聚糖复合物的制备与功能性质研究)

重复字符数: [2520]

单篇最大重复字符数: [882]

总字符数: [9475]



1. 油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐在豆乳中的应用

总字符数: 9475

相似文献列表

去除本人文献复制比: 26.6% (2520)	去除引用文献复制比: 5.3% (498)	文字复制比: 26.6% (2520)
1 乳清分离蛋白-阿拉伯木聚糖复合物的制备与功能性质研究 朱雪芮(导师: 郭庆彬) - 《天津科技大学硕士学位论文》- 2021-06-01	9.3% (882)	是否引证: 是
2 热处理对荞麦麸皮蛋白结构与理化特性的影响 陈静;王立博;任艳娟;闫铭欢;刘文超;王昊然;吴伟菁;罗登林; - 《食品科学》- 2023-11-24 16:17	6.0% (570)	是否引证: 是
3 油莎豆蛋白的提取、结构表征及理化特性的研究 卢笑雨(导师: 于亚莉) - 《吉林大学硕士学位论文》- 2023-06-01	4.1% (389)	是否引证: 否
4 3-杜志成-计算机学院 杜志成 - 《大学生论文联合比对库》- 2020-07-08	1.9% (184)	是否引证: 否
5 二氧化铈抛光粉精细制备及合成机制 陈子博 - 《大学生论文联合比对库》- 2021-07-05	1.8% (173)	是否引证: 否
6 大豆分离蛋白/壳聚糖盐酸盐复合物制备及应用研究 胡舒敏(导师: 周涛;郦萍) - 《浙江工商大学硕士学位论文》- 2022-06-01	1.7% (164)	是否引证: 否
7 pH值偏移处理对油莎豆蛋白结构及乳化性质的影响 王琳;周国卫;于志超;孟洛冰;王玉莹;张安琪;王喜波;江连洲; - 《食品科学》- 2020-08-31 1	1.7% (164)	是否引证: 是
8 大学生创新创业训练计划项目 创新训练子项目 - 道客巴巴 - 《互联网文档资源 ( <a href="https://www.doc88.co">https://www.doc88.co</a> )》- 2019	1.4% (133)	是否引证: 否
9 油莎豆营养成分及其医疗保健功能研究进展 王喆 - 《大学生论文联合比对库》- 2023-03-22	1.2% (114)	是否引证: 否
10 0192123631_王喆_生命科学学院 王喆 - 《大学生论文联合比对库》- 2023-04-11	1.2% (114)	是否引证: 否
11 基于澳洲坚果蛋白/壳聚糖盐酸盐复合物稳定的澳洲坚果油粉末制备及其性质研究 王小煌(导师: 刘成梅;朱江) - 《南昌大学硕士学位论文》- 2019-05-01	1.1% (105)	是否引证: 否
12 17143123-孟乐英-食品科学与工程 孟乐英 - 《大学生论文联合比对库》- 2021-06-03	0.8% (72)	是否引证: 否

13	番木瓜籽蛋白质的提取工艺及其功能性质	0.4% (39)
	王标诗;曾亿均;姜孟;江敏;胡小军;彭元怀;杨娟; - 《食品工业科技》- 2017-07-15	是否引证: 否
14	张容容	0.3% (29)
	张容容 - 《大学生论文联合比对库》- 2014-05-14	是否引证: 否

原文内容

大学生创新训练项目计划申请书  
项目编号  
项目名称油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐在豆乳中的应用  
项目负责人孙彬言联系电话 18645769179  
所在学院应用科技学院  
学号 202321209114 专业班级食品科学与工程S23班  
指导教师李丹  
申请日期 2024年6月25日  
起止年月 2024年3月——2025年6月  
黑龙江八一农垦大学

一、 基本情况

项目名称		油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐在豆乳中的应用					
项目级别		省级一般					
项目类型		创新训练类					
项目类别		食品加工与安全					
所属学科		学科一级门：      学科二级类：					
是否为重点支持领域	否	重点支持领域	泛终端芯片及操作系统应用开发，重大应用关键软件，云计算、人工智能和无人驾驶，新材料及制造技术，新能源与储能技术，生物技术与生物育种，绿色环保与固废资源化，第五代通信技术和新一代IP网络通信技术，城乡治理与乡村振兴，社会事业与文化遗产				
项目来源名称		来源于教师科研项目选题					
选题来源		新农科					
起止年月		2024年3月——2025年6月					
负责人	孙彬言	性别	女	民族	汉族	出生年月	2002年5月
学号	202321209114	联系电话	宅：手 ：18645769179		邮箱：2264751962@qq. com		
指导教师	李丹	联系电话	宅：手机 ：18346662020		职称：副教授	邮箱 ：57425904@qq. com	
项目简介		油莎豆，是油莎草(Cyperus esculentus L.)的地下块茎，富含脂质、蛋白质、淀粉、膳食纤维和多种生物活性因子的优质健康食品。在我国，油莎豆榨油后的豆粕年产约四万吨，两万吨被用于生产具有油莎豆风味的酒，剩余部分用作畜牧业饲料或直接废弃。油莎豆中的蛋白含量为3.28%-8.45%，分为清蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白，清蛋白占主要组成部分。通过碱溶酸沉提取的油莎豆蛋白溶解度、乳化活性指标、乳化稳定性均低于大豆，因此油莎豆蛋白功能性质无法满足食品加工需要，需要通过物理、化学、生物手段改善其部分性质，以满足不同生产要求。本实验通过酶水解法改性油莎豆蛋白从而提高其溶解度，使用mTGase反应制备油莎豆蛋白水解物与壳聚糖盐酸盐共价复合物，探查研究复合物形成的最佳条件，并作为乳化剂添加到油莎豆乳中，对产品进行性能及感官评价。					
负责人曾经参与科研的情况		主持省级大赛一项，参与省级大赛两项，发表学术论文两篇					
指导教师承担科研课题情况		主持或参与省部级课题4项，发表SCI检索论文7篇，出版专著2部，获奖1项，发明专利2项。					
指导教师对本项目的支持情况		指导团队开展研究，提供实验设备。					
项目组主要成员	姓名	学号	专业班级		所在学院	项目中的分工	
	孙彬言	202321209114	食品科学与工程S23班		应用科技学院	确保整个项目按时、按计划进行，协调各个团队成员的工作；激励团队成员，保持团队合作和积极性，处理团队内部的问题。	
	林宜彬	202340110409	农学四班		农学院	主要负责查资料，调研，背景类等。	
	韩玟珈	202340810223	生技二班		生命科学技术学院	主要负责申报书填写，辅助文书。	
	孙岩	202340530319	食质三班		食品学院	主要负责答辩，辅助PPT制作。	

