

糖基化结合单宁酸改性对熔球态蛋清蛋白乳化特性的影响

万俊¹ 张孝芹¹ 邓博文² 艾民珉² 谢哲权³

(1. 广东农工商职业技术学院, 广东 广州 510507; 2. 华南农业大学, 广东 广州 510642;
3. 汕头市农产品质量安全中心, 广东 汕头 515000)

摘要: [目的] 开发基于熔球态蛋清蛋白 (molten-globule state egg white protein, MGEWP) 稳定乳液的修饰方法。 [方法] 采用 pH 诱导法使蛋清蛋白部分变性生成 MGEWP, 并研究 D-木糖与单宁酸改性对 MGEWP 乳化特性的协同增强作用。 [结果] 随着单宁酸浓度的增加, D-木糖糖基化修饰的 MGEWP (X-MGEWP) 浊度与褐变程度显著增加 ($P < 0.05$), 且单宁酸导致 X-MGEWP 发生解折叠行为, 暴露更多游离巯基与活性基团, 并显著提高 X-MGEWP 的分子柔度、表观黏度、弹性模量和黏性模量 ($P < 0.05$)。在极端 pH 处理下, MGEWP 的有效反应基团钝化, 与 D-木糖的美拉德反应被抑制, 导致 X-MGEWP 的乳化特性与未经糖基化处理的 MGEWP 无显著差异 ($P > 0.05$), 而添加单宁酸可显著增强 X-MGEWP 的乳化活性 ($P < 0.05$), 且与单宁酸表现出剂量依赖性。 [结论] D-木糖/单宁酸的协同改性是提高 MGEWP 乳化性的潜在方法之一。

关键词: 蛋清蛋白; 单宁酸; 糖基化; 乳化特性

Effects of glycosylation combined with tannic acid modification on the emulsification properties of molten globule egg white protein

WAN Jun¹ ZHANG Xiaoqin¹ DENG Bowen² AI Minmin² XIE Zhequan³

(1. Guangdong Agricultural and Industrial Vocational Technical College, Guangzhou, Guangdong 510507, China;
2. South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 3. Shantou City Agricultural Product Quality and Safety Center, Shantou, Guangdong 515000, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to develop a modification method to stabilize emulsions using molten-globule state egg white protein (MGEWP). [Methods] MGEWP was prepared through partial denaturation of egg white protein via pH induction. The synergistic effects of D-xylose and tannic acid on the emulsifying properties of MGEWP were analyzed. [Results] Increasing tannic acid concentration significantly elevated the turbidity and browning degree of D-xylose glycosylated MGEWP (X-MGEWP) ($P < 0.05$). Tannic acid facilitated the unfolding of X-MGEWP, exposing free sulfhydryl and active groups, which enhanced molecular flexibility, apparent viscosity, storage modulus and loss modulus ($P < 0.05$). However, under extreme pH value treatment, the active groups of MGEWP were passivated, inhibiting the Maillard reaction with D-xylose. As a result, there was no significant difference in emulsification properties between glycosylated X-MGEWP and untreated MGEWP ($P > 0.05$). The addition of tannic acid enhanced the emulsifying activity of X-MGEWP obviously ($P < 0.05$), and it was dose-dependent with tannic acid concentration. [Conclusion] The synergistic modification of MGEWP with D-xylose/tannic acid represents a promising method for enhancing the emulsifying properties of MGEWP, offering potential applications in emulsion stabilization.

Keywords: egg white protein; tannic acid; glycosylation; emulsification properties

基金项目: 广东省农村科技特派员科技助力百县千镇万村高质量发展项目基金(编号:KTP20240013); 广东省基础与应用基础研究基金省市联合基金(编号:2023A1515110947); 广州市基础研究计划与应用基础研究基金(编号:SL2022A04J01101)

通信作者: 谢哲权(1986—), 男, 汕头市农产品质量安全中心高级工程师, 学士。E-mail: stncpaqzx@126.com

收稿日期: 2024-08-19 **改回日期:** 2024-10-24

鸡蛋中丰富的蛋白质含量赋予其优异的加工性质,如起泡性、凝胶性和乳化性等^[1-2],同时这类加工性质可以通过pH、温度、压力及化学反应或与其他分子的相互作用等进行调控。蛋白质是由多肽链卷曲和折叠形成的紧凑结构,蛋白质的折叠状态对蛋白质性质的影响是现阶段食品领域研究的热点之一。天然球蛋白经过极端pH处理后,氢键作用增强,三级结构发生改变,然后协同疏水残基和二硫键等作用逐渐形成熔球态(molten-globule state, MG)^[3]。MG蛋白质属于部分解折叠状态,比自然状态更伸展,并且具有更大的疏水表面积,因此具备更优越的加工性质。Wang等^[4]通过极端pH环境诱导大豆蛋白构型向MG蛋白转变,发现MG大豆蛋白起泡性与乳化特性相比天然大豆蛋白得到了显著提升。

