

多酚与蛋白相互作用对蛋白特性影响研究进展

Interactions between food polyphenols and proteins and their effects on protein characteristics

徐梦婷^{1,2}郝艳宾²齐建勋²丁保森¹陈永浩²XU Meng-ting^{1,2} HAO Yan-bin² QI Jian-xun² DING Bao-miao¹ CHEN Yong-hao²

(1. 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025; 2. 北京市农林科学院林业果树研究所, 北京 100093)

(1. College of Life Sciences, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China; 2. Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100093, China)

摘要:文章综述了蛋白质与多酚化合物相互作用的类型及其对蛋白特性影响的研究进展,并对未来多酚和蛋白共存体系食品的发展进行了展望。

关键词:多酚;蛋白质;相互作用;蛋白特性

Abstract: This paper summarizes the research progress on the types of interactions between proteins and polyphenols and their effects on protein characteristics, and prospects the future foods with the coexistence of polyphenols and proteins.

Keywords: polyphenols; protein; interaction; protein characteristics

蛋白质是人体所需的六大营养素之一,主要存在于畜禽肉、奶类、蛋类、谷物、豆类等食物中。在以蛋白质为主要组分的食品体系中,蛋白质可与碳水化合物、脂肪、无机盐等相互作用,共同决定食品体系的营养特性和感官特性。具有抗氧化活性的酚类物质同样可与蛋白组分形成复合物,使蛋白在结构、功能和营养特性等方面发生变化。

多酚作为植物源食品原料的重要组成成分,广泛存在于核桃、花生、杏仁、栗仁、谷物、豆类中。在很多植源性食品加工中,多酚组分往往需要脱除以减少给产品带来色泽、风味等方面的不利影响。但多酚组分的脱除不仅增加了加工成本,还减少了多酚的营养价值。因此,如何使多酚与蛋白在食品体系中共存是植源性食品加工领

域的研究热点。此外,多酚对蛋白特性的影响也受到不少研究者关注。目前,有关多酚与蛋白相互作用的研究主要集中在多酚生物可及性^[1]、运载体系功能活性^[2]等方面,研究拟在聚焦食品原料体系中多酚与蛋白质之间的相互作用对蛋白质特性的影响,着重阐述多酚与蛋白质相互作用对蛋白结构、加工特性等方面的研究进展,以期对相关食品的研究和开发提供理论依据。

1 多酚与蛋白质相互作用

多酚与蛋白质的相互作用取决于蛋白质和多酚的结构与类型,同时也受温度和pH的影响^[3],多酚和蛋白质的结合机制涉及共价作用、非共价作用、共价-非共价的相互作用。目前用于鉴定蛋白质和多酚相互作用的方法包括荧光猝灭、圆二色谱、傅里叶变换红外光谱、扫描电子显微镜、反相高效液相色谱、电喷雾电离质谱、X射线衍射分析等^[4]。

1.1 非共价作用

非共价相互作用一般是可逆的,并且比共价对应物弱。通常,氢键和疏水相互作用是多酚和蛋白质发生非共价结合时的主要作用力^[5-6],离子键在蛋白质和多酚相互作用中起次要作用,如图1所示。例如,Xu等^[8]研究表明茶黄素通过疏水相互作用与 β -乳球蛋白的Met-107、Asn-90、Asn-88、Leu-87、Ala-86、Lys-69、Lys-60、Val-41和Leu-39残基相互作用。Jiang等^[9]观察到新橙皮苷二氢查耳酮和 α -乳清蛋白的相互作用主要是依靠疏水相互作用。此外,多酚中的羟基有助于多酚与氨基酸残基的潜在氢结合。例如,表儿茶素(epicatechin, EC) B环上的羟基可通过氢键与唾液中富含脯氨酸的蛋白质中的羰基或酰胺基团结合^[10]。儿茶素也可以通过氢键与大豆7S蛋白的Trp328、Gln365、Asn369和Asp334结合^[11]。此外,离子键也会参与多酚和蛋白质之间的相互作用。Carnovale等^[12]发现,钙的存在会影响 α_{SI} -酪蛋白

基金项目:北京市农林科学院科技创新能力建设项目(编号:KJCX20210406)