项目名称油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐在豆乳中的应用  
项目级别省级一般  
项目类型创新训练类  
项目类别食品加工与安全  
所属学科学科一级门： 学科二级类：  
是否为重点支持领域否重点支持领域泛终端芯片及操作系统应用开发，重大应用关键软件，云计算、人工智能和无人驾驶，新材料及制造技术，新能源与储能技术，生物技术与生物育种，绿色环保与固废资源化，第五代通信技术和新一代IP网络通信技术，城乡治理与乡村振兴，社会事业与文化遗产  
项目来源名称来源于教师科研项目选题  
选题来源新农科  
起止年月 2024年3月——2025年6月  
负责人孙彬言

性别女民族汉族出生年月 2002年 5月  
学号 202321209114 联系电话宅：  
手：18645769179 邮箱：2264751962@qq.com

指导教师李丹

联系电话宅：

手机：18346662020 职称：副教授邮箱：57425904@qq.com

项目简介油莎豆，是油莎草(Cyperus esculentus L.)的地下块茎，富含脂质、蛋白质、淀粉、膳食纤维和多种生物活性因子的优质健康食品。在我国，油莎豆榨油后的豆粕年产约四万吨，两万吨被用于生产具有油莎豆风味的酒，剩余部分用作畜牧业饲料或直接废弃。油莎豆中的蛋白含量为3.28%-8.45%，分为清蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白，清蛋白占主要组成部分。通过碱溶酸沉提取的油莎豆蛋白溶解度、乳化活性指标、乳化稳定性均低于大豆，因此油莎豆蛋白功能性质无法满足食品加工需要，需要通过物理、化学、生物手段改善其部分性质，以满足不同生产要求。本实验通过酶水解法改性油莎豆蛋白从而提高其溶解度，使用mTGase反应制备油莎豆蛋白水解物与壳聚糖盐酸盐共价复合物，探查研究复合物形成的最佳条件，并作为乳化剂添加到油莎豆乳中，对产品进行性能及感官评价。

负责人曾经参与科研的情况主持省级大赛一项，参与省级大赛两项，发表学术论文两篇

指导教师承担科研课题情况主持或参与省部级课题4项，发表SCI检索论文7篇，出版专著2部，获奖1项，发明专利2项。

指导教师对本项目的支持情况指导团队开展研究，提供实验设备。

#### 项目组主要成员姓名学号专业班级所在学院项目中的分工

孙彬言 202321209114 食品科学与工程S23班应用科技学院确保整个项目按时、按计划进行，协调各个团队成员的工作；激励团队成员，保持团队合作和积极性，处理团队内部的问题。

林宜彬 202340110409 农学四班农学院主要负责查资料，调研，背景类等。

韩玖珈 202340810223 生技二班生命科学技术学院主要负责申报书填写，辅助文书。

孙岩 202340530319 食质三班食品学院主要负责答辩，辅助PPT制作。

## 二、立项依据（可加页）

### （一）研究目的

油莎豆，是油莎草(Cyperus esculentus L.)的地下块茎[1]，富含脂质、蛋白质、淀粉、膳食纤维和多种生物活性因子的优质健康食品。在我国，油莎豆榨油后的豆粕年产约四万吨，两万吨被用于生产具有油莎豆风味的酒，剩余部分用作畜牧业饲料或直接废弃。油莎豆中的蛋白含量为3.28%-8.45%[2]，分为清蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白，清蛋白占主要组成部分。通过碱溶酸沉提取的油莎豆蛋白溶解度、乳化活性数值、乳化持续性均低于大豆，因此天然的油莎豆蛋白功能性质无法满足食品加工需要，需要通过物理、化学、生物手段改善其部分性质，以满足不同生产要求。

