多酚与蛋白质相互作用及其对蛋白质影响

赵钜阳，　姚恒喆，　石长波
（哈尔滨商业大学 旅游烹饪学院，黑龙江 哈尔滨 150028）

摘要： 多酚因对人类健康有潜在的积极作用而广泛应用在食品体系中。多酚可与食品体系中的蛋白质通过共价或非共价相互作用形成复合物，进而影响蛋白质的结构和性质。作者综述了多酚与蛋白质相互作用机制，及相互作用对蛋白质结构、功能特性、酶活性、氧化性和消化率的影响，并总结了二者相互作用机制的常见分析方法。最后，对多酚与蛋白质相互作用的未来研究方向进行了展望。

关键字： 多酚；蛋白质；相互作用；结构；性质
中图分类号： TS 201.4　**文章编号：** 1673-1689(2020)12-0014-07　**DOI：** 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.12.003

Advances in Interaction between Phenols and Proteins and Their Effects on Proteins

ZHAO Juyang，　*YAO Hengzhe*，　*SHI Changbo*
（College of Tourism and Cuisine, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China）

Abstract: Phenols have been widely used in food systems because of their potential positive effects on human health. Furthermore, phenol-protein complexes can be formed in food systems through covalent or non-covalent interactions between phenols and proteins, affecting the structure and properties of proteins consequently. Therefore, the mechanism of phenolic-protein interactions, as well as the structural flexibility, functional properties, enzyme activity, oxidizability and digestibility of proteins were reviewed. Moreover, the common analytical methods to study the mechanism of phenolic-protein interactions were summarized. Finally, the future research direction of phenolic-protein interactions is also prospected.

Keywords: phenols, protein, interaction, structure, properties

作为生命活动的物质基础，蛋白质不仅提供人体所需营养，同时也具备一定的保健功能[1]。但蛋白质结构复杂，根据其复杂程度，其结构主要分为一、二、三和四级结构[2-3]。其性质取决于它的结构，结构受外界因素的影响较大，导致其功能和性质发生极大改变，甚至产生有害物质[4]。通常蛋白质与食品中的其他分子（如与酚类物质和碳水化合物）之间的相互作用为共价键和非共价键[5]。

多酚类物质作为天然化合物，广泛存在于植物细胞中，是植物代谢的次级产物[6]。多酚类物质种类很多，如酚酸、苯乙酮、苯乙酸、羟基肉桂酸、香豆素、萘醌、氧杂蒽酮、芪、类黄酮等[7]。富含多酚类的食物具有潜在的积极作用，因此被人们广泛关注研究。Hollman 等[8]总结了多酚对心血管健康和癌症的

收稿日期： 2019-08-23
基金项目： 哈尔滨商业大学博士科研启动项目(2019DS60)。
作者简介： 赵钜阳(1987—)，女，博士，讲师，主要研究方向为大豆蛋白加工及烹饪科学研究。E-mail：zhaojuyang1987@163.com

影响,发现多酚在生物体内具有较强的抗氧化活性且抗氧化活性与心血管疾病保护有一定的正相关性。多酚类物质之所以在生物体中具有潜在的积极作用,是由于其独特的理化性质,可以与蛋白质、多糖、脂质等大分子结合并产生相互作用,具有与金属离子络合、抗氧化性及清除羟自由基等作用[9]。

