

椰子蛋白化学结构和热稳定性研究

肖容雍¹, 李 铭², 盛 政³, 张海华^{3*}, 高 峰⁴

(1. 三亚航空旅游职业学院, 三亚 572000; 2. 三亚中瑞酒店管理职业学院, 三亚 572000; 3. 浙江农林大学
食品与健康学院, 杭州 311300; 4. 松阳县绿丰农业开发有限公司, 丽水 323000)

摘 要: **目的** 研究椰子全粉中蛋白质的结构和热稳定性, 为深度开发椰子蛋白资源提供理论基础。**方法** 采用碱提酸沉法提取椰子全粉中蛋白质, 酸水解法结合氨基酸自动分析仪测定氨基酸组成, 利用傅里叶变换红外光谱法分析蛋白二级结构, 热重分析仪分析蛋白热降解曲线, 纳米粒度分析仪研究溶液中蛋白颗粒的 Zeta 电位和粒径大小。**结果** 椰子蛋白含有 18 种氨基酸, 富含精氨酸和谷氨酸, 8 种必需氨基酸含量丰富、比例合理, 是营养良好的蛋白质来源。椰子蛋白的二级结构以稳定态的 β -折叠为主, 含量达 44.18%, 椰子蛋白降解起始温度 273.12°C, 峰值温度 332.91°C, 至最终实验设定温度 790°C 时仍有 25.9% 残余未热降解完全, 60°C 时椰子蛋白溶液 Zeta 电位和粒径与 25°C 无显著变化。**结论** 椰子蛋白具有良好的营养价值和热稳定性, 可为椰子蛋白资源的深度开发和广泛利用提供理论参考。

关键词: 椰子蛋白; 氨基酸; 二级结构; 热重分析; 粒径

Chemical structure and thermal stability of *Cocos nucifera* L. protein

XIAO Rong-Yong¹, LI Ming², SHENG Zheng³, ZHANG Hai-Hua^{3*}, GAO Feng⁴

(1. Sanya Aviation and Tourism Vocational College, Sanya 572000, China; 2. Sanya Sino-Swiss Vocational College of Hotel Management, Sanya 572000, China; 3. College of Food Science and Health, Zhejiang Agriculture & Forestry University, Hangzhou 311300, China; 4. Songyang Lv Feng Agricultural Development Co., Ltd., Lishui 323000, China)

ABSTRACT: Objective To study the the structure and thermal stability of *Cocos nucifera* L. protein, and provide theoretical basis for further development of *Cocos nucifera* L. protein resources. **Methods** The alkali extraction and acid precipitation method was used to extract the protein from *Cocos nucifera* L. powder. The amino acid composition of *Cocos nucifera* L. protein was determined using acid hydrolysis method combined with an automatic amino acid analyzer. The secondary structure of *Cocos nucifera* L. protein was analyzed using Fourier transform infrared spectroscopy. The thermal degradation curve of *Cocos nucifera* L. protein was analyzed using a thermogravimetric analyzer. The Zeta potential and particle size of the *Cocos nucifera* L. protein particles in the solution were studied using a nanoparticle size analyzer. **Results** *Cocos nucifera* L. protein contained 18 kinds of amino acids with a reasonable proportion and high content of essential amino acids, rich in arginine and glutamic acid, making it a good nutritious source of protein. Stable β -folding with a content of 44.18%, was the main secondary structure of *Cocos nucifera* L. protein. The initial temperature of *Cocos nucifera* L. protein degradation

基金项目: 海南省自然科学基金项目(321QN0907)

Fund: Supported by the Hainan Natural Science Foundation (321QN0907)

*通信作者: 张海华, 研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为食品加工及品质改良, 茶叶加工&精深加工与茶食品技术开发。E-mail: hhzhang@zafu.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Hai-Hua, Professor, College of Food Science and Health, Zhejiang Agriculture & Forestry University, Hangzhou 311300, China. E-mail: hhzhang@zafu.edu.cn

was 273.12°C, and the peak temperature was 332.91°C. At the final temperature of 790°C, there was 25.9% of the residue was not completely thermally degraded. The Zeta potential and particle size of *Cocos nucifera* L. protein solution showed no significant changes at 60°C compared to 25°C. **Conclusion** *Cocos nucifera* L. protein has good nutritional value and good thermal stability, which can provide theoretical reference for the deep development and wide utilization of *Cocos nucifera* L. protein resources.

KEY WORDS: *Cocos nucifera* L. protein; amino acids; secondary structure; thermogravimetric analysis; particle size

0 引言

椰子(*Cocos nucifera* L.)是棕榈科椰子属植物,是典型的亚热带木本油料和食用经济作物的果实,主要由椰棕、椰壳、椰肉和椰子水组成。我国99%的椰子产自海南省,是海南省农业重要的经济作物,也是海南食品工业的特色原料。利用椰子资源开发的产品丰富多样,其中,规模较大,已实现工业化的主要是食用椰油和椰汁,而椰子蛋白主要作为加工副产物存在^[1-3]。以前,椰子蛋白的增值利用途径较单一,主要是作饲料使用,加之人们对椰子蛋白不够重视,欠缺对其结构及物性等的相关研究基础,所以其深度和延伸开发不足,造成了椰子蛋白资源的浪费。近年来,椰子因其健康属性、口感清爽以及风格百搭等特点,在巨大的市场需求和利好政策引导下,椰子食品及产品层出不穷,有生椰拿铁、蜜瓜椰椰、椰云拿铁等现制饮品,也有椰子鸡等肉食品,以及椰子零食、烘焙食品等,且“含椰量”越来越高,多地食品市场刮起了“椰风”,深受消费者喜爱^[4-6]。这些椰子食品中所使用的椰子配料大多是椰浆,而椰浆中有较高含量的椰子蛋白,影响着含椰食品的品质,因此椰子蛋白引起了生产者和科研工作者的兴趣和重视。