蛋白和多糖复合物对食品乳液体系的稳定性有着积极的影响，使用蛋白与多糖复合来大幅提升蛋白溶解性对于乳液稳定性具有实际意义。蛋白/多糖复合物可通过在外源环境下的稳定性或者依靠多糖的表面活性来达到相应的目的[3]，最为突出作用便是抑制蛋白在等电点范围的沉淀或聚集。此外，通过与多糖的结合，我们可以显著优化蛋白质颗粒在两相界面上的湿润特性，这一改进为蛋白质和多糖在皮克林乳液、乳液凝胶、微乳液等食品运输系统中广泛应用打开了新局面。另外蛋白/多糖复合物对食品体系的抗氧化性也有一定的增强效果[4]。根据现有研究，蛋白-多糖的结合体能够通过形成坚固或负载抗氧化剂的界面层，有效地抑制乳剂类食品中脂质的氧化过程。有助于保持油水界面稳定。

本实验通过木瓜蛋白酶水解法改性油莎豆蛋白从而提高其溶解度，使用mTGase反应制备油莎豆蛋白水解物与壳聚糖盐酸盐共价复合物，探查研究复合物形成最佳条件，并作为乳化剂添加到油莎豆乳中，对产品进行性能及感官评价。

### （二）研究内容

#### 2.1. 油莎豆蛋白的提取及油莎豆蛋白水解物的制备

##### 2.1.1 油莎豆蛋白的提取

油莎豆豆粕除杂粉碎，过60目筛。将粉末和石油醚以1:3的比例混合，室温条件1200 r/min搅拌2h后静置30min，倒出上层液体，重复上述操作三次，得到脱脂油莎豆豆粕粉。40℃旋蒸以回收石油醚。将150g脱脂粉末分散到2250mL蒸馏水中并均匀混合。用NaOH（1mol/L）将溶液调节至pH 8.5，在室温（1200 r/min）下搅拌2小时，然后离心（4800 g，20 min，4℃）。用1mol/L HCl将上清液调节至pH 4.2，静置2小时。除去上清液后，离心（4800 g，20 min，4℃），使用去离子水洗涤沉淀物，用1mol/L NaOH调整pH至7.0，倒入平皿中于-20℃冷冻，冷冻干燥后于-4℃储藏备用。

##### 2.1.2 油莎豆蛋白水解物的制备

选用木瓜蛋白酶对油莎豆进行单个酶水解，使用底物浓度为4%，增添酶量为5000 U /g，酶解时间4h，在最适pH、温度条件下酶解，每30min测定一次水解度，水解结束后置于100℃沸水中持续10min灭酶，水解液冷却后放入-20℃冰箱冷冻保藏，冷冻干燥后得到油莎豆蛋白水解物，放入-4℃冰箱贮藏备用。测定木瓜蛋白酶水解物结构表征和功能性质。水解度的计算采用pH-stat法测定。

#### 2.2 油莎豆蛋白及其水解物结构表征的测定

##### 2.2.1 内源荧光

蛋白质溶液用PBS（0.01 mol/L，pH 7.0）稀释至0.2 mg/mL，并用荧光分光光度计扫描。狭缝宽度设置为5.0 nm，电压为700 mV，发射波长为300-450 nm，激发波长为290 nm，扫描速度为5 nm/s[5]。

##### 2.2.2 傅里叶红外光谱

将1mg冻干蛋白样品与一定量的溴化钾混合并研磨成粉末，并在20MPa压力下压制成薄片。FTIR光谱仪用于全波段扫描。测量范围设置为4000-400 cm<sup>-1</sup>，分辨率为4 cm<sup>-1</sup>，进行32次扫描[6]。

##### 2.2.3 粒径、电位的测定

乳液的平均粒径D<sub>4,3</sub>由激光粒度分析仪测量。分散相的折射率设置为1.460，连续相的折射指数设置为1.330，每个样品平行测量三次[7]。使用Zeta电位仪在25℃下测量了Zeta电位、折射率设定为1.33。每个样品平行测量三次[8]。

##### 2.2.4 SDS-PAGE



将蛋白质溶液稀释到5 mg/mL的浓度，并准备SDS上样缓冲液（5倍浓缩），按照1:4的比例将两者混合。使用干热恒温设备，在温度为100℃条件下对混合物进行热处理，持续5分钟，加热完毕后，将其放入冰浴中冷却到室温以后方可使用。接下来，用凝胶电泳法估测分子量范围，随后进行染色处理，用蒸馏水冲洗，直至能够观察到清晰无干扰的背景，通过凝胶成像仪扫描电泳图像[9]。

### 2.2.5 表面疏水性

采用(8-苯胺-1-萘磺酸)ANS 作为荧光探针，首先将ANS (8 mM, 20  $\mu$ L)与样品 (0.05-0.5 mg/mL, 4 mL)进行依次混合，随后在避光的条件下进行反应 15 min。在激发波长390nm，发射波长 470nm和狭缝宽度为5 nm下使用荧光分光光度计测定荧光强度[10]。

### 2.2.6 扫描电子显微镜 (SEM)

将冷冻干燥的样品固定在样品台上并喷涂金，以100倍放大率观察其微观结构，并在5 kV的加速电压下拍摄照片[11]。

### 2.2.7 巯基和二硫键

(1) 游离巯基测定：称取 80 mg蛋白质样品粉末于25 mL试管中，与1 mL Tris-甘氨酸缓冲液混合均匀，再加入4.7 g盐酸胍，并用缓冲液稀释至10 mL。量取1 mL该混合溶液于离心管中，加入4 mL脲-盐酸胍溶液和0.05 mL Ellman's 试剂振荡混合，并测定412 nm处溶液的吸光度值，计算游离巯基的含量。游离巯基含量 (-SH 游) 的计算如公式 (1) 所示[12]。