1 多酚与蛋白质相互作用的机理

目前为止,研究人员对多酚与蛋白质相互作用的机理研究相对较多。一些体外研究表明蛋白质可与多酚依靠 2 种作用力结合,一种为非共价相互作用,另一种为共价结合。其中非共价主要包括疏水相互作用、范德华力、氢键作用力和离子间相互作用[2,10-15]。如 Yuksel 等[10]、Hasni 等[11]、Von Staszewski 等[12]的研究中发现,多酚类物质与蛋白质相互作用方式主要为非共价键中的疏水相互作用。田鹏[13]利用荧光光谱法检测茶多酚与角蛋白的相互结合,设置激发光波长参数为 285 nm,激发和发射光狭缝均为 10 nm,扫描记录 300~600 nm 的荧光光谱,发现在不同温度和不同 pH 的条件下茶多酚与角蛋白作用力主要是疏水作用,且温度和 pH 的升高有利于二者疏水结合。贾晶晶[2]研究发现绿原酸和阿魏酸与 β-乳球蛋白结合的相互作用力主要为氢键和范德华力,而表没食子儿茶素与 β-乳球蛋白结合的相互作用力主要为疏水相互作用。Shpigelman 等[14]在实验中发现加热的 β-乳球蛋白与茶中的表没食子儿茶素的结合是疏水相互作用和氢键的作用。同样的,Frazier 等[15]研究结果显示儿茶素、葡萄籽原花青素等多酚类物质与蛋白质相互结合是由氢键造成的。

除了上述的非共价键作用力之外,多酚与蛋白质还可以共价键的形式相互作用[16]。早在 1985 年就有人提出,酚类物质在一定条件下可以转化为醌类,并可与蛋白质分子上的亲核基团结合形成共价键[17-18]。Ali 等[19]通过实验证明了咖啡酰奎宁酸和咖啡豆贮藏蛋白之间存在共价键。Rohn 等[20]提出酶和多酚之间也存在共价键。

然而在这两类相互作用力中,非共价键的结合作用较弱,且不稳定,当环境条件改变时(如温度、pH 等)会影响二者结合,并可能发生可逆反应,结合物再次分解[21]。如原花青素与蛋白质的相互作用方式通常认为是非共价键形成的,当温度升高时,酚类物质被氧化成醌,易于与蛋白质发生共价结合。在碱性条件下,蛋白质变性、解离,增加了与多酚物质结合的作用位点,更易形成不可逆的共价键[22]。因此,环境条件会严重影响多酚与蛋白质相互作用程度。除了以上 2 种作用力,蛋白质与多酚的相互作用还会受多酚自身结构的影响[11,15,23]。Frazier 等[15]发现相对分子质量高的多酚更容易与蛋白质结合。此外随着多酚分子上羟基基团数量的增加,与蛋白质的结合能力也会增强[11,23]。

综上,多酚与蛋白质的相互作用主要为非共价键和共价键,其中非共价键作用占多数。环境条件改变会导致可逆的非共价键向不可逆的共价键进行转化,进一步加强多酚与蛋白质相互作用程度。共价键和非共价键可以同时存在相互作用的过程中。

2 多酚与蛋白质相互作用对蛋白质结构和性质的影响

大量研究已经证实了蛋白质与多酚的结合,二者的复合物会影响多酚的生物活性和蛋白质的结构、功能特性,影响酶活性,以及影响蛋白质的氧化性和消化率。

2.1 改变蛋白质的结构和功能特性

已有一些研究表明,当多酚与蛋白质结合时,其复合产物会阻断一些必需氨基酸的生成并影响氨基酸的作用。Rawel 等[24]提出,与大豆蛋白反应的酚酸和类黄酮可能会阻断蛋白质分子中赖氨酸、色氨酸和半胱氨酸残基,从而降低必需氨基酸的含量及赖氨酸和色氨酸的可利用性。刘勤勤等[25]利用荧光光谱、紫外-可见光谱和傅里叶变换红外光谱法就茶多酚与大豆分离蛋白的相互作用机制进行了研究,发现茶多酚与大豆分离蛋白相互作用较强,并且茶多酚会导致蛋白质的二级结构发生改变。但并不是所有的蛋白质都会受到酚类物质的影响,如 Petzke 等[26]用绿原酸处理 β-乳球蛋白,大鼠实验结果表明二者相互作用不会影响大鼠生长过程中必需氨基酸的含量及蛋白质的品质。这种矛盾的结论为多酚与蛋白质的结合受到蛋白质种类的影响,也有可能是体外与大鼠体内实验具有一定差别。