目前,关于椰子蛋白的深度研究逐渐起步,在提取分离^[7-10]与结构分析(氨基酸组成^[11-13]、二级结构^[14-15]、功能特性分析(乳化性^[16-18]、乳化稳定性^[19-21]、起泡性^[22-23]、起泡稳定性^[24-25]等)及制备功能性肽^[26-29]等方面也取得了一些进展和成果。如,崔岩岩^[12]对冷榨、超临界二氧化碳萃取和亚临界丁烷萃取3种不同椰子油制备方法对椰子蛋白性质的影响展开了研究,发现亚临界脱脂椰子蛋白和超临界二氧化碳脱脂椰子蛋白含有相对更多的 α -螺旋和 β -折叠结构,意味着亚临界脱脂椰子蛋白和超临界二氧化碳脱脂椰子蛋白具有比冷榨更高的稳定结构,由此可见,不同方法制备所得的椰子蛋白的物理化学特性存在差异,这也决定了其应用领域将有所不同。林焜^[13]对椰肉蛋白进行了分离鉴定与特性研究,发现63 kDa类球蛋白在椰子蛋白中丰度和含量均较高,其结构与豌豆球蛋白(vicilin)相似,这为食品工业中椰子蛋白部分替代豆类蛋白提供了理论支撑。

尽管如此,关于椰子蛋白结构与物性研究的理论体系尚未形成,仍有很多盲点需要研究,现有研究大都以椰

油提制副产物为原料提取蛋白展开研究,忽略了椰子蛋白在椰油提制过程中发生的变性作用,因而现有关于椰子蛋白结构和物性的数据实际上并非椰子原蛋白,导致上述研究结果对于指导椰浆及现下流行的椰子食品效果不强,缺乏椰子原蛋白结构、热力学特性等研究,尤其是热稳定性,进而至今对椰子原蛋白的科学认识不够。蛋白的热稳定性是其热力学特性的重要指标,也是决定其食品加工和品质的重要指标。同时,蛋白质的热稳定性又因结构不同而异,因此,分析蛋白质结构是研究其稳定性的科学前提。鉴于此,本研究以从椰子全粉中提制分离的椰子原蛋白为对象,首先分析其氨基酸组成和二级结构,再从热力学角度研究椰子蛋白质及其溶液的热稳定性,以期椰子蛋白研究体系提供更多基础数据,进而为椰子蛋白的精深加工和高值化利用提供更有力的支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜椰果(海南省三亚市商超);石油醚(沸点30~60°C)、无水磷酸氢二钠(纯度99%)、磷酸二氢钠(纯度99%)、盐酸(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

Nicolet iS50 傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);HZ2002A 型分析天平(精度0.001 g,慈溪红钻衡器设备有限公司);SYKAM433D 氨基酸自动分析仪(德国卡姆公司);Nano-ZS 型激光粒度仪(英国马尔文仪器有限公司);STA 6000 同步热分析仪(美国PerkinElmer仪器有限公司);Lab-1-50 型真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 椰子蛋白样品制备

首先,以新鲜椰果为对象,取其果肉和椰汁,经打浆后冷冻干燥得到椰子全粉,经测定,经测定其中含有粗脂肪69%、蛋白质8%、纤维素18%。其次,以椰子全粉为对象进行椰子蛋白的提取与制备,具体操作如下:1)脱脂:准确称量1.0 g椰子全粉,置于双层滤纸包,用石油醚浸泡过夜,采用索氏抽提器于55°C脱除椰子全粉中的脂质,收集残渣,挥去石油醚,冷冻干燥,获得脱脂椰子全粉。2)提制

蛋白: 称量 1.0 g 脱脂椰子全粉, 按料液比 1:10 (g:mL) 分散于 0.2 mol/L pH 9.5 磷酸氢二钠缓冲液中, 在 50℃ 下静置 2 h 后, 于 25℃、8000 r/min 条件下离心 10 min, 保留上清液。调节上清液 pH 至 4.5, 在 25℃ 下静置 2 h, 于 25℃ 8000 r/min 条件下离心 10 min, 保留沉淀并用 pH 7.5 0.2 mol/L 磷酸氢二钠缓冲液洗涤 2 次。多次提取, 收集沉淀, 冷冻干燥, 得椰子蛋白, 经凯氏定氮法测定蛋白含量大于 95%, 存于-20℃冰箱。