作者简介:徐梦婷,女,长江大学在读硕士研究生。

通信作者:丁保森(1980—),男,长江大学教授,博士。

E-mail: bmding@126.com

陈永浩(1979—),男,北京市农林科学院林业果树研究所副研究员,博士。E-mail: cyh2010@126.com

收稿日期:2022-07-05 **改回日期:**2022-10-11

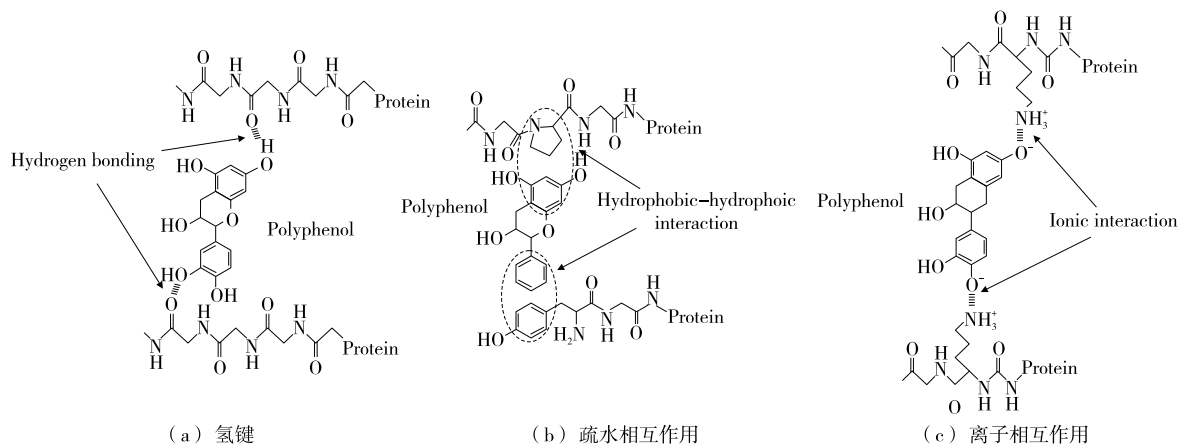
图1 蛋白质和多酚的非共价结合^[7]

Figure 1 Noncovalent conjugation of proteins and polyphenols

和 EGCG 之间的相互作用,随着钙离子的加入,去质子化的 EGCG 可通过离子键与 α_{S1} -酪蛋白上的羧基或磷酸基团形成桥接,导致粒径的大幅增加。

此外,研究^[13]表明,热力学参数可用于确定多酚和蛋白质之间的结合类型。焓和熵大于零($\Delta H > 0, \Delta S > 0$)的变化被用来表示疏水相互作用,焓和熵小于零($\Delta H < 0, \Delta S < 0$)的变化被用来表示范德华力和氢键,而焓小于零、熵大于零($\Delta H < 0, \Delta S > 0$)的变化被用来表示静电相互作用。例如,胶原蛋白和没食子酸自由能变化(ΔG)全部小于 0,表明键合过程是自发的。此外,温度也会影响多酚和蛋白质之间非共价相互作用的类型。据报道^[14],在 EGCG 与 β -乳球蛋白的复合物中,范德华力和氢键作用在 60 °C 以上出现,而静电相互作用在 85 °C 以上出现。

1.2 共价作用

共价键是多酚和蛋白质之间不可逆结合的结果。多酚与蛋白质之间出现共价键主要是因为醌或半醌自由基的形成。多酚在碱性条件下容易被氧化成半醌自由基,随后半醌自由基重新排列成醌。同时由于醌类物质具有亲电性,它们可以与蛋白质分子上的亲核基团反应,从而形成共价键。猪血浆蛋白水解物与氧化酚类化合物之间,通过 C—S 或 C—N 共价键与多肽的巯基或氨基侧链形成二聚体或共价偶联物,诱导了蛋白质的微聚集^[15]。因此,巯基和氨基的减少被认为是蛋白质共价修饰的标志。例如,Liu 等^[16]研究结果表明蛋白质中巯基和游离氨基含量降低且偶联物分子量增加,这证实了乳清蛋白分离物与多酚之间形成了共价键。Yang 等^[17]研究发现南瓜籽分离蛋白和焦没食子酸之间的共价相互作用依赖于蛋白质的游离氨基,由于氧的存在,焦没食子酸相邻的两个酚羟基被氧化形成邻醌,然后邻醌被蛋白质侧链上的氨基还原,导致蛋白质和焦没食子酸之间形成 C—N 共价键。此外,在高温条件下多酚和蛋白质也可能发生共