式中： $A_{412}$ 为 412 nm 处样品的吸光度值； $D$  为稀释因子，游离巯基稀释因子为 5.02，总巯基稀释因子为 10； $C$  为样品的浓度 (mg/mL)。

(2) 二硫键含量测定[13]：量取1 mL混合溶液于50 mL离心管中，加入0.05mL  $\beta$ -巯基乙醇与4 mL的脲-盐酸胍溶液，混合均匀后25℃避光保存1 h。在离心管中加入10 mL12%三氯乙酸溶液，混合均匀后继续25℃避光保存1 h，5000 r/min离心10 min后富集沉淀，将沉淀与5 mL 12%三氯乙酸溶液混合均匀后重复离心3次。取沉淀物溶于10 mL 8 mol/L 脲中，并加入0.04 mL Ellman's 试剂振荡混合，测定412 nm处溶液的吸光度值，将吸光度值代入公式 (1) 中计算总巯基的含量 (-SH总)。并根据公式 (2) 计算二硫键含量。

### 2.3 油莎豆蛋白及其水解物功能性性质的测定

#### 2.3.1 乳化活性指数和乳化稳定性指数

从底部提取100  $\mu$ L乳液，并将其添加到10 mL SDS溶液 (0.1%) 中。使用十二烷基硫酸钠溶液进行对照试验，同时在500nm的位置采用紫外可见分光光度计测量乳液的吸光度。EAI和ESI根据以下两个方程式计算。

其中EAI是乳化活性指数； $T$ 为2.303； $A_0$ 是0分钟时的吸收值； $N$ 是稀释系数；是系统中油相的体积分数； $L$ 为反应杯直径； $c$ 是蛋白质浓度；ESI是乳化稳定性； $A_{10}$ 是溶液在10分钟时的吸光度； $\Delta T$ 是时间差。

#### 2.3.2 蛋白质溶解度

将蛋白质样品溶解在去离子水中至2 mg/mL，常温搅拌30 min，在低于4摄氏度的温度下以8000 $\times$ g离心15min。蛋白质溶解度表示为上清液中蛋白质浓度与总蛋白质含量的比率[14]。

#### 2.3.3 起泡性及泡沫稳定性

参照Arteaga等人[15]的方法略作修改，用高速均质机以 12000 r/min的速度均质30mL 蛋白质溶液 (3 mg/mL, pH 2.0-12.0) 1 min，然后分别在0和30 min测量溶液的总液量，使用以下公式计算起泡性和泡沫稳定性。其中  $V$  是均质前的体积； $V_0$  为均值后的体积； $V_{30}$  是静置 30 min 后的体积。

#### 2.3.4 持水性及持油性测定

取1克样品，分别加入到预先称重的两个离心管中，每个离心管分别含有10毫升蒸馏水和大豆油。随后，使用摇床设备，以每分钟600转的转速，将混合物搅拌15分钟。完成搅拌后，进行离心处理，以每分钟5000转的速度，在4℃的条件下离心15分钟，从而去除上清液。持水能力(WHC)和持油能力(OHC)表示为每克蛋白质保留的水或油的克数[16]。

### 2.4 mTGase反应制备油莎豆蛋白水解物/壳聚糖盐酸盐共价复合物条件研究

#### 2.4.1 mTGase反应油莎豆蛋白水解物/壳聚糖盐酸盐复合物制备

将1g壳聚糖盐酸盐溶于50 mL蒸馏水中，制备成 2% (w/v) 的壳聚糖盐酸盐溶液。然后将2%壳聚糖盐酸盐溶液和油莎豆蛋白水解物混合，并用稀盐酸调节pH，形成均匀的溶液。然后向上述混合物中加入0.1g mTGase粉末，50℃持续磁力搅拌50分钟。然后将溶液在沸水中处理10分钟，冷却至室温。将溶液以3000 r/min 的速度离心10分钟。随后，取上清液，冷冻干燥后得到油莎豆蛋白水解物/壳聚糖盐酸盐共价复合物。

#### 2.4.2 单因素试验

为获得最佳的接枝性能，优化反应pH、反应时间以及蛋白水解物与壳聚糖盐酸盐的质量比。反应时间 (10、20、30、40、50、60、70 分钟)、油莎豆蛋白水解物与壳聚糖盐酸盐的质量比 (10/1、20/1、30/1、40/1、50/1)、反应pH (6.10、6.20、6.30、6.40、6.50)。它们的变量都固定在某一数值上，而在一次实验中只改变一个变量。

用改进的邻苯二甲醛 (OPA) 法测定游离氨基[17]。将4 mL OPA试剂与 200  $\mu$ L 2 mg/mL的样品溶液混合。反应2 min，在340 nm处测定吸光度。蒸馏水与OPA 试剂的混合溶液作为空白。以亮氨酸为标准计算游离氨基含量。接枝度 (DG) 计算公式为：其中  $A_0$  为油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐混合物中游离氨基的吸光度， $A_t$  为油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐共价复合物中游离氨基的吸光度。