1.3.2 椰子蛋白的氨基酸组成分析

采用氨基酸自动分析仪测定椰子蛋白的氨基酸组成。具体如下: 准确称取 200 mg 椰子蛋白样品于密封管中, 加入 10 mL 6.0 mol/L 盐酸, 于 110℃ 水浴反应 24 h, 冷却至室温, 过滤、稀释, 进样氨基酸自动分析仪进行测定。

1.3.3 椰子蛋白二级结构测定

采用傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)测定椰子蛋白二级结构。具体如下: 将无水椰子蛋白与溴化钾按 1:100 (*m:m*) 比例混合, 研磨均匀后压成片状, 置于 FTIR 样品池中, 于分辨率 4 cm⁻¹、扫描次数 32 次设定条件下, 在 400~4000 cm⁻¹ 波数范围先采集背景再采集样品。对所得样品图谱, 采用 PeakFit 软件进行基线校正、自动平滑处理, 再进行高斯去卷积和二阶导数处理, 对酰胺 II 带(1600~1700 cm⁻¹)的高斯分峰按结构归属进行拟合, 由峰面积占比表征椰子蛋白的各二级结构含量。

1.3.4 椰子蛋白的热稳定性分析

称取 5 mg 椰子蛋白, 采用热重分析仪(thermogravimetric analyzer, TGA)考察其热稳定性。测定条件如下: 初始温度 30℃, 以 20℃/min 速率升温至 800℃, 气体氛围为氮气。以温度(℃)、质量损失率(%)为横纵坐标, 记录样品在加热过程中质量(*m*)随温度(*T*)的变化, 从而得到热重曲线, 并对质量损失率求一阶导数(*dΔm/dT*)得到质量损失率的变化速率曲线。

1.3.5 椰子蛋白溶液稳定性测定

配制 1.0 mg/mL 椰子蛋白溶液, 分别置于 25、60、100℃ 恒温保持 15 min。溶液冷却后, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 然后取 1 mL 置于马尔文纳米粒径仪样品池中, 测量不同温度下椰子蛋白溶液的粒径和 Zeta 电位。

1.4 数据处理

每个实验重复 3 次, 结果以平均值±标准偏差表示。采用 SPSS 25 中的方差分析在 *P*<0.05 水平上进行统计学分析, 采用 Origin 2022 进行图表绘制。

2 结果与分析

2.1 椰子蛋白的氨基酸组成

椰子蛋白氨基酸组成如表 1 所示。椰子蛋白由 18 种氨基酸组成, 其中谷氨酸最高, 精氨酸次之, 分别达 16.15 g/100 g 和 13.39 g/100 g, 李艳等^[16]也发现椰麸蛋白质中清单白、

表 1 椰子蛋白氨基酸组成及分类(g/100 g)
Table 1 Amino acid composition of *Cocos nucifera* L. protein (g/100 g)

氨基酸种类	椰子蛋白	人乳 ^[30]	椰子蛋白/人乳	大豆蛋白 ^[31] /人乳	氨基酸分类	含量
苏氨酸 THR [*]	3.24±0.04	4.55	0.71	0.82	EAA	32.91
赖氨酸 LYS [*]	3.20±0.03	6.89	0.46	1.11	NEAA	53.78
色氨酸 TRY [*]	2.08±0.02	1.70	1.22	—	CEAA	13.31
亮氨酸 LEU [*]	6.76±0.02	10.33	0.65	0.70	酸性氨基酸	24.70
缬氨酸 VAL [*]	5.61±0.03	6.00	0.93	0.69	碱性氨基酸	18.38
苯丙氨酸 PHE [*]	4.51±0.03	4.10	1.10	1.22	疏水性氨基酸	31.72
甲硫氨酸 MET [*]	1.71±0.02	1.90	0.90	0.85	支链氨基酸	16.37
异亮氨酸 ILE [*]	4.00±0.04	5.40	0.74	0.80		
组氨酸 HIS [*]	1.80±0.05	2.59	0.69	0.23		
酪氨酸 TYR [#]	11.86±0.05	4.61	2.57	0.53		
半胱氨酸 CYS [#]	1.45±0.01	2.00	0.72	0.93		
丙氨酸 ALA ^{&}	3.72±0.02	3.75	0.99	1.07		
脯氨酸 PRO ^{&}	3.33±0.03	8.93	0.37	1.30		
谷氨酸 GLU ^{&}	16.15±0.03	17.81	0.91	0.98		
精氨酸 ARG ^{&}	13.39±0.01	4.05	3.31	1.66		
天冬氨酸 ASP ^{&}	8.56±0.06	8.54	1.00	1.31		
丝氨酸 SER ^{&}	4.48±0.02	4.45	1.01	1.38		
甘氨酸 GLY ^{&}	4.16±0.05	2.45	1.70			

注: ^{*}必需氨基酸(essential amino-acid, EAA); [#]条件必需氨基酸(conditionally essential amino acid, CEAA); [&]非必需氨基酸(non-essential amino acid, NEAA)。