除了上述的影响外,多酚还会影响蛋白质的功能特性。多酚与大豆蛋白相互作用会对大豆蛋白功能性质产生影响,郭兴凤等[27-28]报道了茶多酚对大

豆分离蛋白的凝胶性、起泡性等功能性质的影响，茶多酚可以提高大豆分离蛋白的起泡性及乳化性。赵玉红等[29]在研究樟松子酚与明胶和大豆分离蛋白的研究中表明，其复合产物提高了蛋白质的功能稳定性，从而使得变性转变温度提高。此外酚类物质可以提高蛋白质的发泡能力并增强泡沫的稳定性[30-31]。这一性质的改变可将多酚-蛋白质的复合产物进一步应用于食品或其他领域中。

2.2 对蛋白质其他性质的影响

2.2.1 *抑制酶活性* 关于酶的本质，多数人认为其是由蛋白质组成的，这种完全由蛋白质构成的酶，称为单成分酶[32]或简单蛋白酶[33]，例如纤维素酶、蛋白酶、脂肪酶等；除蛋白质外，有些酶类还含有非蛋白质成分，属于结合蛋白，这类酶被称为双成分酶[32]，例如乳酸脱氢酶、转氨酶等。目前关于多酚与蛋白质相互作用对酶活性影响的研究都集中在多酚与单成分酶的相互作用，例如通过改变蛋白质的结构，进而影响简单蛋白酶的活性。Rohn 等[20,34]发现一些多酚物质（如绿原酸、咖啡酸等）会通过降低 α-胰凝乳蛋白酶与底物的亲和力，进而抑制酶活性，使得蛋白质水解缓慢。刘睿等[35]发现高粱中原花青素改变蛋白酶的空间结构、相变温度和热焓，进而降低酶的活性。

此外，多酚与简单蛋白酶相互作用可以形成复合物，进而影响蛋白酶活性。孙贺[36]研究了 4 种不同种类的多酚物质对生物体内 2 种主要的蛋白酶类消化酶——胃蛋白酶和胰蛋白酶活性的影响，结果显示，多酚与蛋白质复合物的存在会改变蛋白酶所处微环境的极性或疏水性，改变蛋白酶的结构，从而抑制 2 种蛋白酶的活性。除蛋白酶外，二者相互作用还会影响其他单成分酶的活性，有研究表明 α-淀粉酶的某些特性会促进牙菌斑和龋齿的形成。Rawel 等[37]指出，多酚与蛋白质相互作用会形成复合物，因而降低了 α-淀粉酶在口腔中的浓度，以达到抑制蛀牙形成。肖慧芝[38]探讨了不同种类的酚酸对 α-葡萄糖苷酶活性的影响，研究结果显示，不同种类的酚酸（如没食子酸、咖啡酸、单宁酸等）与 α-葡萄糖苷酶结合后均抑制了 α-葡萄糖苷酶将多糖分解为葡萄糖的能力，其原理是酚酸与 α-葡萄糖苷酶结合的过程中，占据了 α-葡萄糖苷酶的活性位点，使糖类物质不能与 α-葡萄糖苷酶结合，从而抑制 α-葡萄糖苷酶的活性。其中单宁酸的抑制效果最佳，这可能是由于单宁酸中含有的酚羟基数量较多，更容易与 α-葡萄糖苷酶的蛋白质结合位点发生相互作用。此外，还有研究指出多酚与蛋白质结合后抑制了脂肪酶、糖苷酶的活性，二者结合后会形成惰性酶-多酚复合物从而限制了酶的活性[20,39-41]。