糖基化反应是涉及美拉德反应的常见蛋白质化学修饰方法之一,该反应是蛋白质的游离氨基和还原糖的羰基之间的共价反应。蛋白质的糖基化修饰可改变蛋白质的结构、电荷分布和疏水性等,进一步改变蛋白质的凝胶性和乳化性等功能性质^[5]。Sun等^[6]利用美拉德反应成功向大豆分离蛋白接入羧甲基纤维素并表征其凝胶性能,当增加美拉德反应时间时,大豆分离蛋白—羧甲基纤维素共轭凝胶的凝胶强度和持水能力显著增加,且微观结构更致密。Hou等^[7]研究了糖基化修饰对乳清蛋白乳化性能的影响,结果表明糖基化可以提高乳液的稳定性,使其具有更小的液滴尺寸、更高的Zeta电位和更稳定的性能。

多酚是含有大量羟基和羧基结构的独特酚类化合物,可以与蛋白质结合形成复合物,改变蛋白质的结构和功能特性。其中单宁酸(tannic acid, TA)是一种重要的天然物质,主要存在于许多植物中,如茶、葡萄和水果。TA的邻苯二酚环上有4个酚羟基,具有良好的生物活性,如抗氧化、抗自由基和抗炎等^[8]。Wei等^[9]研究发现,在超声辅助下TA可与肌原纤维蛋白发生非共价结合并赋予肌原纤维蛋白更优异的乳化性、溶解度和抗氧化性等。

目前,对蛋白质改性的研究主要集中于单一糖基化和活性物质的复合反应对蛋白质结构的影响及其功能的表征。现阶段仍缺乏对MG蛋白的化学修饰及其功能特性的研究表征。研究拟采用极端pH诱导法制备MG蛋清蛋白(molten-globule state egg white protein, MGEWP),并依次添加D-木糖、TA进行糖基化修饰和改性,研究糖基化与TA改性对MGEWP乳化特性的影响,旨在探索通过改性MGEWP以增强其乳化特性的新策略。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蛋清粉:陕西赛恩生物科技有限公司;

大豆油:市售;

D-木糖:上海原野生物制品有限公司;

TA:分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

胰蛋白酶:活性>2 500 U/mg,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

三羟甲基氨基甲烷(Tris)、三氯乙酸:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;

甘氨酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、尿素、十二烷基硫酸钠(SDS)、2-硝基苯甲酸(DTNB):分析纯,西格玛化学品公司;

其余试剂:分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:UV-2600型,日本岛津仪器有限公司;

流变仪:MCR301型,奥地利安东帕股份有限公司;

高速分散机:T25 Easy Clean Digial型,艾卡(广州)仪器设备有限公司;

偏光显微镜:DM1000型,德国莱卡仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 MGEWP制备 取蛋清粉与超纯水制备质量分数5%蛋清蛋白溶液。使用1 mol/L HCl溶液边搅拌边调整蛋清蛋白溶液pH至1.5,确保混合完全。混合30 min后,使用1 mol/L NaOH溶液边搅拌边调整蛋清溶液pH至12.0,混合30 min。将蛋清蛋白溶液pH调整至7.0,取样待测。

1.3.2 X-MGEWP制备 取1.3.1制备的MGEWP,以 $m_{D-木糖}:m_{MGEWP}=1:2$ 的比例添加D-木糖进行美拉德反应改性(将2.5 g D-木糖添加到100 g蛋白质溶液中),并将混合物置于水浴锅均匀搅拌(60 °C加热3 h)以制备D-木糖糖基化修饰的MGEWP(X-MGEWP),取样待测。

1.3.3 TA改性X-MGEWP制备 取1.3.2制备的X-MGEWP溶液,分别添加TA至终质量分数为0.5, 1.0, 2.0 mg/g,磁力搅拌1 h至溶液均匀混合,取样待测。

1.3.4 褐变程度与浊度测定 调整待测样液蛋白质质量浓度为1.0 mg/mL,使用紫外可见分光光度计分别检测样液在420, 500 nm下的吸光度值,以 $A_{420\text{ nm}}$ 和 $A_{500\text{ nm}}$ 值评估样液的褐变程度与浊度。

1.3.5 紫外光谱扫描 调整待测样液蛋白质质量浓度为1.0 mg/mL,使用紫外可见分光光度计在200~400 nm范围内扫描样品,中等扫描速度和1.0 nm的采样间隔。在光谱扫描期间,测量模式设置为吸光度,狭缝宽度为1.0 nm,积分时间为0.1 s。使用直接检测单元将光源开关波长设置为323.0 nm,并采用标准S/R转换。