球蛋白、谷蛋白-1 和谷蛋白-2 中都富含精氨酸与谷氨酸。EAA 是人体合成量和速度不能满足需要的一类氨基酸的总称, 椰子蛋白中 EAA 含量及氨基酸配比与联合国粮食及农业组织/世界卫生组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, FAO/WHO) 推荐值 36 g/100 g 接近, 与报道的人乳氨基酸组成相比较^[30], 9 种 EAA 中除赖氨酸外均达到了人乳的 70%以上, 其中酪氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸达到了人乳 90%以上; CEAA 中酪氨酸是人乳的 2.57 倍, 远超人乳, 而半胱氨酸不足, 为人乳的 70%左右。与同为植物源且广为食用的大豆蛋白相比^[31], 椰子蛋白的 EAA 与大豆相当, 其中组氨酸更接近人乳, 但赖氨酸不如大豆, 其他 6 种 EAA 在两种蛋白中均接近于人乳。从总体来看, 椰子蛋白 EAA 占比为 32.91%, 与大豆蛋白 EAA 比例相当; EAA+CEAA 比率为 46.22%, 酸性氨基酸 24.70%、碱性氨基酸 18.38, 疏水性氨基酸 31.72, 支链氨基酸 16.37。

2.2 椰子蛋白二级结构研究

红外光谱图中酰胺 II 带(1600~1700 cm^{-1})区域的吸收光谱主要由 C=O 伸缩振动引起, 而蛋白质含有丰富的 C=O 双键, 因此, 常用酰胺 II 带光谱的差异分析蛋白质二级结构的变化^[32]。经高斯去卷积、二阶导数处理后, 得出酰胺 II 带的分峰, 其中分峰 1610~1640 cm^{-1} 和 1670~1690 cm^{-1} 归属为 β -折叠, 1640~1650 cm^{-1} 归属为无规卷曲, 1650~1660 cm^{-1} 归属为 α -螺旋, 1660~1670 cm^{-1} 和 1690~1700 cm^{-1} 归属为 β -转角结构^[10-13], 用各结构对应分峰的峰面积占比表示各二级结构的含量。图 1 为椰子蛋白的红外光谱图和酰胺 II 带拟合图。椰子蛋白红外光谱酰胺 II 带可拟合为 9 个分峰, 拟合系数 R^2 为 0.977, 说明这 9 个分峰可以代表椰子蛋白的酰胺 II 带。从左到右依次对各个分峰进行归属处理, 其中, 1618、1625、1636、1672、1678 cm^{-1} 归属为 β -折叠结构, 1644 cm^{-1} 归属为无规卷曲结构, 1653 cm^{-1} 归属为 α -螺旋结构, 1667 cm^{-1} 、

1692 cm^{-1} 归属为 β -转角结构。对图 1A 各分峰峰面积占比进行计算, 得出椰子蛋白二级结构含量, 结果显示, 椰子蛋白二级机构中占优势地位的是 β -折叠结构, 含量达 44.18%, 其次是 β -转角结构(18.84%)和无规则卷曲结构(21.61%), 占比最少的是 α -螺旋结构(15.41%)。 α -螺旋和 β -折叠结构较为紧密, 因此, 也相对稳定, 其含量反映了蛋白质分子的稳定性, 而 β -转角和无规卷曲结构基团间作用力弱、构象紧密程度低、较为松散。椰子蛋白质中稳定构象的 α -螺旋和 β -折叠结构合计达 59.59%, 说明椰子蛋白分子构象较为有序, 分子稳定性高, 这是开发椰子蛋白深加工产品及利用功能的重要前提。

2.3 椰子蛋白热稳定性研究

采用 TGA 对椰子蛋白的热稳定性进行分析, 结果见图 2。从图 2 椰子蛋白质量百分比 TG 曲线可以看到, 随着温度从 30℃升高到 800℃, 椰子蛋白质量呈现两个快速失重温度带。进一步对椰子蛋白质量曲线进行求导数, 得出 DTG 曲线。从 DTG 曲线可以更明显的看出两个失重峰, 相关参数见表 2。第一个失重峰出现在 55~116℃, 峰值温度为 70.81℃, 该阶段失重约 3%, 孙义周^[17]研究发现椰子球蛋白和清蛋白的变性温度大约为 128℃和 93℃, 说明该阶段的失重并不是蛋白质分解, 那么该阶段质量的损失主要是椰子蛋白中的水分和低沸点挥发物。随着加热的进行, 第二个失重峰出现在 273.12~380.61℃, 椰子蛋白失重显著, 失重率达 54.16%, 这说明蛋白质分子在热的作用下从不稳定结构区(β -转角、无规则卷曲等)开始, 蛋白质分子间的 N-O、O-O 等共价键以及氨基酸之间的肽键均被破坏, 导致蛋白分子降解。椰子蛋白的热分解的峰值温度 T_p 为 332.91℃, 尽管研究表明椰子蛋白中主要组分是谷蛋白^[12-16,19], 但与其与谷物类面筋蛋白(300℃)相比偏高^[33], 这说明椰子蛋白的热稳定性更好。温度升高到终止温度 790℃, 椰子蛋白总失重为 74.10%, 仍有 25.9%残余质量。