2.2.2 *抑制蛋白质氧化性* 研究表明，多酚类物质具有一定的抗氧化活性，在与蛋白质同时存在时，会抑制蛋白质氧化，阻止自由基的形成。吕丹丹等[42]研究发现，核桃多酚能够提高核桃蛋白质的抗氧化活性，并且游离态多酚的抗氧化活性显著高于其他结合态多酚。刘慈坤等[43]研究了茶多酚对草鱼肌原纤维蛋白氧化的影响，发现低浓度茶多酚对草鱼肌原纤维蛋白氧化具有抑制作用，而高浓度茶多酚对草鱼肌原纤维蛋白氧化则具有促进作用。传统的蛋白膜具有良好的可降解性和安全性，可以起到隔绝外界环境以延长食品保质期的作用，但其性质不稳定，易被微生物污染。而王启明等[44]研究发现，利用多酚的抗氧化性与蛋白质结合形成的保护膜，性质更加稳定，抗菌能力显著提高。

2.2.3 *影响蛋白质消化率* 多酚与蛋白质结合会影响蛋白质的消化与胃肠道中的酶。Petzke 等[45]发现绿原酸会降低乳清蛋白的消化率。Petzke 等[45]用绿原酸和 β-乳球蛋白衍生物喂养大鼠后发现多酚会影响高衍生化水平的蛋白质的总氮消化率，但净蛋白质利用率保持不变。Rohn 等[46]在大鼠实验研究中表明，给大鼠喂食加有绿原酸和槲皮素的大豆分离蛋白，会使氮消化率、生物学价值和净蛋白质利用率受到影响。由此可发现，多酚与蛋白质结合对不同种类的蛋白质消化率有着不同程度的影响。

除了上述的相互作用影响之外，有研究还表明蛋白质-多酚相互作用可以使口腔产生涩感，即唾液蛋白和单宁结合并产生相互作用，降低了唾液的润滑性，从而导致口腔内的不适感[47]。Shpigelman 等[48]的研究表明多酚-蛋白质相互作用可使多酚被传送到胃肠道的下部，对多酚在胃肠道下部的释放产生积极作用。

综上，多酚与蛋白质结合会对蛋白质的结构和性质产生不同程度的影响，这主要与多酚自身结构和多酚物质的种类有关系。目前为止，对多酚与蛋白质相互作用的研究方向还较窄，因此，需要对其进行深入研究，并将二者结合的特性恰当地应用在日常生活中作为今后主要的研究方向。

3 多酚与蛋白质相互作用的分析方法

由于多酚与蛋白质结合的过程较为繁杂,目前为止,还没有单独的技术可以完全说明其相互作用过程,因此,其研究方法一般通过多种技术进行表征[49]。如荧光光谱法、圆二色光谱法(CD)、傅里叶变换红外光谱法(FTIR)、核磁共振波谱法(NMR)、等温滴定量热法(ITC)、粒径测定法、分子模拟技术、动态光散射(DLS)平衡透析法、浊度测定法、蛋白质沉淀法、高效液相色谱法等。本文中综述了几种常用且较为常用的表征方法[50-51]。

3.1 傅里叶变换红外光谱法

傅里叶变换红外光谱法是一种无损检测方法,该方法样品用量少、不受光散射影响,不同状态、浓度及环境下的蛋白质都可以进行测定。其原理为通过扫描的光谱提供蛋白质二级结构信息,如蛋白质结构中的结构构象和疏水性等信息[52]。蛋白质的特征吸收带主要有酰胺 I、I、III 带,且酰胺 I 带能更好地反应蛋白质的二级结构,因此被广泛应用于分析多酚与蛋白质的相互作用机制[53-56]。

刘勤勤等[25]利用该方法研究茶多酚与大豆分离蛋白结合的相互作用,得出茶多酚引起大豆分离蛋白的二级结构发生改变。贾晶晶[2]研究绿原酸、阿魏酸或表没食子儿茶素没食子酸酯会使 β-乳球蛋白的二级结构发生改变,使得其 α-螺旋含量下降,β-折叠和 β-转角的含量增加。Kanakis[23]、Al-Hanish[57]等也利用傅里叶红外光谱法分别研究发现茶多酚与乳球蛋白和乳清蛋白结合相互作用改变了蛋白质的二级结构。