### 2.5 油莎豆蛋白水解物/壳聚糖盐酸盐共价复合物结构表征

#### 2.5.1 HPLC

流动相：0.1 mg/mL NaNO<sub>3</sub>；流速：0.6 mL/min；柱温箱温度：40℃。

#### 2.5.2 FTIR

扫描范围为室温下4000  $\text{cm}^{-1}$ 至 500  $\text{cm}^{-1}$ 。分别将壳聚糖盐酸盐、油莎豆蛋白水解物和油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐样品与KBr混合，压在平板上进行测量。

#### 2.5.3 X射线衍射

测量油莎豆蛋白水解物、壳聚糖盐酸盐及油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐X射线衍射图。

#### 2.5.4 <sup>13</sup>C NMR

室温下测量壳聚糖盐酸盐、油莎豆蛋白水解物和冻干油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐复合物的<sup>13</sup>C NMR光谱，其中壳聚糖

盐酸盐以D2O为溶剂，油莎豆蛋白水解物和油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐复合物以DMSO为溶剂，四甲基硅烷（TMS）为内标。

#### 2.5.5 SDS-PAGE

SDS-PAGE 分析采用Akhtar等[18]的方法，并做适当改进。使用 12%的分离胶和 6%的浓缩胶，其中含有 0.1%的SDS。15  $\mu$ L样品与 1 $\times$ SDS-PAGE 上样缓冲液在沸水中加热 5 min，冷却到室温，离心后取 15  $\mu$ L 上清液至加样孔。电泳缓冲液为 pH 为 8.3，含 SDS (0.1%，w/v) 的tris-glycine缓冲液，浓缩胶电压为 80 V，待溴酚蓝条带进入分离胶后，电压升为 100 V，溴酚蓝距下边缘 0.5cm时停止电泳。将蛋白与糖蛋白分别染色。

#### 2.5.6圆二色谱

通过圆二色谱对蛋白质的二级结构进行研究。将样品溶于磷酸钠缓冲液（pH 7.2至7.4，0.01 M）中配制成蛋白质浓度为 1 mg/mL 的溶液。测量范围为 190-260 nm，扣除缓冲液的背景噪声，每个样品扫描 3 次，取平均光谱作为样品的最终光谱。

#### 2.5.7内源荧光

将30 mg样品溶于10 mL超纯水。在发射波长为442 nm时记录230-400 nm的激发光谱。在激发波长为365nm，记录400-580nm的发射光谱。激发狭缝和发射狭缝均设为10 nm。

#### 2.5.8 SEM

样品配制成1mg/mL 的溶液，然后冷冻干燥。干燥的样品用导电胶固定在铜质样品台上，进行喷金处理后，在加速度电压为 20 kV的条件下，用100倍和500 倍放大率观察样品。

### 2.6 油莎豆蛋白水解物/壳聚糖盐酸盐共价复合物功能性质

#### 2.6.1 热稳定性

使用热重分析仪测定样品的TGA和DTG曲线。

#### 2.6.2蛋白质溶解度测定

参考 Liu[20]等人的方法并适当改进，对样品的蛋白质溶解度进行测定。

溶解度=上清液蛋白含量/离心前总蛋白含量\*100%

#### 2.6.3浊度测定

将样品溶解于蒸馏水中，稀释至1 mg/mL。然后用紫外分光光度计在波长600 nm处测定样品的吸光度。以蒸馏水为空白对照校正，重复测定三次。

#### 浊度

其中 L 为光路长度（1 cm），I为透射辐射强度，I<sub>0</sub>为入射辐射强度

#### 2.6.4表观黏度

使用直径为35 mm、间隙为1 mm的平板探针对乳液进行静态剪切扫描。在剪切速率范围为0.1 s<sup>-1</sup>至100 s<sup>-1</sup>时测量剪切应力的变化。在25℃下进行三次分析。幂律模型被用作描述剪切稀化流体的方程，可用于评估乳液流动性。

根据Gu 等[21]的方法对样品的DPPH自由基清除率进行测定。

#### 2.6.6乳化能力

乳化活性指数和乳化稳定性指数测定同3.2.3.1。

### 2.7 油莎豆蛋白水解物/壳聚糖盐酸盐复合物作为乳化剂在油莎豆乳中的应用

#### 2.7.1油莎豆乳及复合物乳化剂的制备

参照舒垚[22]的方法。脱皮油莎豆，放入烤箱120℃焙烤20min，冷却后使用粉碎机破碎，然后放入电子磨进行研磨，等份装瓶。

### 2.8 油莎豆乳品质分析

#### 2.8.1油莎豆乳贮存稳定性的测定

将10 mL乳剂置于带塞子的试管中，用直尺测量乳剂的总体积和乳膏体积，并分别在第1、5、10和15天记录[22]。

贮存稳定性=

式中H<sub>0</sub>是乳液的体积（cm），H<sub>t</sub>是溶液的总体积（厘米）。

#### 2.8.2油莎豆乳感官评价

根据叶建芬[23]周宇科[24]等人的方法略作修改，感官评定选取经过专业培训的10名成员，依次对样品的外观形态、香味、色泽、口感4个方面评分，为排除样品间的影响，对每个样品进行评估后净水漱口去除口腔残留。