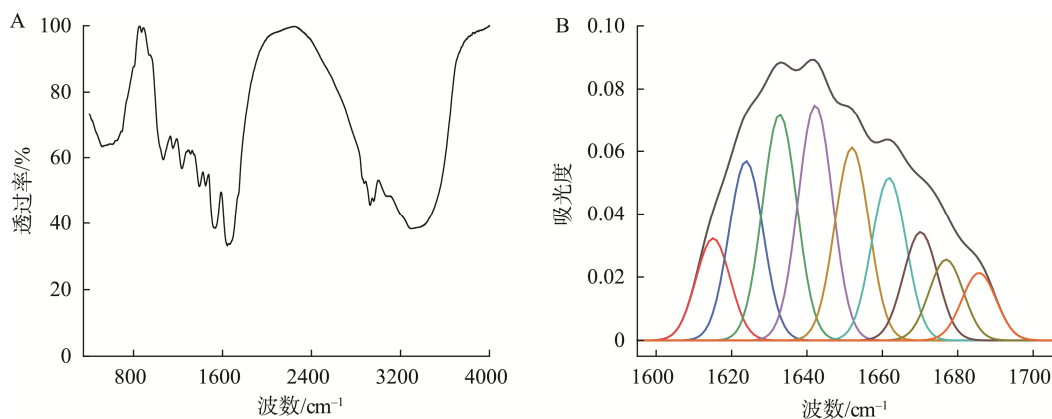


图 1 椰子蛋白红外光谱图(A)以及酰胺 II 带拟合图谱(B)

Fig.1 FTIR spectrum (A) and curve fitting results of amide II band of *Cocos nucifera* L. protein (B)

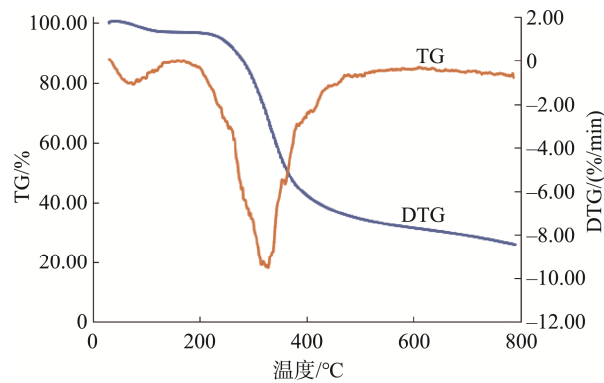


图 2 椰子蛋白的 TG 和 DTG 曲线
Fig.2 TG and DTG curves of *Cocos nucifera* L. protein

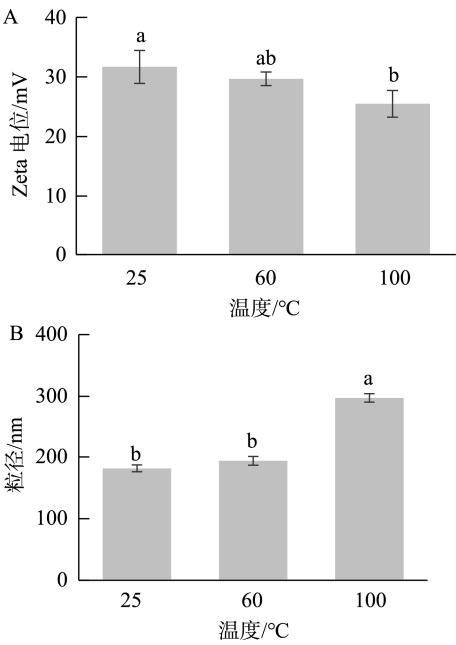
表 2 椰子蛋白热重分析特征参数			
Table 2 Thermogravimetric analysis characteristic parameters of <i>Cocos nucifera</i> L. protein			
参数		温度 /°C	失重率 /%
峰 1	外推起始温度(extrapolated onset temperature, T_{onset1})	55.38±0.23	0
	外推终止分解温度(extrapolated end temperature, $T_{endset1}$)	116.44±0.16	2.81
	最快质量变化峰值温度 1 (DTG ₁ peak temperature, T_{p1})	70.81±0.18	-
峰 2	外推起始温度(extrapolated onset temperature, T_{onset2})	273.12±0.24	10.21
	外推终止分解温度(extrapolated end temperature, $T_{endset2}$)	380.61±0.32	54.16
	最快质量变化峰值温度 2 (DTG ₂ peak temperature, T_{p2})	332.91±0.26	-
最终终止温度(final temperature, T_f)		790.00±0.24	74.10

注: -表示无此项。

2.4 椰子蛋白溶液的热稳定性研究

Zeta 电位可以表征蛋白颗粒表面带电性质, 衡量蛋白溶液中分散颗粒之间互斥或吸引的度量, 是衡量体系稳定性的指标。Zeta 电位绝对值越高, 蛋白粒子表面电荷越多, 作用力越强, 体系越稳定。本研究在代表食品加工中常温、巴氏杀菌和煮沸加工的 25、60、100℃条件下检测椰子蛋白溶液的稳定性(Zeta 电位)和蛋白粒子的分散均匀性(polymer dispersity index, PDI), 结果见图 3。如图 3A 所示, 25、60、100℃下水溶液中椰子蛋白粒子表面 Zeta 电位 $\zeta>0$, 说明带正电荷, 其 $|\zeta|$ 随着温度的升高逐渐降低, 说明体系的稳定性在下降。结合椰子蛋白中氨基酸组成, 酸性氨基酸(天冬氨酸和组氨酸)含量高于碱性氨基酸(赖氨酸、精氨酸、组氨酸), 说明蛋白粒子表面呈电负性的酸性氨基酸占优势。超声和 90℃预加热处理提高了椰子蛋白溶解度(45.2%至 53.5%)、降低了游离巯基(33.24 $\mu\text{mol/g}$ 至 28.05 $\mu\text{mol/g}$)和提高了表面疏水性(7658.6 至 10815.1), 这使得椰子蛋白乳