1.3.6 分子柔度测定 将 250 μL 1.0 mg/mL 胰蛋白酶溶液(溶于 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液中)与 4 mL 质量浓度为 1.0 mg/mL 的待测样液混合,并立即在 38 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴反应 15 min,反应完成后用质量分数 5% 的三氯乙酸终止反应。5 000 r/min 离心 15 min,取上清液并测量其在 280 nm 处的吸光度,以 $A_{280\text{ nm}}$ 值反映蛋白质的分子柔度。

1.3.7 游离巯基测定 将 0.2 mL 待测溶液与 2.8 mL 的 Tris-甘氨酸缓冲液(pH 8.0,含 0.089 mol/L Tris, 0.09 mol/L 甘氨酸,0.004 mol/L EDTA 和 8 mol/L 尿素)和 0.02 mL 的 Ellman 试剂(质量浓度为 4.0 mg/mL 的 2-硝基苯甲酸溶于 Tris-甘氨酸缓冲液中)混匀。将混合物溶液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min 后测量其在 412 nm 处吸光度。按式(1)计算游离巯基含量。

$$C_f = 73.53 \times A \times \frac{D}{C}, \quad (1)$$

式中:

C_f ——游离巯基含量, $\mu\text{mol/g}$ 蛋白;

A ——混合物溶液在 412 nm 处吸光度;

D ——稀释倍数;

C ——蛋白质质量浓度,mg/mL;

73.53——摩尔消光系数,L/(mol \cdot cm)。

1.3.8 流变性质测定

(1) 表观黏度:将待测样液滴入流变仪平台上,在 0.1~100 s^{-1} 范围内进行黏度扫描,流变探头选用 CP-50。

(2) 频率扫描:将待测样液滴入流变仪平台上,流变仪设置 1% 应变从 1~100 rad/s 进行频率扫描,流变探头选用 CP-50。

1.3.9 乳化活性与乳化稳定性测定 取 15 mL 0.001 g/mL 待测样液与 5 mL 大豆油混合,使用高速均质机在 10 000 r/min 下均质制备乳液。均质结束后取 100 μL 混合物,加入 5 mL 0.1% SDS 溶液均匀混合,分别于室温放置 0, 30 min 后测量混合溶液在 500 nm 处的吸光度,以 0.1% SDS 溶液作为空白对照。分别按式(2)和式(3)计算乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)。

$$E = \frac{4.606}{c \times (1 - \varphi) \times 104} \times A_{500\text{ nm}} \times D, \quad (2)$$

$$S = 100\% \times \frac{A_{30\text{ min}}}{A_{0\text{ min}}}, \quad (3)$$

式中:

E ——乳化活性指数, m^2/g ;

S ——乳化稳定性指数,%;

$A_{500\text{ nm}}$ ——乳液在 500 nm 处吸光度;

φ ——油相体积分数,0.2;

C ——蛋白质质量浓度,g/mL;

D ——稀释因子;

$A_{0\text{ min}}、A_{30\text{ min}}$ ——0, 30 min 时乳液在 500 nm 处吸光度。

1.3.10 乳液微观结构 使用偏光显微镜(PLM)来表征乳液形态学特征。将乳液稀释 5 倍后取 10 μL 液滴滴入载玻片上并盖上盖玻片。首先,调整偏振器和分析仪确保其处于平行偏振位置,随后观察乳液的形态特征。其次,调整偏振器和分析仪确保其处于互相垂直状态,视场调整至完全黑暗,观察乳液的形态特征。

1.4 数据处理

所有试验均进行 3 次平行重复测定,结果以平均值士标准误差表示。采用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行显著性差异分析,采用 Origin 2019b 软件绘图。