价结合^[18]。据报道^[19],大蒜素与乳清蛋白 b-乳球蛋白在高温处理条件下发生了共价结合,导致蛋白质二级结构发生变化,以及氨基酸暴露程度增加。

多酚的羟基和芳香环的数量决定了其与蛋白质共价相互作用的程度。据报道^[20],与苯甲酸衍生物相比,肉桂酸衍生物与蛋白质会形成更多的共价键。此外,多酚的浓度也会影响与蛋白质共价相互作用的稳定性。例如,低浓度的氧化 EGCG 由于交联与大豆分离蛋白形成稳定的网络结构,而高浓度的氧化 EGCG 会使蛋白质反应位点饱和从而阻碍交联^[21]。

2 多酚与蛋白质相互作用对蛋白结构的影响

多酚和蛋白质的相互作用会改变天然蛋白质的二级、三级、晶体和微观结构。例如,绿原酸和乳清蛋白分离物非共价结合导致无序结构形成,具体表现为 α -螺旋和 β -折叠含量减少, β -转角和无规卷曲含量增加^[22]。其中氢键是维持 α -螺旋结构的主体力量,因此 α -螺旋构象的变化与蛋白质疏水区域内氢键与多酚结合有关,而 β -折叠含量的减少则与蛋白质疏水性区域展开后蛋白质位点暴露增加有关,特征结构的变化使得蛋白质变得高度无序。但多酚和蛋白质络合也可以诱导蛋白质形成有序结构,例如,樟树籽仁蛋白和酚类化合物通过共价结合导致 β -折叠增加(从 19.81% 增加到 21.39%)和无规卷曲减少(从 26.07% 减少到 24.87%)^[23]。

有研究^[24]表明,与天然蛋白质相比,多酚的浓度、类型、结构和反应 pH 值会导致多酚—蛋白复合物的二级结构发生变化。例如,单宁酸、没食子酸和 EGCG 这些多酚主要通过氢键与肌原纤维蛋白(myofibrillar protein, MP)相互作用,使 MP 的二级结构展开并降低了 MP 的表面疏水性,而槲皮素和槲皮苷主要通过静电相互作用与 MP

发生相互作用,从而保留了 α 螺旋结构,提高了蛋白表面疏水性^[25]。pH 值对多酚和蛋白质之间相互作用影响主要体现在结合位点上,当 $\text{pH} < 7.0$ 时,蛋白质发生解离,导致蛋白质与多酚相互作用的结合位点暴露,因而蛋白质具有更强的亲和力。例如,牛血清白蛋白在 $\text{pH} 4.9$ 下与单宁酸结合的亲和力高于 $\text{pH} 7.8$ 时的^[26]。

荧光光谱法可以广泛用于监测与多酚相互作用后,天然蛋白质三级结构的变化,具体变化表现为蛋白质的最大发射波长发生红移,例如,乳清蛋白分离物的最大荧光发射波长为 335.8 nm ,与酚类化合物结合后最大发射波长发生了红移,并且与对照组相比,酚类化合物和乳清蛋白分离物的络合物的荧光强度明显降低。这些现象表明,多酚和蛋白相互作用诱导了乳清蛋白分离物三级结构的变化^[27]。此外,最大发射波长的红移还可能与芳香族氨基酸残基周围局部环境极性的变化有关。例如,扁豆蛋白与槲皮素、鞣花酸和芦丁的相互作用未出现红移,主要是由于扁豆蛋白的芳香族氨基酸残基极性环境无太大变化^[28]。

与天然蛋白质相比,多酚和蛋白复合物具有更高的结晶度、更大的晶体尺寸以及具有更大的片状结构和更光滑的表面。这也进一步证明多酚和蛋白的相互作用会使有序蛋白质结构发生扭曲。例如,单宁酸和没食子酸二者均通过疏水相互作用改变了酪蛋白的微观结构,分别使酪蛋白形成了致密和松散的结构。综上,多酚和蛋白相互作用会对蛋白结构产生至关重要的影响,从而引起蛋白特性的改变。