虽然傅里叶变换光谱法可以对蛋白质结构进行定量分析,但由于检测物品一般结构复杂,易出现谱峰重叠的现象, 对实验结果可能产生干扰,因而很少单独用来表征蛋白质的二级结构,常与圆二色光谱连用分析多酚与蛋白质复合物的二级结构。

3.2 圆二色谱法

圆二色谱法(CD)是研究蛋白质结构变化既简便又快捷的方法。该方法需样量少,可做到快速无损检测,可在模拟生理条件的水环境下进行,样品也无须经过严格预处理[58]。通过对左右圆偏振光吸附的差异及变动的特征,分析蛋白质的结构。在远紫外区(190~250 nm)可估算出蛋白质的二级结构含量[59-61],在近紫外区(250~320 nm)可观测蛋白质三级结构变化[62-63]。圆二色谱法常常与其他技术联用来研究多酚与蛋白质结合过程中的结构变化,可以根据蛋白质 CD 谱波峰的移动方向来判断出多酚与蛋白质是否发生相互作用[49]。

Guo 等[64]在研究黄芩素与酪氨酸酶的相互作用时,利用圆二色谱法得出蛋白质二级结构的变化情况。此外徐洁琼[65]利用该方法分析了茶多酚对乳蛋白二级结构的影响;Roqanian 等[66]同样利用该方法得出了姜黄素、槲皮素和白藜芦醇与淀粉样蛋白聚集体结合前后蛋白质二级结构的变化情况;Wallace 等[67]利用圆二色谱法检测蛋白质的二级结构可以区分蛋白质聚集体种类。贾晶晶[2]利用圆二色谱法分别测定了不同种类的多酚物质与 β-乳球蛋白溶液的 CD 图, 结果显示不同种类的多酚类物质对蛋白质二级结构影响不同。同时有研究证明,在相同条件下茶多酚与不同种类蛋白质相互作用也会诱导蛋白质的二级结构改变[68]。

3.3 荧光光谱法

荧光光谱法是测定蛋白质与多酚相互作用最为广泛的方法,具有灵敏度高,选择性好等优点[50]。由于蛋白质构象的转变、底物的结合和发色团分子环境的变化会导致其固有荧光的变化,由此可以展示多酚物质与蛋白质相互作用导致蛋白质三级结构变化。通过荧光的改变可以推演出多酚物质与蛋白质的结合位点,并可以通过分析荧光猝灭过程进一步推断二者的结合过程[69]。

王团结[70]利用荧光光谱法计算猝灭常数、结合数量、结合常数和自由能,分析出多酚和大豆分离蛋白相互作用的猝灭是静态猝灭,作用过程是自发产生。徐洁琼[65]通过荧光光谱法研究得出几种茶多酚对 β-乳球蛋白及 β-酪蛋白的荧光猝灭作用,不同种类的茶多酚物质猝灭作用程度不同,但都是静态猝灭机制,结合位点为 1,均为自发进行。Hu[71]利用该方法研究了绿原酸与 HSA 的特异性结合,判断出该结合反应是自发的。周瑞[72]、刘建垒[73]同样通过荧光光谱分析了多酚与蛋白质相互作用机制。荧光法可以判断荧光猝灭类型[74],结合热力学参数等方法可以判断该结合反应是否自发进行,确定结合位置和作用力;测定结合常数和结合位点数,定性描述蛋白质的构象变化。但荧光发射光谱分析也存在一定的局限性,作为一种局部信号,在蛋白质折叠研究中,荧光无法提供详细的结构信息,所以需要