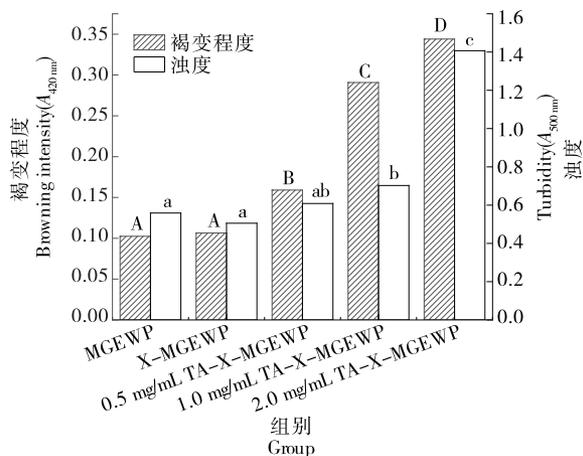
2 结果与分析

2.1 褐变程度与浊度

由图 1 可知,MGEWP 与 X-MGEWP 的浊度与褐变程度均无显著差异($P > 0.05$),随着 TA 添加量的增加,褐变程度与浊度均呈显著增长的趋势($P < 0.05$)。糖基化是蛋白质上的游离氨基与还原单糖的羰基之间的共价美拉德反应,可以生成棕色或黑色物质,导致体系发生褐变,浊度升高。而美拉德反应受反应温度、化学空间位阻以及蛋白质反应活性等因素的影响^[10]。Zhang 等^[11]表明,蛋清蛋白经过极端 pH 反复处理后结构被破坏,氨基酸侧链基团的反应活性降低,降低了蛋清蛋白与消化酶的反应活性。因此,试验过程中 MGEWP 与 X-MGEWP 的褐变程度与浊度无显著变化,这可能归因于 MGEWP 中与美拉德反应相关的基团反应活性降低。另一方面,在 X-MGEWP 的基础上,添加 TA 使体系褐变程度显著上升($P < 0.05$),原因可能是 TA 中大量的酚羟基与蛋白质形成氢键,这种非共价结合会引起蛋白质的解折叠行为^[12],暴露更多蛋白质内部活性基团,促进 X-MGEWP 与木糖的美拉德反应,导致褐变程度的增加;另一方面,TA 的加入可能导致 X-MGEWP 体系产生蛋白质聚集体。Ren 等^[13]通过添加黑豆皮提取物多酚以研究多酚提取物对大豆分离蛋白消化性的影响,发现随着多酚含量的增加,蛋白质系统内形成了粒径较大的化合物,提高了溶液的浊度。

2.2 紫外光谱

芳香族氨基酸如色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和苯丙氨酸(Phe)通常在 200~400 nm 处具有较强的紫外吸收,通过观察其紫外吸收的变化,可以深入分析蛋白质三级结构的变化^[14]。由图 2 可知,所有处理组在 280 nm 附近均存在最大吸收峰。与此同时,X-MGEWP 与 MGEWP 紫外吸收峰强度相近,各处理组在添加 TA 后在 280 nm 处紫外吸



不同处理组之间字母不同表示显著差异 ($P < 0.05$)

图1 TA-X-MGEWP复合物的褐变程度和浊度

Figure 1 Browning degree and turbidity of TA-X-MGEWP complex

收以剂量依赖形式呈上升趋势,且TA添加量为2.0 mg/mL时达到最高。Lu等^[15]研究发现,糖基化与加热可以使得蛋白质三级结构松弛,暴露出更多疏水基团,导致X-MGEWP体系的紫外吸收上升。试验中,经D-木糖糖基化处理的X-MGEWP与MGEWP在280 nm附近无显著差异,证明MGEWP糖基化被抑制,这与褐变程度分析结果一致。另一方面,在基于X-MGEWP上添加TA能明显提高X-MGEWP体系紫外吸光度,原因可能是TA分子中的芳香环与X-MGEWP氨基酸残基(尤其是蛋白结构中的Tyr、Trp和Phe)之间产生的 $\pi-\pi$ 共轭效应,提高了分子内电子跃迁吸收的紫外吸收光强度^[16]。Ren等^[13]研究发现,TA的加入可以改变蛋白质氨基酸残基的活性,使蛋白质的构象得到延展,引起蛋白质的解折叠行为,从而改变蛋白质的紫外吸收特性。

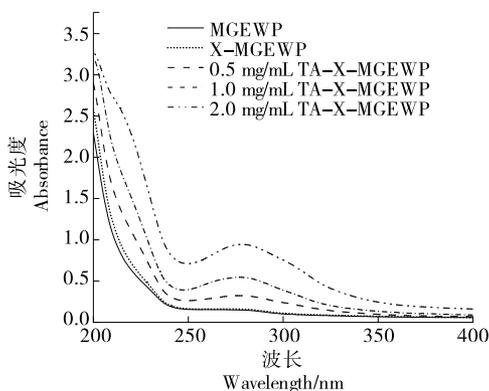
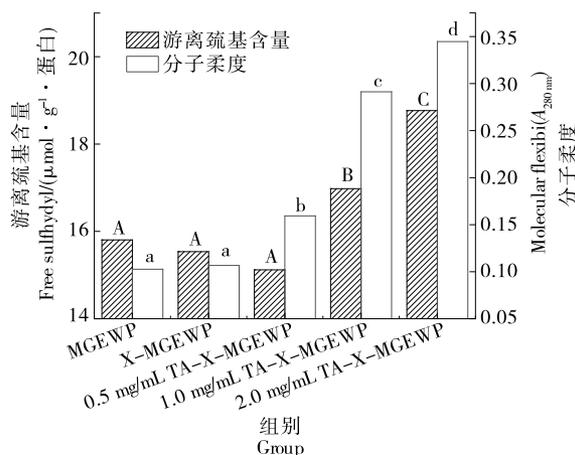