3 多酚与蛋白质相互作用对蛋白特性的影响

表 1 例举了一些多酚和蛋白质相互作用的例子及二者相互作用对蛋白特性的影响。

3.1 对溶解性的影响

由表 1 可知,蛋白质与多酚相互作用可以增加或减少蛋白质的溶解性。例如,绿原酸通过非共价相互作用与酪蛋白和乳清分离蛋白相互作用形成复合物,导致酪蛋白和乳清分离蛋白的溶解度显著提高^[29];MP 与槲皮

表 1 蛋白质—多酚相互作用对结构变化和蛋白特性的影响

Table 1 Effects of protein-polyphenol interactions on structural changes and protein characteristics

酚类化合物	蛋白质	结构变化	蛋白特性变化
绿原酸	酪蛋白和乳清分离蛋白	β -折叠含量增加和 α -螺旋含量减少	溶解度、抗氧化活性和消化率提高 ^[29]
槲皮素	肌原纤维蛋白	α -螺旋含量增加,三级结构展开,最大发射波长发生蓝移	溶解度降低,表面疏水性和乳化性提高 ^[25]
茶多酚	肌原纤维蛋白	茶多酚通过以剂量依赖性方式诱导肌原纤维蛋白的聚集来修饰肌原纤维蛋白的氨基酸侧链基团、功能和形态特性	凝胶强度、持水能力降低 ^[30]
儿茶素、没食子酸	墨鱼皮明胶	用漆酶氧化的儿茶素或没食子酸可作为凝胶增强剂改善墨鱼皮明胶的性能	改善胶凝性能 ^[31]
迷迭香酸	肌原纤维蛋白	阻断了 MP 上硫醇基团形成二硫键交联	凝胶强度降低 ^[32]
阿魏酸	亚麻籽分离蛋白	α -螺旋和 β -转角含量增加	表面疏水性、热稳定性和抗氧化活性提高 ^[33]
阿魏酸	牛血清白蛋白	α -螺旋含量从 72.4% 下降至 55.1% ,蛋白质二级结构发生变化	热稳定性提高 ^[34]
绿原酸、EGCG	乳铁蛋白	α -螺旋含量减少, β -转角含量增加,多酚与乳铁蛋白复合物在 $\text{pH} 7.0$ 时表现出较高的 ζ 电位和较低的表面疏水性	热稳定性提高 ^[35]
咖啡酸	β -乳球蛋白	无规卷曲含量减少, β -折叠含量增加	抗氧化活性和乳化性提高 ^[36]
绿原酸、EGCG	β -乳球蛋白	复合物偶联条带显著减少,均表现出比 β -乳球蛋白更低的 IgE 抑制曲线	热稳定性和抗氧化活性提高,致敏性降低 ^[37]
EGCG、槲皮素(QC)、芹菜素(AG)和柚皮素(NC)	乳清蛋白分离物(WPI)	共价相互作用,复合物的结合能力为 $\text{WPI-EGCG} > \text{WPI-QC} > \text{WPI-AG} > \text{WPI-NG}$	提高抗氧化活性、表面疏水性和热稳定性 ^[16]

素的偶联暴露了蛋白质内部的疏水氨基酸以及增加了 α 螺旋含量,在MP中产生更多的疏水位点,导致MP溶解度降低^[25]。类似研究^[30]还有MP在茶多酚存在下溶解度显著降低,主要是由于茶多酚会导致MP聚集,使最初可溶性MP形成更大的不溶性MP聚集体。因此,单个肌原纤维蛋白分子和多酚之间的相互作用会导致蛋白质的溶解性降低。

3.2 对凝胶性的影响

由表1可知,多酚和蛋白质的相互作用会引起凝胶性能发生变化。例如,交联明胶—多酚显著增强了凝胶强度,并且使表面更紧凑^[38];酶促反应制备的墨鱼皮明胶和没食子酸的偶联物提高了墨鱼皮明胶的凝胶强度^[31]。此外,据报道^[39]茶多酚也能促进 β -乳球蛋白的变形和聚集性,使 β -乳球蛋白凝胶的相对黏弹性降低,并通过较低的胶凝温度和较短的胶凝时间证明了凝胶化的增强。综上,不同类型的蛋白质和多酚相互作用可改善凝胶性能。