### （三）国内外研究现状和发展动态

#### 3.1油莎豆蛋白

油莎豆蛋白蕴含了完整的18种氨基酸组合，其中人体必需的氨基酸占据了高达46.03%的比例，这一数值显著超越了世界卫生组织（WHO）与联合国粮食及农业组织（FAO）联合推荐的36%的标准，我们以第一限制性氨基酸的评分为标准来考量蛋白质氨基端的质量时，可以得到，油莎豆蛋白的得分远高于大豆蛋白的51.4分，为78.9。对油莎豆蛋白的消化率也进行了评价，结果表明，油莎豆蛋白的体外消化率为76%[25]。综上所述，从氨基酸谱和生物利用度来看，油莎豆蛋白具有较高的品质和商业价值。但是使用碱溶酸沉提取的油莎豆蛋白溶解度约为41.29%，乳化活性指数为42%，乳化稳定性指数为12.6%[26]，因而在生产加工中需要对其进行改性，满足实际生产需要。

#### 3.2油莎豆蛋白改性研究进展

##### 3.2.1物理方法

##### 3.2.1.1高压均质

高压均质化（HPH）是一种非热能技术，可产生强烈的湍流、空化和水力剪切，导致蛋白质的粒度和构象发生变化，从而改善乳化性能。高压均质化后，油莎豆蛋白 $\beta$ -折叠含量降低， $\alpha$ -螺旋和无规则卷曲增加。蛋白质乳液粒径从最初12.29  $\mu$ m，在100 MPa时达到最小4.79  $\mu$ m[27]。Zeta电位的绝对值在100 MPa时达到最大值。

##### 3.2.1.2球磨和非热等离子体

球磨和非热等离子体改变了油莎豆蛋白的分子结构，从而改善功能特性[28]。球磨（撞击、剪切和摩擦）、和非热等离子

体（高能粒子撞击）的作用力导致油莎豆蛋白分子之间的非共价相互作用断裂，使得油莎豆蛋白的粒径减小，更有助于蛋白质的分布和溶解性。

#### 3.2.1.3 超声

超声波处理改变了油莎豆蛋白表面的疏水性和二级结构[29]，诱导了油莎豆蛋白结构的折叠，使得溶解性提高。粒径和浊度的降低也表明，超声波处理改变了油莎豆蛋白的界面特性，改善了EAI和ESI。

#### 3.2.2 化学方法

##### 3.2.2.1 pH偏移

pH偏移处理能够导致油莎豆蛋白结构改变，同时引起其乳化性质的变化。油莎豆蛋白平均粒径在碱性条件下随pH升高而减小，蛋白粒度分布逐渐从双峰分布转变为单峰分布，蛋白质在溶液体系中分布的更加均匀[30]。在碱性条件下pH升高，油莎豆蛋白结构展开，包裹在蛋白分子内部的疏水基团暴露出来，表面活性增强，乳化性升高。

#### 3.3 蛋白质/多糖复合物在乳液中的相互作用

蛋白质和多糖之间的相互作用可以分为两大类：共价作用和非共价作用。其中，共价相互作用特指生物大分子中特定官能团之间形成的一种牢固的连接方式。蛋白质和多糖分子间的共价结合作用，主要通过美拉德反应初始阶段的蛋白质糖基化[31]和转谷氨酰胺酶催化实现。蛋白质和多糖通过共价结合可形成稳定复合物，其功能性、加工性能显著优于蛋白质和多糖本身[32]。静电相互作用是蛋白质/多糖复合非共价作用中的主要驱动力[33]。

#### 3.4 蛋白质/多糖相互作用对食品体系功能特性的影响

(1) 调节蛋白质的溶解度需重塑其表面亲疏水性的平衡。当蛋白质表面的疏水位点减少，同时电荷密度增加时，其在水中的溶解性会随之增强。

(2) 提高溶液粘度。

(3) 改进乳化性能。使用蛋白质多糖复合物稳定乳液与单独使用蛋白质相比具有更好的乳液稳定性[34]。

(4) 提高发泡性能，当蛋白质与多糖相结合时，它们能够形成一个紧密的粘弹性网络结构，这一结构能够有效减少气体的透过，进而增强泡沫的稳定性和持久性。

(四) 创新点与项目特色

#### 4.1 创新点

通过物理、化学方法改善其部分性质，以满足不同生产要求。例如：高压均质，球磨和非热等离子体，超声，pH偏移。我们通过生物改性方法，使用价格低廉木瓜蛋白酶水解油莎豆蛋白，使成本进一步降低。同时，油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐的制备，进一步促进了蛋白质和糖的结合，极大地提高了其乳化性能。

#### 4.2 项目特色

本项目利用脱脂油莎豆豆粕提取的油莎豆蛋白为主要原材料，拓宽油莎豆的应用领域，延长油莎豆加工产业链，提高了油莎豆价值，解决豆乳乳化稳定性较弱的问题。

(五) 技术路线、拟解决的问题及预期成果

#### 5.1 技术路线

#### 5.2 拟解决的问题

油莎豆蛋白溶解度较差，因此选择酶法改性油莎豆蛋白。蛋白复合多糖作为乳化剂较多，但是蛋白水解物复合多糖研究较少，将通过已有的植物蛋白复合壳聚糖盐酸盐的制备条件及蛋白水解物复合多糖制备乳化剂条件摸索油莎豆蛋白水解物复合壳聚糖盐酸盐制备乳化剂的条件。

#### 5.3 预期成果

发表中文文章一篇

主要参考文献

[1]Rubert, J.; Sebastià, N.; Soriano, J.; Soler, C.; Mañes, J. One-year monitoring of aflatoxins and ochratoxin A in tiger-nuts and their beverages. Food Chem. 2011, 127, 822–826.