液 $|\zeta|$ 电位升高(-11 mV 至-23 mV), 降低了椰奶的热聚集率(148.5%至 13.4%), 具有更好的乳化和热性能^[15,17,25]。值得注意的是, 60℃时椰子蛋白溶液的 Zeta 电位 ζ 和粒径虽然比 25℃的低, 但无显著性差异($P>0.05$), 说明 60℃加热时椰子蛋白粒子仍较为稳定, 这可用已有研究结果进行推论。另外, 椰子蛋白于 85℃加热 15 min 后椰子蛋白构象没有明显变化。当温度提高到 100℃时, 椰子蛋白溶液 Zeta 电位 ζ 显著下降($P>0.05$), 说明在热作用下, 蛋白粒子结构发生变化, 导致表面电荷的变化, 使得粒子向聚集方向移动^[17], 同时椰子蛋白颗粒 PDI 显著升高(图 3B), 意味着蛋白粒子分散均匀性降低, 体系稳定性下降。



注: 不同小写字母表示组间差异显著, $P<0.05$ 。

图 3 不同温度下椰子蛋白的 Zeta 电位(A)和平均粒径 PDI (B)
Fig.3 Zeta potential (A) and average particle size PDI (B) of *Cocos nucifera* L. protein at different temperatures

3 讨论与结论

本研究发现椰子蛋白含有 18 种氨基酸, 且 EAA、NEAA 组成合理, 其中谷氨酸含量最高, 这与研究椰子分级蛋白(清蛋白、球蛋白和谷蛋白)的氨基酸组成结果一致。关于椰子蛋白氨基酸组成的研究很多^[9-12], 大体上与本研究保持了一致的结论, 但也有不同, 其原因主要是原料差异(新鲜椰子、初榨椰油饼粕、椰浆等)^[8,10-13]和提制方法差异(碱提、水提、醇提等)^[9,14-16]。如马开创等^[11]发现脱脂椰子粉分级蛋白(清蛋白、球蛋白和谷蛋白)的 MET 相对缺乏, 而 CHAMBAL 等^[9]发现碱法(50℃、pH 11)提制的新鲜椰子蛋白中 CYS 较少, 这与本文结果相似。研究发现谷蛋白是初榨椰油饼粕中的主要蛋白(82.31%~89.59%), 且经

SWISS-MODEL 预测,其结构与豌豆蛋白的结构基本相似^[8],这从另一角度佐证了本研究发现的椰子蛋白中 8 种 EAA 含量与大豆蛋白相当的结论。除赖氨酸外,7 种 EAA 含量均达到了人乳的 70%以上,而且, BENAÏSSA 等^[22]评估了椰奶蛋白的体外胃肠消化性,发现与牛奶蛋白相比,椰奶蛋白更容易被胃蛋白酶和胰蛋白酶/糜蛋白酶联合消化($P<0.001$),意味着椰奶蛋白的胃肠道消化性比牛奶蛋白更好,多方面表明椰子蛋白是一种营养良好的蛋白质,可用于部分替代大豆蛋白、牛奶蛋白。

本研究发现 β -折叠是椰子蛋白主要的二级结构形式, β -折叠和 α 螺旋结构占比达 59.59%,而 β -折叠和 α 螺旋是蛋白质二级结构的稳定构型,说明椰子蛋白二级结构以稳定构型为主,这与其中氨基酸组成紧密相关。已有研究表明,支链氨基酸、疏水氨基酸含量高的蛋白质,其 β -折叠结构就高, GLU 更多参与 α -螺旋结构, ARG 更多参与 β -折叠结构^[34-35]。蛋白质二级结构又决定其物理化学性质,所以椰子蛋白以稳定构型为主的二级结构,决定了其具有相对较高的热变性温度 T_d ($>116^\circ\text{C}$)及热裂解温度($>273^\circ\text{C}$),和椰子蛋白溶液在 60°C 加热 15 min 仍具有较高的 Zeta 电位(-29.7 mv)和较小的 PDI (<200 nm),这与 25°C 的椰子蛋白溶液无显著差异($P<0.05$),说明椰子蛋白是一种具有良好的热稳定性的蛋白质。当用差示扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)方法测定椰子蛋白的热稳定时也得出同样结论,均显示椰子蛋白具有较高的 T_d 和热焓值 ΔH ,意味着展开聚集或紧实的椰子蛋白质需要较高的温度和能量,进一步可以认为椰子蛋白具有更有序的结构^[20-21]。基于较高的热变性温度、裂解温度及 T_d 和 ΔH 值等物理化学特性,本研究认为椰子蛋白适用于高温加工产品。