然而,Tang等^[32]发现,通过自由基移植法制备的迷迭香酸—蛋白质复合物对MP凝胶化产生不利影响。迷迭香酸—半胱氨酸相互作用阻断了MP上硫醇基团形成二硫键交联,并通过破坏蛋白质凝胶化削弱凝胶强度。Jia等^[40]研究发现,添加儿茶素后,MP的凝胶强度与对照组相比明显降低,且添加的儿茶素浓度越高,MP凝胶强度下降越显著。

3.3 对热稳定性的影响

由表1可知,多酚和蛋白质的相互作用会引起产物的热稳定性发生变化。例如,糖化MP-EGCG偶联物的肌球蛋白和肌动蛋白表现出高的热变形温度,分别为67.52、72.94℃,明显高于对照MP的值,表明EGCG可以提高糖化MP的热稳定性^[41];亚麻籽分离蛋白与酚类化合物的共价结合显著提高了亚麻籽分离蛋白的变性温度,表明复合物热稳定性增加^[33]。因此,多酚和蛋白质的相互作用对热稳定性有积极影响。多酚与蛋白质相互作用也会导致熔变化。例如,阿魏酸(ferulic acid,FA)与牛血清蛋白(bovine serum albumin,BSA)相互作用后熔点温度升高,表明BSA与FA络合时牛血清蛋白的热稳定性增加^[34]。另外,乳铁蛋白与多酚(绿原酸和EGCG)的结合也可以抑制乳铁蛋白在中性pH下的热聚集^[35]。因此,动物蛋白和多酚相互作用是增强经过热处理的蛋白质稳定性的潜在技术。

3.4 对乳化性的影响

控制乳化性能的关键因素是蛋白质的表面疏水性,较高的表面疏水性可以增强乳化性和稳定性。多酚和蛋白质的偶联可以增加蛋白质的表面疏水性,从而增强天然蛋白质的乳化性。例如,Abd El-Maksoud等^[36]将咖啡酸与 β -乳球蛋白在碱性条件下共价偶联,所得的复合物显示出比天然 β -乳球蛋白更好的乳化性能;Chen等^[15]研

究表明当氧化绿原酸和氧化单宁酸加入猪血浆蛋白水解物中时,水解物的乳化活性指数和乳液稳定性指数显著增加,可能原因是猪血浆蛋白水解物与氧化绿原酸的复合物可以迅速吸附在界面上,并在油滴周围形成更厚的界面膜,从而增强乳化性能。然而,多酚和蛋白质相互作用也会对乳液乳化性产生负面影响,但对乳液稳定性产生积极影响。例如,Chen等^[42]观察到卵清蛋白和单宁酸的相互作用对蛋白质的疏水基团产生了掩蔽作用,从而降低了卵清蛋白在其等电点附近的界面活性,并通过延缓乳液在卵清蛋白等电点的乳化作用,提高了乳液的稳定性。

3.5 对致敏性的影响

多酚和蛋白质的相互作用可降低蛋白致敏性。食品过敏反应通常由免疫球蛋白E(Immunoglobulin E,IgE)介导引起^[43],而蛋白质—多酚复合物可通过改变蛋白质结构,允许消化酶破坏IgE结合表位,使抗原表位在消化过程中不被含有过敏原特异性IgE的肥大细胞和嗜碱性粒细胞识别^[44]。例如,Wu等^[37]研究发现 β -乳球蛋白与EGCG和绿原酸结合后 β -乳球蛋白的致敏能力降低;Plundrich等^[45]用蔓越莓或蓝莓多酚修饰花生蛋白,发现IgE与花生蛋白的结合降低了38%。因此,让多酚与食物中蛋白质相互作用可能是生产低过敏性食物的新思路。