图2 TA-X-MGEWP复合物紫外光谱图(200~400 nm)

Figure 2 Ultraviolet spectrogram of TA-X-MGEWP complex at 200~400 nm

2.3 分子柔度和游离巯基含量

蛋白质结构的柔性与其蛋白质内游离巯基含量紧密相关,同时也是蛋白质功能性质的关键影响因素之一^[17]。由图3可知,MGEWP与X-MGEWP的游离巯基含量与分子柔度无显著差异($P > 0.05$),而添加TA后,游离巯基含量与分子柔度均显著增加($P < 0.05$)。分子柔度受蛋白质分子间氢键、疏水键、静电相互作用和共价键等因素共同影响。根据Wei等^[18]的研究,蛋清蛋白的糖基化和加热处理可以导致部分化学键断裂,破坏其刚性结构,从而使蛋白质的空间结构变得更加松弛,增加分子柔度。试验中,糖基化处理对MGEWP的分子柔度和游离巯基含量没有显著影响($P > 0.05$)。当TA质量浓度 > 1.0 mg/mL时,游离巯基含量显著增加($P < 0.05$)。这可能是由于TA的加入促进了蛋白质的解折叠,暴露了原本隐藏的游离巯基。同时,TA引起的解折叠和结构松弛化进一步破坏了蛋白质的刚性结构,扩大了柔性区域,从而提高了分子柔度。



不同处理组之间字母不同表示显著差异 ($P < 0.05$)

图3 TA-X-MGEWP复合物分子柔度和游离巯基含量

Figure 3 Molecular flexibility and free sulfhydryl groups in TA-X-MGEWP complex

2.4 流变行为

蛋白质溶液的表现黏度受系统内部分子间相互作用、分子结构、蛋白质浓度等因素影响。由图4可知,随着剪切速率的增加,溶液表现黏度下降,表现出剪切稀化行为,表明MGEWP属于假塑性流体^[19]。与MGEWP相比,X-MGEWP表现黏度显著降低,原因可能是木糖的加入破坏了蛋白质分子链间的缠绕结构,导致体系黏度降低。另一方面,在X-MGEWP基础上添加TA,表现黏度随着TA添加量的提高呈上升趋势,说明TA的添加可以提供X-MGEWP体系更高的黏度环境,其原因可能是:TA与X-MGEWP间强烈的非共价相互作用增加了蛋白质分子

间的交互作用,提高了体系的表现黏度^[20]。同时,TA 的添加促使蛋白质分子结构解折叠的过程,分子链的展开更易于截留体系中的水分,导致体系表现黏度上升。

图 5 为各处理组频率扫描对应的弹性模量(G')与黏性模量(G'')。各处理组 G' 与 G'' 均随着角频率的增加而升高,表明各处理组 G' 与 G'' 均有频率依赖性^[20]。在整个频率扫描过程中,各处理组 G' 均大于 G'' ,即弹性特性占主导地位,说明 MGEWP 体系表现出黏弹性行为^[21]。与此同时,相比 MGEWP, X-MGEWP 表现出更低的 G' 和 G'' ,表明糖基化过程对 MGEWP 体系的黏弹性有负面影响,原因可能是木糖的加入破坏了 MGEWP 体系内分子链间的交互作用,使体系对水的截留能力下降,黏弹性降低。添加 TA 有效提高了 X-MGEWP 的 G' 和 G'' ,原因可能是 TA 中大量羟基与蛋白质形成了氢键,同时改变了蛋白质的表面电荷分布,共同促进了 X-MGEWP 体系的蛋白质交联,提高了体系的黏弹性^[13]。

2.5 乳化特性

由图 6 可知,各组 ESI 均无显著差异 ($P > 0.05$); 对于 EAI, 在 0 min 处,与 MGEWP 相比, X-MGEWP 的 EAI 无显著差异 ($P > 0.05$),但添加 TA 改性的 X-MGEWP 的 EAI 显著提高 ($P < 0.05$),并表现出 TA 剂量依赖的趋势。其原因可能是 TA 与 X-MGEWP 产生非共价交联,并进一步提高乳化扩散速率。一般来说,蛋白质在油水界面的吸附过程大致可分为 3 个阶段:初始扩散阶段、渗透阶段以及