目前关于椰子蛋白的三级、四级等高级结构的认知尚不足,使得椰子蛋白应用研究较为被动,比如开发椰子蛋白功能肽工作,尽管已有文献报道了以椰子蛋白为底物开发抗氧化肽、抑菌肽、降压肽等功能肽研究^[26-29],但开发这些功能肽时多采用先制备再界定功能的思路,而不是先定义功能再有针对性的制备肽,这造成了功能肽开发工作目标针对性不强、随机性高情况,因此今后在椰子蛋白高级结构方面亟待突破,以加速实现针对性更强的开发和利用椰子蛋白。

参考文献

- [1] 邓宝华,李向阳,杨建振,等.椰子副产物精深加工及高值利用研究进展[J].中国果菜,2023,43(11):25-30.
DENG BH, LI XY, YANG JZ, *et al.* Research progress in deep processing and high value utilisation of coconut by-products [J]. China Fruit Veget, 2023, 43(11): 25-30.
- [2] 赵津好,张玉峰,董泽来.初榨椰子油加工技术的研究进展[J/OL].中国粮油学报:1-12. [2023-12-12]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000176>
- [3] ZHAO JH, ZHANG YF, DONG ZL. Research progress on processing technology and functional activity of virgin coconut oil [J]. J Chin Cere Oils: 1-12. [2023-12-12]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000176>
- [3] 郑奋,李智斌,刘屹,等.41份文昌高种椰子资源果实品质分析和综合评价[J].中国南方果树,2023,52(5):54-61.
ZHENG F, LI ZX, LIU Y, *et al.* Analysis and comprehensive evaluation of fruit quality of 41 high-grade coconut resources in Wenchang [J]. South China Fruits, 2023, 52(5): 54-61.
- [4] 贾平凡,龚文静.解锁美味密码,海南“椰风”正劲[N].人民日报海外版,2023-09-28(09).
JIA PF, GONG WJ. Unlock the delicious password, Hainan's "coconut wind" is strong [N]. People's Daily Overseas Edition, 2023-09-28(09).
- [5] 卞正欣.牡蛎壳粉椰子粉小球藻复合代餐饮料的研究[J].食品安全导刊,2023,(18):139-141,160.
BIAN ZX. Study on oyster shell powder coconut powder chlorella composite replacement meal beverage [J]. China Food Saf Magaz, 2023, (18): 139-141, 160.
- [6] 林华.“椰妹”正式进京椰子鸡火锅下半场“现砍”制胜[J].中国食品,2023,(17):62-65.
LIN H. "Coconut Girl" officially entered Beijing, and the coconut chicken hot pot won the second half of the "cut" [J]. China Food, 2023, (17): 62-65.
- [7] HUANG JM, LIU XQ, LAN QX, *et al.* Proteomic profile of coconuts [J]. Eur Food Res Technol, 2016, 242(3): 449-455.
- [8] LIN Y, WANG Y, JI Z, *et al.* Isolation, purification, and identification of coconut protein through SDS-PAGE, HPLC, and MALDI-TOF/TOF-MS [J]. Food Anal Method, 2020, 13(6): 1246-1254.
- [9] CHAMBAL B, BERGENSTAHL B, DEJMEK P. Edible proteins from coconut milk press cake; one step alkaline extraction and characterization by electrophoresis and mass spectrometry [J]. Food Res Int, 2012, 47(2): 146-151.
- [10] 林娜,吴毓炜,王焱,等.椰浆中椰子蛋白的提取、分离和鉴定[J].热带作物学报,2021,42(4):1106-1112.
LIN Y, WU YW, WANG Y, *et al.* Extraction, isolation and identification of coconut protein from coconut milk [J]. Chin J Trop Crops, 2021, 42(4): 1106-1112.
- [11] 马开创,黄宏飞,彭吟雪,等.椰子分级蛋白制备的研究[J].中国油脂,2019,44(5):67-72.
MA KC, HUANG HF, PENG YX, *et al.* Preparation of coconut fractionated protein [J]. China Oils Fats, 2019, 44(5): 67-72.
- [12] 崔岩岩.不同油脂制备方法对椰子主要营养成分、油脂与蛋白质性质影响研究[D].海口:海南大学,2022.
CUI YY. Effects of different oil preparation methods on main nutrients, oils and protein properties of coconut [D]. Haikou: Hainan University, 2022.
- [13] 林娜.椰子蛋白的分离鉴定与特性研究[D].广州:华南农业大学,2023.
LIN Y. Isolation, identification and characterization of coconut protein [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2023.
- [14] NAIK A, RAGHAVENDRA SN, RAGHAVARAO KSMS. Production of coconut protein powder from coconut wet processing waste and its characterization [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2012, 167(5): 1290-1302.