3.6 对抗氧化活性的影响

诸多研究表明,多酚和蛋白质相互作用形成的复合物比天然蛋白质表现出更好的抗氧化活性。例如,Fan等^[46]采用自由基诱导的嫁接法制备了BSA和咖啡酸(CA)复合物,BSA-CA复合物的DPPH自由基清除活性显著高于BSA,表明BSA-CA复合物抗氧化活性显著提高;Jing等^[47]研究发现通过使用碱性/自由基方法与茶多酚共价结合,蛋清蛋白的抗氧化活性显著提高;乳清蛋白分离物(whey protein isolate,WPI)和4种多酚(EGCG、QC、AG和NC)的偶联物与未修饰的WPI相比,WPI-EGCG、WPI-QC、WPI-AG和WPI-NG的DPPH自由基清除活性分别显著提高了42.26%、34.20%、26.56%、34.41%,即所有偶联物都表现出更高的抗氧化活性^[16]。多酚和蛋白质复合物的溶解度变化会影响蛋白抗氧化活性。例如,Pham等^[48]报道亚麻籽蛋白分离物(FPI)与酚类化合物(亚麻籽多酚和羟基酯醇)络合显著改变了FPI的溶解度,并且与FPI稳定乳液相比,酚醛配合物乳液具有更高的抗氧化稳定性。因此,蛋白质的抗氧化活性可以通过与多酚形成复合物来增强,从而改善食品的氧化稳定性。

4 结语

多酚与蛋白之间的相互作用可以是非共价的,比如

疏水相互作用或氢键等;也可以是在多酚转变成醌或半醌自由基后与蛋白质进行的共价结合。二者之间的相互作用受蛋白质和酚类化合物类型、温度和 pH 的共同影响,最终引起蛋白质特性的改变。未来在多酚与蛋白相互作用的机理研究方面,进一步明确不同种类的多酚及混合多酚与特定蛋白组分之间的相互作用机制是该领域的重要研究方向,在应用层面,通过多酚与蛋白相互作用研究,调控食品加工和贮存过程中蛋白的特性,为开发多酚与蛋白等多组分共存的食物奠定基础,更好地发挥多酚和蛋白两种组分的有益作用,同时减少在原料处理阶段多酚与蛋白的分离,简化操作单元设置,降低生产成本,这也将是未来发展方向之一。

参考文献

- [1] 吴雅茹. 加工对大豆蛋白-水果多酚体系抗氧化性和多酚生物可及性的影响及相互作用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021: 3-4.
WU Y R. Effect of processing on the antioxidant capacity and bio-accessibility of soy protein-fruit polyphenol systems and their interactions[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021: 3-4.
- [2] 肖志刚, 李妍然, 江睿生, 等. 蛋白质与多酚的相互作用在食品运载体系中的研究进展[J/OL]. 中国粮油学报. (2022-06-01) [2022-07-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20220609.2245.033.html>.
XIAO Z G, LI Y R, JIANG R S, et al. Review on the interaction of proteins and polyphenols in the food delivery systems [J/OL]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association. (2022-06-01) [2022-07-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20220609.2245.033.html>.
- [3] ADRAR N S, MADANI K, ADRAR S. Impact of the inhibition of proteins activities and the chemical aspect of polyphenols-proteins interactions[J]. Pharma Nutrition, 2019, 7: 100142.
- [4] CZUBINSKI J, DWIECKI K. A review of methods used for investigation of protein-phenolic compound interactions[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2017, 52(3): 573-585.
- [5] CAO Y Y, XIONG Y L. Interaction of whey proteins with phenolic derivatives under neutral and acidic pH conditions[J]. Journal of Food Science, 2017, 82(2): 409-419.
- [6] YAN S, XIE F, ZHANG S, et al. Effects of soybean protein isolate-polyphenol conjugate formation on the protein structure and emulsifying properties: Protein-polyphenol emulsification performance in the presence of chitosan[J]. Colloids and Surfaces A: Physico-chemical and Engineering Aspects, 2021, 609: 125641.
- [7] QUAN T H, BENJAKUL S, SAE-LEAW T, et al. Protein-polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 91: 507-517.
- [8] XU J H, HAO M H, SUN Q F, et al. Comparative studies of interaction of β -lactoglobulin with three polyphenols [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136: 804-812.