将荧光变化与圆二色谱、傅里叶变换光谱信号进行共同分析得到结论[75]。

4 展 望

多酚与蛋白质的相互作用的重要性已经被普遍认识。在食品加工、机体保健等方面的研究也逐日增加。但其相互作用所得到的结果不完全是有益的,因此其相互作用的影响因素和作用条件有待进一步研究。并且二者相互作用的检测过程相对比较复杂,一般需要多种检测方式和仪器连用才能得到有效的结果。因此,检测方法研究上有待进一步加深。此外,有关多酚与蛋白质的相互作用仅停留在基础研究方面,针对肉制品加工和烹饪方面的应用研究所见甚少,因此,在加工应用方面还有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] 王盼盼. 食品中蛋白质的功能特性综述[J]. 肉类研究,2010(5):62-71.
[2] 贾晶晶. 多酚类物质与牛乳 β- 乳球蛋白及 β- 半乳糖苷酶相互作用的研究[D]. 济南:山东师范大学,2018.
[3] 刘珊珊,姜自芹,刁桂珠,等. 蛋白质组学在大豆中的研究进展[J]. 东北农业大学学报,2010,41(12):136-144.
[4] 唐江宏. 有机小分子与人血清白蛋白的相互作用研究[D]. 兰州:兰州大学,2006.
[5] BOURVELLEC L 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.
[6] 孔庆军. 葡萄科植物中天然多酚类化合物研究[D]. 杭州:浙江大学,2012.
[7] CROZIER A,JAGANATH I B,CLIFFORD M N. Dietary phenolics:chemistry,bioavailability and effects on health[J]. **Natural Products Reports**,2009,26:1001-1004.
[8] HOLLMAN P C H,CASSIDY A,COMTE B,et al. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols forcardiovascular health in humans is not established[J]. **The Journal of Nutrition**,2011,141:989-1009.
[9] 鲁玉妙,马惠玲. 我国植物多酚研究文献计量及研究热点分析[J]. 食品科学,2012,33(17):290-296.
[10] YUKSEL Z,AVCI E,ERDEM Y K. Characterization of binding interactionsbetween green tea flavonoids and milk proteins[J]. **Food Chemistry**,2010,121:450-456.
[11] HASNI I,BOURASSA P,HAMDANI S,et al. Interaction of milk a and β-casein with tea polyphenols[J]. **Food Chemistry**,2011,126:630-639.
[12] STASZEWSKI V M,JARA F L,RUIZ A L T G,et al. Nanocomplex formation between β-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.
[13] 田鹏. 茶多酚与羊毛角蛋白相互作用的研究[D]. 太原:山西大学,2009.
[14] SHPIHELMAN A,ISRAELI G,LIVNEY Y D. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies:beta lactoglobulin-based nanocomplexes asprotective nanovehicles for EGCG[J]. **Food Hydrocolloids**,2010,24:735-743.
[15] FRAZIER R A,DEAVILLE E R,GREEN R J,et al. Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins[J]. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**,2010,51:490-495.
[16] KROLL J,RAWEL H M,ROHN S. Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds[J]. **Food Science and Technology Research**,2003,9:205-218.
[17] BEART J E,LILLEY T H,HASLAM E. Covalentbinding of procyanidins to proteins during acid-catalysed decomposition;observations on some polymeric proanthocyanidins[J]. **Journal of the Chemical Society Perkin Transactions**,1985,2:1439-1443.
[18] PRIGENT S V E,GRUPPEN H,VISSER A J W G,et al. Effects of non-covalent interactions with 5-o-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid) on the heat denaturation and solubility of globular proteins[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2003,51(17):5088-5095.
[19] ALI M,HOMANN T,KREISEL J,et al. Characterization and modeling of the interactions between coffee storage proteins and phenolic compounds[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2012,60:11601-11608.
[20] ROHN S,RAWEL H M,KROLL J. Inhibitory effects of plant phenols on theactivity of selected enzymes [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2002,50:3566-3571.