[2]Adel, A.A.M.; Awad, A.M.; Mohamed, H.H.; Iryna, S. Chemical composition, physicochemical properties and fatty acid profile of Tiger Nut (Cyperus esculentus L) seed oil as affected by different preparation methods. Int. Food Res. J. 2015, 22, 1931–1938.

[3]Feng E J A D Y G. Effect of plant protein-polysaccharide complexes produced by mano-thermo-sonication and pH-shifting on the structure and stability of oil-in-water emulsions [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2018, 47 317–325.

[4]McClements D J, Jafari S M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review[J].Advances in Colloid and Interface Science, 2018, 251:55–79.

[5]Liu, Y., Zhao, G., Zhao, M. M., Ren, J. Y., & Yang, B. . Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2012, 131(3), 901–906.

[6]Herrero, A. M., Carmona, P., Pintado, T., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C.. Infrared spectroscopic analysis of structural features and interactions in olive oil-in-water emulsions stabilized with soy protein. Food Research International[J], 2011,44, 360–366.

[7]Zhao, L., Zhao, M. M., Liu, N., Liu, D. L., Sun, X. D., & Zhao, Q. Z.. Physicochemical properties of peanut oil-based diacylglycerol and their derived oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate[J]. Food Chemistry, 2015,184, 105–113.

[8]Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., & Romero, A.. Pea, chickpea and lentil protein isolates: Physicochemical characterization and emulsifying properties[J]. Food Biophysics, 2016,11, 43–51.

[9]Liu J, Chai J, Yuan Y, et al. Dextran sulfate facilitates egg white protein to form transparent hydrogel



at neutral pH: Structural, functional, and degradation properties[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 122: 107094.

[10]Yang J, Zamani S, Liang L, et al. Extraction methods significantly impact pea protein composition, structure and gelling properties[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 117: 106678.

[11]Wang, Y., Zhang, A., Wang, X., Xu, N., & Jiang, L. The radiation assisted-maillard reaction comprehensively improves the freeze-thaw stability of soy protein stabilized oil-in-water emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 103.

[12]CHAN K Y, WASSERMAN B P. Direct colorimetric assay of free thiol groups and disulfide bonds in suspensions of solubilized and particulate cereal proteins[J]. Cereal Chemistry, 1993, 70: 22-22.

[13]陈静,王立博,任艳娟等. 热处理对荞麦麸皮蛋白结构与理化特性的影响 [J/OL]. 食品科学, 1-11[2023-12-02]

[14]Mohan N, Mellem J J. Functional properties of the protein isolates of hyacinth bean [Lablab purpureus (L.) Sweet]: An effect of the used procedures[J]. Lwt, 2020, 129: 109572.

[15]Arteaga V G, Guardia M A, Muranyi I, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on molecular weight distribution, techno-functional properties and sensory perception of pea protein isolates[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 65: 102449.

[16]Mikkelsen D, Flanagan B M, Wilson S M, et al. Interactions of Arabinoxylan and (1,3)(1,4)- $\beta$ -Glucan with Cellulose Networks[J]. Biomacromolecules, 2015, 16(4): 1232-1239.

[17]Akhtar M, Dickinson E. Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum arabic[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(4): 607-616.

[18]朱雪芮. 乳清分离蛋白-阿拉伯木聚糖复合物的制备与功能性质研究[D]. 天津科技大学, 2021.

[19]Liu Y, Zhao G, Zhao M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 901-906.

[20]Mwangi W W, Ho K W, Tey B T, et al. Effects of environmental factors on the physical stability of pickering emulsions stabilized by chitosan particles[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 543-550.

[21]舒垚. 花生品种和烘烤条件及储存条件对花生酱综合品质的影响研究[D]. 河南工业大学, 2020.

[22]Varka, E. M., Ampatzidis, C., Kostoglou, M., Karapantsios, T., & Dutschk, V.. On the use of electrical conductance measurements for the stability of oil-in-water emulsions[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2010, 365, 181-188.

[23]周宇科,郑传洋,任汐月等. 不同产地花生酱的挥发性风味成分比较分析 [J]. 现代食品科技, 2023, 39 (04): 297-310.

[24]叶建芬,全艳军,郑秀帅等. 单甘酯稳定的花生酱涂抹性的改善 [J/OL]. 食品工业科技, 1-9[2023-11-29]、

[25]Jing, S.-Q.; Fang, F.; Ma, Z.-X.; Wang, Y.-X.; Chen, Z.-H. Nutritional evaluation of *Cyperus esculentus* protein. Food Sci. Technol. 2013, 38, 69-73.

[26]Liu, X.-X.; Liu, H.-M.; Li, J.; Yan, Y.-Y.; Wang, X.-D.; Ma, Y.-X.; Qin, G.-Y. Effects of various oil extraction methods on the structural and functional properties of starches isolated from tigernut (*Cyperus esculentus*) tuber meals. Food Hydrocoll. 2019, 95, 262-272.