- [9] JIANG Z M, LI T Q, MA L, et al. Comparison of interaction between three similar chalconoids and α -lactalbumin: Impact on structure and functionality of α -lactalbumin[J]. Food Research International, 2020, 131: 109006.
- [10] SOARES S, SANTOS SILVA M, GARCIA-ESTEVEZ I, et al. Effect of malvidin-3-glucoside and epicatechin interaction on their ability to interact with salivary proline-rich proteins [J]. Food Chemistry, 2019, 276: 33-42.
- [11] CHEN G, WANG S T, FENG B, et al. Interaction between soybean protein and tea polyphenols under high pressure [J]. Food Chemistry, 2019, 277: 632-638.
- [12] CARNOVALE V, HUPPERTZ T, BRITTEN M, et al. Impact of calcium on the interactions between epigallocatechin-3-gallate and α _{S1}-casein[J]. International Dairy Journal, 2020, 102: 104608.
- [13] ZHAO Q, YU X J, ZHOU C S, et al. Effects of collagen and casein with phenolic compounds interactions on protein in vitro digestion and antioxidation[J]. LWT, 2020, 124: 109192.
- [14] QIE X J, CHEN Y, QUAN W, et al. Analysis of β -lactoglobulin-epigallocatechin gallate interactions: the antioxidant capacity and effects of polyphenols under different heating conditions in polyphenolic-protein interactions[J]. Food & Function, 2020, 11(5): 3 867-3 878.
- [15] CHEN Y C, JIANG S, CHEN Q, et al. Antioxidant activities and emulsifying properties of porcine plasma protein hydrolysates modified by oxidized tannic acid and oxidized chlorogenic acid[J]. Process Biochemistry, 2019, 79: 105-113.
- [16] LIU X G, SONG Q B, LI X, et al. Effects of different dietary polyphenols on conformational changes and functional properties of protein-polyphenol covalent complexes[J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130071.
- [17] YANG C, WANG B Y, WANG J M, et al. Effect of pyrogalllic acid (1,2,3-benzenetriol) polyphenol-protein covalent conjugation reaction degree on structure and antioxidant properties of pumpkin (*Cucurbita* sp.) seed protein isolate[J]. LWT, 2019, 109: 443-449.
- [18] 鄢雪娇, 程亚, 曾茂茂, 等. 食品多酚与蛋白相互作用及其对多酚生物可利用性影响的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 232-237.
QIE X J, CHENG Y, ZENG M M, et al. Interactions between food polyphenols and proteins and their effects on the bioavailability of polyphenols[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(8): 232-237.
- [19] WILDE S C, KEPPLER J K, PALANI K, et al. β -Lactoglobulin as nanotransporter for allicin: Sensory properties and applicability in food[J]. Food Chemistry, 2016, 199: 667-674.
- [20] CHEN J H, ZHANG X, FU M Y, et al. Ultrasound-assisted covalent reaction of myofibrillar protein: The improvement of functional properties and its potential mechanism[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 76: 105652.