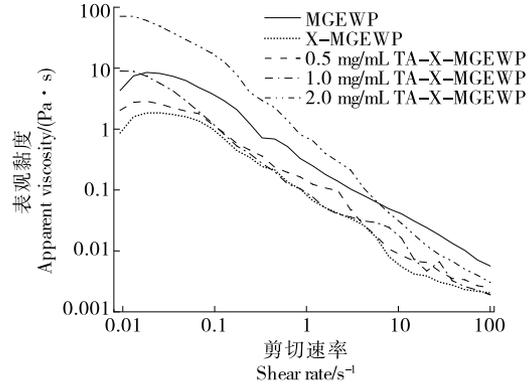


图 4 剪切速率对 TA-X-MGEWP 复合物黏度的影响
Figure 4 Effects of shear rate on the viscosity of TA-X-MGEWP complex

重排阶段。研究^[16, 22]表明,TA 可与蛋白质以非共价方式相互作用的形式促进蛋白质结构松动和解离,并诱导蛋白质在两相界面处解折叠,增加蛋白质表面张力的衰减速率,导致扩散速率增加并因此促进蛋白质快速渗透入油水界面,最终提高蛋白质的 EAI。对比 30 min 后 MGEWP, X-MGEWP 的 EAI 有升高的趋势但并不显著 ($P > 0.05$)。MGEWP 糖基化后 EAI 升高的原因可能是:糖基化修饰可导致蛋白质结构的解折叠,有利于快速扩散到油水界面,增强了乳化性能。另一方面,木糖与蛋清蛋白共价结合后有助于产生更强的界面膜^[23]。

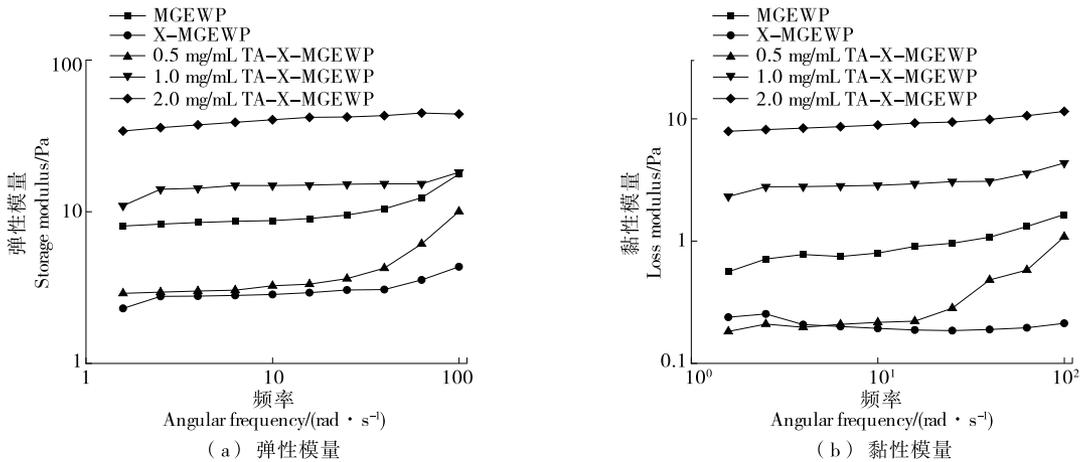
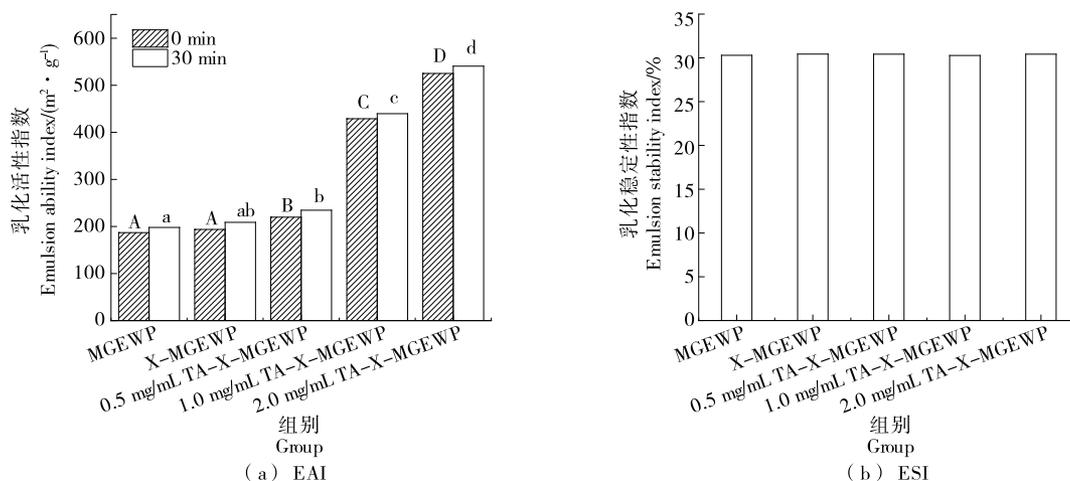