[27]Xin-huai X H T L A Z. Effects of high pressure homogenization on the structural and emulsifying properties of a vegetable protein: *Cyperus esculentus* L. [J]. LWT, 2022, 153

[28]Lijun Y X G X W C L. The changed structures of *Cyperus esculentus* protein decide its modified physicochemical characters: Effects of ball-milling, high pressure homogenization and cold plasma treatments on structural and functional properties of the protein. [J]. Food chemistry, 2023, 430 137042-137042.

[29]Lianzhou X A G L Q C. Ultrasonication effects on physicochemical and emulsifying properties of *Cyperus esculentus* seed (tiger nut) proteins [J]. LWT, 2021, 142

[30]王琳;周国卫;于志超;孟洛冰;王玉莹;张安琪;王喜波;江连洲. pH值偏移处理对油莎豆蛋白结构及乳化性质的影响 [J]. 食品科学, 2020, 41 (22): 34-41.

[31]杨嘉琪,宋春丽. 蛋白质和多糖的相互作用及对食品质构的影响[J]. 食品工业, 2019, 40(01):218-221.

[32]彭秀清. 大豆多糖共价交联调控大豆蛋白乳化性质及相关分子机制[D]. 华南理工大学, 2019.

[33]李佳钊. 酶解大豆蛋白-海藻酸钠复合凝聚微胶囊的制备及其性能表征[D]. 西华大学, 2020.

[34]Evans M, Ratcliffe I, Williams P A. Emulsion stabilisation using polysaccharide-protein complexes[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2013, 18(4): 272-282.

#### (六) 项目研究进度安排

2024.03—2024.04查找相关资料;

2024.04—2024.06实验方案的撰写及实验的准备工作;

2024.06—2024.09酶法改性油莎豆蛋白结构表征和功能性质的研究,油莎豆蛋白水解物的制备;

2024.09—2024.12 mTGase反应制备油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐共价复合物最适条件研究;

2024.12—2025.03油莎豆蛋白水解物-壳聚糖盐酸盐共价复合物在油莎豆乳中的应用研究;

2023.03—2025.05撰写论文并发表

2025.05—2025.06撰写研究报告,准备结题

#### (七) 已有基础

7.1与本项目有关的研究积累和已取得的成绩

(1) 油莎豆基本营养指标

(2) 油莎豆全粉焙烤食品

- (3) 已提取出足够实验的油莎豆蛋白
- 7.2已具备的条件，尚缺少的条件及解决方法
- (1) 具备条件完善的实验室，例如生物技术中心，国家杂粮工程技术中心。
- (2) 团队成员来自四个学院，时间有一定冲突，前期工作分配不平衡。在相互了解后，时间工作分配合理，研究进展开始提升。

三、 经费预算

开支科目	预算经费（元）	主要用途	阶段下达经费计划（元）	
			前半阶段	后半阶段
预算经费总额	5000		2800	2200
1. 业务费	2000		600	1400
(1) 计算、分析、测试费	500	样品分析	400	100
(2) 能源动力费				
(3) 会议、差旅费				
(4) 文献检索费				
(5) 论文出版费	1500	论文发表版面费		1500
2. 仪器设备购置费				
3. 实验装置试制费				
4. 材料费	3000	实验试剂购买	2200	800
学校批准经费				

开支科目预算经费（元） 主要用途阶段下达经费计划（元）

前半阶段后半阶段

预算经费总额 5000 2800 2200

1. 业务费 2000 600 1400

(1) 计算、分析、测试费 500 样品分析 400 100

(2) 能源动力费

(3) 会议、差旅费

(4) 文献检索费

(5) 论文出版费 1500 论文发表版面费 1500

2. 仪器设备购置费

3. 实验装置试制费

4. 材料费 3000 实验试剂购买 2200 800

学校批准经费

四、 指导教师意见

导师（签章）：

年月日

五、 院系大学生创新创业训练计划专家组意见

专家组组长（签章）：

年月日

六、 学校大学生创新创业训练计划专家组意见

负责人（签章）：

年月日

七、 大学生创新创业训练计划领导小组审批意见

导师（签章）：

年月日

表格检测详细结果

- 说明：1. 总文字复制比:被检测文献总重复字符数在总字符数中所占的比例
2. 去除引用文献复制比:去除系统识别为引用的文献后, 计算出来的重合字符数在总字符数中所占的比例
3. 去除本人文献复制比:去除系统识别为作者本人其他文献后, 计算出来的重合字符数在总字符数中所占的比例
4. 单篇最大文字复制比:被检测文献与所有相似文献比对后, 重合字符数占总字符数比例最大的那一篇文献的文字复制比
5. 复制比按照“四舍五入”规则, 保留1位小数;若您的文献经查重检测, 复制比结果为0, 表示未发现重复内容, 或可能存在的个别重复内容较少不足以作为判断依据
6. 红色文字表示文字复制部分;绿色文字表示引用部分(包括系统自动识别为引用的部分);棕灰色文字表示系统依据作者姓名识别的本人其他文献部分



- 
7. 系统依据您选择的检测类型(或检测方式)、比对截止日期(或发表日期)等生成本报告
  8. 知网个人查重唯一官方网站:<https://cx.cnki.net>

知网个人查重服务  
官方网址 [cx.cnki.net](https://cx.cnki.net)