[21] NAGY K,WILLIAMSON G,et al. Non-covalent binding of proteins to polyphenols correlates with theiramino acid sequence[J]. **Food Chemistry**,2012,132:1333-1339.
[22] TORRES J L,Bobet R. New flavanol derivatives from grape (*Vitis vinifera*)byproducts. antioxidant aminoethylthio-flavan-3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as a source of flavanols[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2001,49(10):4627-4634.
[23] KANAKIS C D,HASNI I,BOURASSA P,et al. Milkb-lactoglobulin complexes with tea polyphenols[J]. **Food Chemistry**,2011,127:1046-1055.
[24] RAWEL H M,CZAJKA D,ROHN S,et al. Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins [J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2002,30:137-150.
[25] 刘勤勤,朱科学,郭晓娜,等. 茶多酚与大豆分离蛋白的相互作用[J]. 食品科学,2015,36(17):43-47.
[26] PETZKE K J,SCHUPPE S,ROHN S,et al. Chlorogenic acid moderately decreases the quality of whey proteins in rats [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2005,53:3714-3720.
[27] 郭兴凤,石晶,薛园园,等.茶多酚对大豆蛋白乳化性和泡沫特性影响[J]. 粮食与油脂,2010(4):12-14.
[28] 郭兴凤,石晶,薛园园,等.茶多酚对大豆蛋白溶解性影响[J]. 粮食与油脂,2010(3):18-20.
[29] 赵玉红,翟亚楠,许耀鹏,等. 樟子松多酚和蛋白质的复合反应及产物性质[J]. 北京林业大学学报,2016,38(9):102-107.
[30] WU W C M,HOWELL N K. The effect of instant green tea on the foaming and rheological properties of egg albumen proteins[J]. **Journal of the Science of Food & Agriculture**,2007,87(10):1810-1819.
[31] 覃思,吴卫国. 茶多酚对蛋清蛋白起泡性能的影响研究[C]// 中国食品研究生论坛文集. [S.l.]:中国食品科学技术学会,2005:763-767.
[32] 刘欣. 食品酶学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2006.
[33] 毛羽扬. 烹饪化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2006.
[34] ROHN S,RAWEL H M,WOLLENBERGER U,et al. Enzyme activity of α-chymotrypsin after derivatization with phenolic compounds[J]. **Food Nahrung**,2003,47:325-329.
[35] 刘睿,潘思轶,谢笔钧. 高粱原花青素对 α- 淀粉酶和蛋白酶活力影响的 DSC 研究[J]. 食品与发酵工业,2006(7):60-62.
[36] 孙贺. 四种食源性多酚与胃蛋白酶、胰蛋白酶相互作用的研究[D]. 洛阳:河南科技大学,2019.
[37] RAWEL H M,FREY S K,MEIDTNER K,et al. Determining the binding affinities of phenolic compounds to proteins by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence[J]. **Molecular Nutrition and Food Research**,2006,50:705-713.
[38] 肖会芝. 天然多酚对胰蛋白酶和 α- 葡萄糖苷酶抑制机制的研究[D]. 重庆:重庆大学,2016.
[39] DOUGALL M C G J,STEWART D. The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes[J]. **Biofactors**,2005,23(4):189-95.
[40] GONCALVES R,SOARES S,MATEUS N,et al. Inhibition of trypsin by condensed tannins and wine[J]. **Food Chemistry**,2007,55(18):7596-7601.
[41] FEENY P P. Inhibitory effect of oak leaf tannins on the hydrolysis of proteins by trypsin[J]. **Phytochemistry**,1969,8(11):2119-2126.
[42] 吕丹丹,毛晓英. 核桃多酚与蛋白质的作用方式及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2019,40(13):23-28.
[43] 刘慈坤.茶多酚对草鱼肌原纤维蛋白质氧化性质的影响[C]. [S.l.]:中国食品科学技术学会,2018:2.
[44] 王启明,唐瑜婉,杨雅轩,等. 植物多酚 - 蛋白质复合抗菌膜研究进展[J]. 食品与发酵工业,2019,45(10):247-252.
[45] PETZKE K J,SCHUPPE S,ROHN S,et al. Chlorogenic acidmoderately decreases the quality of whey proteins in rats[J]. **Journal of Agriculturaland Food Chemistry**,2005,53:3714-3720.
[46] ROHN S,PETZKE K J,RAWEL H M,et al. Reactions of chlorogenic acidand quercetin with a soy protein isolate-Influence on the *in vivo* food proteinquality in rats[J]. **Molecular Nutrition and Food Research**,2006,50:696-704.
[47] FREITAS D V,MATEUS N. Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2001,49:940-945.
[48] SHPIGELMAN A,ISRAELI G,LIVNEY Y D. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies:beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nanovehicles for EGCG[J]. **Food Hydrocolloids**,2010,24:735-743.
[49] 李春翼,田勇,杨雅轩,等. 植物多酚与蛋白质互作机制表征方法研究进展[J]. 食品与发酵工业,2019,45(13):262-268.
[50] 杜英秋,廖辉,马永华,等. 饲料中硒的测定—氢化物发生原子荧光光谱法[J]. 东北农业大学学报,2010,41(05):91-95.