- [15] MARTINEZ-PADILLA LP, HERNANDEZ-ROJAS FS, SOSA-HERRERA MG, *et al.* Novel application of ultrasound and microwave-assisted methods for aqueous extraction of coconut oil and proteins [J]. *J Food Sci Technol*, 2022, 59(10): 3857–3866.
- [16] 李艳, 李啸天, 郭文渊, 等. 椰麸组分蛋白的氨基酸组成、结构与乳化性分析[J]. *热带作物学报*, 2022, (3): 43.
LI Y, LI XT, GUO WY, *et al.* Analysis of amino acid composition, structure and emulsion properties of coconut cake [J]. *Chin J Trop Crops*, 2022, (3): 43.
- [17] 孙义周. 超声联合 pH-shift 预加热对椰子蛋白物理化学特性及椰浆稳定性影响研究[D]. 海口: 海南大学, 2023.
SUN YZ. Effect of ultrasound on pH-shift and preheating for physicochemical characteristic of coconut protein and stability of coconut milk [D]. Haikou: Hainan University, 2023.
- [18] 王青松, 王会强, 张燕鹏, 等. 复合乳化剂对椰子油-葵花籽油基植脂奶油乳化稳定性的影响[J/OL]. *中国油脂*: 1–11. [2023-12-12]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230122>
WANG QS, WANG HQ, ZHANG YP, *et al.* Effect of compound emulsifier on emulsification stability of coconut oil-sunflower oil based margarine by compound emulsifiers [J/OL]. *China Oils Fats*: 1–11. [2023-12-12]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230122>
- [19] THAIPHANIT S, ANPRUNG P. Physicochemical and emulsion properties of edible protein concentrate from coconut (*Cocos nucifera* L.) processing by-products and the influence of heat treatment [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 52: 756–765.
- [20] RODSAMRAN P, SOTHORNVIT R. Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut processing [J]. *Food Chem*, 2018, 241: 364–371.
- [21] PATIL U, BENJAKUL S. Coconut milk and coconut oil: Their manufacture associated with protein functionality [J]. *J Food Sci*, 2018, 83(8): 2019–2027.
- [22] BENAÏSSA Y, ADDOU S, DIB W, *et al.* Effect of *in vitro* hydrolysis on coconut milk digestibility [J]. *Rev Fr Allergol*, 2019, 59 (5): 380–384.
- [23] YANG Y, XIANG D. Effect of coconut protein and xanthan gum, soybean polysaccharide and gelatin interactions in oil-water interface [J]. *Molecules*, 2022, 27(9): 2879.
- [24] WONG BT, DAY L, AUGUSTIN MA. Deamidated wheat protein-dextran maillard conjugates: Effect of size and location of polysaccharide conjugated on steric stabilization of emulsions at acidic pH [J]. *Food Hydrocolloid*, 2011, 25(6): 1424–1432.
- [25] SUN Y, CHEN H, CHEN W, *et al.* Effects of ultrasound combined with preheating treatment to improve the thermal stability of coconut milk by modifying the physicochemical properties of coconut protein [J]. *Foods*, 2022, 11(7): 1042.
- [26] 郭帅, 李艳. 椰子活性蛋白与功能肽的研究进展[J]. *食品科技*, 2018, 43(5): 67–71.
GUO S, LI Y. Study progress on the active protein and functional peptides of coconut [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(5): 67–71.
- [27] 彭吟雪. 椰子蛋白及多肽的制备研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2018.
PENG YX. Preparation of protein and peptide from coconut [D]. Wuhan: Wuhan University of Light Industry, 2018.
- [28] RODSAMRAN P, SOTHORNVIT R. Bioactive coconut protein concentrate films incorporated with antioxidant extract of mature coconut water [J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 79: 243–252.
- [29] 陈国东. 椰子粕复合酶解制备抗氧化活性肽及其在化妆品中的应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
CHEN GD. Preparation of antioxidant active peptides by complex enzymatic hydrolysis of defatted coconut meal and its application in cosmetics [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [30] 陆东林. 乳蛋白质的氨基酸组成和氨基酸评分[J]. *新疆畜牧业*, 2014, 5(10): 4–8.
LU DL. Amino acid composition and amino acid score of milk proteins [J]. *Anim Husb Xinjiang*, 2014, 5(10): 4–8.
- [31] 蒋涛, 杨文钰, 刘卫国, 等. 套作大豆贮藏蛋白、氨基酸组成分析及营养评价[J]. *食品科学*, 2012, 33(21): 275–279.
JIANG T, YANG WY, LIU WG, *et al.* Storage protein and amino acid composition analysis and nutrition evaluation of relay cropped soybean [J]. *Food Sci*, 2012, 33(21): 275–279.
- [32] 邹灵, 任丽琨, 李笑梅, 等. 变性蛋白在复性过程中的结构变化研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(7): 2037–2043.
ZOU L, REN LK, LI XM, *et al.* Research progress in structural changes of denatured proteins during renaturation [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(7): 2037–2043.
- [33] 张影全. 挂面干燥过程蛋白质结构变化与产品质量的构效关系[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021.
ZHANG YQ. Structure-activity relationship between protein structure changes and product quality properties during drying process of chinese dried noodles [D]. Xianyang: Northwest Agriculture & Forestry University, 2021.
- [34] MAYNARD SJ, ALMEIDA AM, YOSHIMI Y, *et al.* New charge-bearing amino acid residues that promote β -sheet secondary structure [J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(47): 16683–16688.
- [35] CHEMMAMA, IE, CHAPAGAIN PP, GERSTMAN BS. Pairwise amino acid secondary structural propensities [J]. *Phys Rev*, 2015, 91(4): 2709.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

作者简介



肖容雍, 讲师, 主要研究方向为食品加工技术。

E-mail: 309342451@qq.com



张海华, 研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为食品加工及品质改良, 茶叶加工 & 精深加工与茶食品技术开发。

E-mail: hhzhang@zafu.edu.cn