图 5 频率对 TA-X-MGEWP 复合物弹性模量/黏性模量的影响
Figure 5 Effects of frequency on storage modulus and loss modulus of TA-X-MGEWP complex

2.6 乳液微观结构

如图 7 所示,乳液液滴形状整体呈规则的球形。不添加 TA 的 MGEWP 与 X-MGEWP 乳液处理组存在直径较大且分布不均匀的乳滴。当 TA 添加量 > 1.0 mg/mL 时,乳液体系内的液滴直径更小、分布更均匀且依靠更紧密,

此时乳液中水相不容易下流引起油水分层^[24]。这表明添加 TA 会促进蛋白质的界面活性,有助于 X-MGEWP 有效吸附到油水界面上,提高了 X-MGEWP 的 EAI。另一方面,更小的乳滴粒径以及更均匀的乳滴分布表明 TA 可整体提高 X-MGEWP 乳滴的稳定性。



不同处理组之间字母不同表示显著差异($P < 0.05$)

图6 TA-X-MGEWP复合物乳液EAI和ESI

Figure 6 EAI and ESI of emulsions of TA-X-MGEWP complex

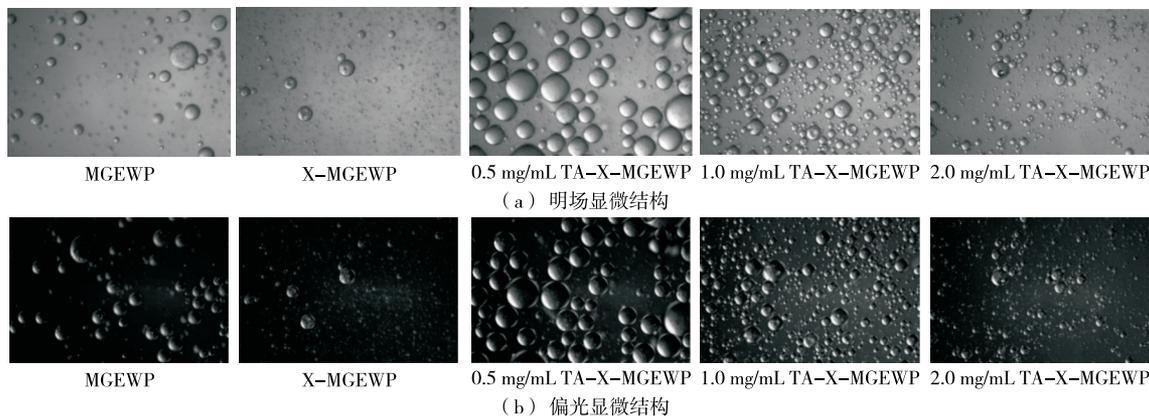


图7 TA-X-MGEWP复合物乳液微观结构图

Figure 7 Microstructure of TA-X-MGEWP complex emulsions

3 结论

该研究利用极端pH法制备熔球态蛋清蛋白,并研究了D-木糖和单宁酸对其乳化性的改性效果。结果发现,极端pH抑制了熔球态蛋清蛋白的糖基化,但添加单宁酸显著提升D-木糖糖基化修饰的熔球态蛋清蛋白的乳化活性指数。单宁酸促使D-木糖糖基化修饰的熔球态蛋清蛋白发生解折叠行为,暴露被包埋的活性基团,提高美拉德反应活性,表现为褐变程度与浊度的显著上升,并通过形成氢键破坏D-木糖糖基化修饰的熔球态蛋清蛋白的刚性结构区,暴露更多游离巯基,利于乳液的界面稳定。此外,单宁酸的添加改善了D-木糖糖基化修饰的熔球态蛋清蛋白的流变学特性,提高体系的乳化性能。

综上所述,糖基化结合单宁酸改性能有效提高熔球态蛋清蛋白的乳化性,为后续进一步研究熔球态蛋清蛋白理化性质及其改性提供理论基础。但关于糖基化结合

单宁酸改性修饰熔球态蛋清蛋白的具体位点及其在油水界面的分配规律有待进一步阐明。

参考文献

- [1] LIU J B, JIANG H Y, ZHANG M, et al. Relationship of co-gelation and co-aggregation on egg white ovalbumin-lysozyme heteroprotein complex: formation and thermodynamics[J]. Food Chemistry, 2022, 388: 133030.
- [2] SUN J, LIU T M, ZHANG F, et al. Tea polyphenols on emulsifying and antioxidant properties of egg white protein at acidic and neutral pH conditions[J]. LWT-Food Science & Technology, 2022, 153: 112537.
- [3] 李祥鹏, 高健, 刘晓飞, 等. 熔球态蛋白质的结构表征及功能的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 4 974-4 981.
- LI X P, GAO J, LIU X F, et al. Research progress in structure characterization and function of the molten globule of protein