- [21] ZHOU S D, LIN Y F, XU X, et al. Effect of non-covalent and covalent complexation of (–)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and in vitro digestion characteristics[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125718.
- [22] MENG Y Y, LI C. Conformational changes and functional properties of whey protein isolate-polyphenol complexes formed by non-covalent interaction[J]. *Food Chemistry*, 2021, 364: 129622.
- [23] YAN X H, LIANG S B, PENG T, et al. Influence of phenolic compounds on physicochemical and functional properties of protein isolate from *Cinnamomum camphora* seed kernel[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105612.
- [24] SUN X, SARTESHNIZI R A, UDENIGWE C C. Recent advances in protein-polyphenol interactions focusing on structural properties related to antioxidant activities [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2022, 45: 100840.
- [25] XU Q D, YU Z L, ZENG W C. Structural and functional modifications of myofibrillar protein by natural phenolic compounds and their application in pork meatball[J]. *Food Research International*, 2021, 148: 110593.
- [26] LE BOURVELLEC C, RENARD C M G C. Interactions between polyphenols and macromolecules: Quantification methods and mechanisms[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012, 52(3): 213-248.
- [27] MENG Y Y, LI C. Conformational changes and functional properties of whey protein isolate-polyphenol complexes formed by non-covalent interaction[J]. *Food Chemistry*, 2021, 364: 129622.
- [28] PAROLIA S, MALEY J, SAMMYNAIKEN R, et al. Structure-Functionality of lentil protein-polyphenol conjugates [J]. *Food Chemistry*, 2022, 367: 130603.
- [29] JIANG J, ZHANG Z, ZHAO J, et al. The effect of non-covalent interaction of chlorogenic acid with whey protein and casein on physicochemical and radical-scavenging activity of in vitro protein digests[J]. *Food Chemistry*, 2018, 268: 334-341.
- [30] HU Y P, GAO Y F, SOLANGI I, et al. Effects of tea polyphenols on the conformational, functional, and morphological characteristics of beef myofibrillar proteins[J]. *LWT*, 2022, 154: 112596.
- [31] TEMDEE W, BENJAKUL S. Effect of phenolic compounds and bark/wood extracts oxidised by laccase on properties of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin gel[J]. *International Food Research Journal*, 2015, 22(1): 246-253.
- [32] TANG C B, ZHANG W G, ZOU Y F, et al. Influence of RosA-protein adducts formation on myofibrillar protein gelation properties under oxidative stress[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 67: 197-205.
- [33] PHAM L B, WANG B, ZISU B, et al. Covalent modification of flaxseed protein isolate by phenolic compounds and the structure and functional properties of the adducts[J]. *Food Chemistry*, 2019, 293: 463-471.
- [34] OJHA H, MISHRA K, HASSAN M I, et al. Spectroscopic and isothermal titration calorimetry studies of binding interaction of ferulic acid with bovine serum albumin[J]. *Thermochimica Acta*, 2012, 548: 56-64.
- [35] LIU F G, WANG D, MA C C, et al. Conjugation of polyphenols prevents lactoferrin from thermal aggregation at neutral pH[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 58: 49-59.
- [36] ABD EL-MAKSOUUD A A, ABD EL-GHANY I H, EL-BELTAGI H S, et al. Adding functionality to milk-based protein: Preparation, and physico-chemical characterization of β -lactoglobulin-phenolic conjugates[J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 281-289.
- [37] WU X L, LU Y Q, XU H X, et al. Reducing the allergenic capacity of β -lactoglobulin by covalent conjugation with dietary polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2018, 256: 427-434.
- [38] ZHAO Y Y, SUN Z T. Effects of gelatin-polyphenol and gelatin-gelatin cross-linking on the structure of gelatin hydrogels[J]. *International Journal of Food Properties*, 2018, 20: 2 822-2 832.
- [39] VON STASZEWSKI M, JARA F L, RUIZ A, et al. Nanocomplex formation between beta-lactoglobulin or caseinomacropeptide and green tea polyphenols: Impact on protein gelation and polyphenols antiproliferative activity[J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4 (4): 800-809.
- [40] JIA N, WANG L T, SHAO J H, et al. Changes in the structural and gel properties of pork myofibrillar protein induced by catechin modification[J]. *Meat Science*, 2017, 127: 45-50.
- [41] XU Y J, HAN M Y, HUANG M Y, et al. Enhanced heat stability and antioxidant activity of myofibrillar protein-dextran conjugate by the covalent adduction of polyphenols [J]. *Food Chemistry*, 2021, 352: 129376.
- [42] CHEN Y, HU J, YI X Z, et al. Interactions and emulsifying properties of ovalbumin with tannic acid[J]. *LWT*, 2018, 95: 282-288.
- [43] PAN T G, WU Y N, HE S D, et al. Food allergenic protein conjugation with plant polyphenols for allergenicity reduction [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2022, 43: 36-42.
- [44] FOEGEDING E A, PLUNDRICH N, SCHNEIDER M, et al. Reprint of 'Protein-polyphenol particles for delivering structural and health functionality'[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 78: 15-25.
- [45] PLUNDRICH N J, BANSODE R R, FOEGEDING E A, et al. Protein-bound Vaccinium fruit polyphenols decrease IgE binding to peanut allergens and RBL-2H3 mast cell degranulation in vitro[J]. *Food & Function*, 2017, 8(4): 1 611-1 621.
- [46] FAN Y, LIU Y, GAO L, et al. Improved chemical stability and cellular antioxidant activity of resveratrol in zein nanoparticle with bovine serum albumin-cafeic acid conjugate[J]. *Food Chemistry*, 2018, 261: 283-291.
- [47] JING H, SUN J, MU Y Y, et al. Sonochemical effects on the structure and antioxidant activity of egg white protein-tea polyphenol conjugates[J]. *Food & Function*, 2020, 11(8): 7 084-7 094.
- [48] PHAM L B, WANG B, ZISU B, et al. Complexation between flaxseed protein isolate and phenolic compounds: Effects on interfacial, emulsifying and antioxidant properties of emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 94: 20-29.