- [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(15): 4 974-4 981.
- [4] WANG L, WEN J Y, WANG L Y, et al. Characterization of the extreme pH-induced molten globule state of soy protein isolate and its influence on functional properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 144: 109040.
- [5] AI M M, XIAO N, JIANG A M. Molecular structural modification of duck egg white protein conjugates with monosaccharides for improving emulsifying capacity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106271.
- [6] SUN F W, XU J, WANG Z Y, et al. Effect of glycosylation on soy protein isolate-sodium carboxymethyl cellulose conjugates heat-induced gels and their applications as carriers of riboflavin [J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 153: 110072.
- [7] HOU K K, FU X, CHEN H M, et al. Characterization and emulsifying ability evaluation of whey protein-pectin conjugates formed by glycosylation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 329: 121790.
- [8] AELENEI N, POPA M I, NOVAC O, et al. Tannic acid incorporation in chitosan-based microparticles and in vitro controlled release[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2009, 20(5): 1 095-1 102.
- [9] WEI X L, ZHOU C X, LUO D H, et al. Insighting the effect of ultrasound-assisted polyphenol non-covalent binding on the functional properties of myofibrillar proteins from golden threadfin (*Nemipterus virgatus*) [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2024, 109: 106988.
- [10] JING H, KITTS D D. Chemical and biochemical properties of casein - sugar Maillard reaction products[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2002, 40(7): 1 007-1 015.
- [11] ZHANG T, CHEN T T, JIANG H Y, et al. Effect of pH treatment on egg white protein digestion and the peptidomics of their in vitro digests[J]. *Food Research International*, 2023, 173: 113327.
- [12] WANG N, XING K W, ZHANG W, et al. Combining multi-spectroscopy analysis and interfacial properties to research the effect of ultrasonic treatment on soybean protein isolate-tannic acid complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 145: 109136.
- [13] REN C, XIONG W F, PENG D F, et al. Effects of thermal sterilization on soy protein isolate/polyphenol complexes: aspects of structure, in vitro digestibility and antioxidant activity[J]. *Food Research International*, 2018, 112: 284-290.
- [14] UYSAL R S, BOYACI İ H, SOYKUT E A, et al. Effects of heat treatment parameters on liquid whole egg proteins[J]. *Food Chemistry*, 2017, 216: 201-208.
- [15] LU F, CHI Y J, CHI Y. High-temperature glycosylation of saccharides to modify molecular conformation of egg white protein and its effect on the stability of high internal phase emulsions[J]. *Food Research International*, 2024, 176: 113825.
- [16] WANG N, LIU B U, HAN X U, et al. Tannic acid/non-covalent interaction-mediated modification of hemp seed proteins: focused on binding mechanisms, oil-water interface behavior, and rheological properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 157: 110483.
- [17] LI J Y, WANG Z Y, XIAO N, et al. Endogenous reactive oxygen species (ROS) -driven protein oxidation regulates emulsifying and foaming properties of liquid egg white[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 268: 131843.
- [18] WEI R, XIAO N, GUO S G, et al. Environmental stress-induced conformational transitions modulate foaming and gelation properties of glycosylated egg white proteins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 150: 109643.
- [19] ZHANG M, MEI L, WU Y T, et al. Impact of ethanol extract of propolis on heat-induced egg white protein gels: formation and properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 149: 109590.
- [20] CHEN J F, CUI Y L, SHI W L, et al. Thiolation modification of pectin effectively alleviates the weakening of wheat gluten network caused by natural pectin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 144: 109033.
- [21] RONDA F, PEREZ-QUIRCE S, LAZARIDOU A, et al. Effect of barley and oat β -glucan concentrates on gluten-free rice-based doughs and bread characteristics[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 48: 197-207.
- [22] MENG Y, WEI Z H, XUE C H. Correlation among molecular structure, air/water interfacial behavior and foam properties of naringin-treated chickpea protein isolates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 147: 109309.
- [23] ZHENG Y M, CHANG Y, LUO B Y, et al. Molecular structure modification of ovalbumin through controlled glycosylation with dextran for its emulsibility improvement[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 194: 1-8.
- [24] 李琳, 孙一熙, 秦文, 等. 限制性酶解结合糖基化改性对大豆分离蛋白乳化性质的影响[J]. *食品与机械*, 2024, 40(3): 1-11.
- LI L, SUN Y X, QIN W, et al. Effects of limited enzymolysis and glycosylation on emulsifying properties of soybean protein isolates[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(3): 1-11.