[51] 张莉,刘倩倩,吴长玲,等. 多酚与蛋白质相互作用研究方法进展[J]. 食品工业科技,2018,39(24):340-345.
[52] 贾娜,刘丹,谢振峰. 植物多酚与食品蛋白质的相互作用[J]. 食品与发酵工业,2016,42(7):277-282.
[53] KONG J L,YU S N. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures[J]. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**,2007,39(8):549-559.
[54] 胡伟. 基于多尺度显微高光谱成像技术的鱼糜品质分析与识别机制[D]. 上海:上海海洋大学,2016.
[55] CHENG H,LIU H,BAO W,et al. Studies on the interaction between docetaxel and human hemoglobin by spectroscopic analysis and molecular docking[J]. **Journal of Photochemistry and Photobiology**,2011,105(2):126-132.
[56] FARRELL H M,WICKHAM E D,UNRUH J J,et al. Secondary structural studies of bovine caseins:temperature dependence of β-casein structure as analyzed by circular dichroism and FTIR spectroscopy and correlation with micellization[J]. **Food Hydrocolloids**,2001,15:341-354.
[57] AL-HANISH A,STANIC-VUCINIC D,MIHAILOVIC J,et al. Noncovalent interactions of bovine α-lactalbumin with green tea polyphenolepigalocatechin-3-gallate[J]. **Food Hydrocolloids**,2016,61:241-250.
[58] 李道金. 荧光、同步荧光、三维荧光和圆二色谱法研究头孢吡肟盐酸盐与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版),2018,36(4):58-68.
[59] JIA J J,GAO X,HAO M H,et al. Comparison of binding interaction between β-lactoglobulin and three common polyphenols using multi-spectroscopy and modeling methods[J]. **Food Chemistry**,2017,228:143-151.
[60] GREENFIELD N J. Using circular dichroism spectra to estimate protein secondary structure[J]. **Nature Protocols**,2006,1:2876-2890.
[61] WHITMORE L,WALLACE B A. Protein secondary structure analyses from circular dichroismspectroscopy:methods and referencedatabases[J]. **Biopolymers**,2008,89:392-400.
[62] ULRIH N P. Analytical techniques for the study of polyphenol-protein interactions[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**,2017,57(10):2144-2161.
[63] YAO H,WYNENDAELE E,XU X L,et al. Circular dichroism infunctional quality evaluation of medicines[J]. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**,2018,147:50-64.
[64] GUO N H,WANG C L,SHANG C,et al. Integrated study of the mechanism of tyrosinase inhibition by baicaleinusingkinetic, multispectroscopic and computational simulation analyses[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,118:57-68.
[65] 徐洁琼. 乳蛋白与茶多酚的相互作用及茶多酚生物可及性的研究[D]. 无锡:江南大学,2017.
[66] ROQANIAN S,MERATAN A A,AHMADIAN S,et al. Polyphenols protect mitochondrial membrane against permeabilization induced by HEWL oligomers:possible mechanism of action[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2017,103:709.
[67] WALLACE B A. Protein characterization by synchrotron radiation circular dichroismspectroscopy[J]. **Quarterly Reviews of Biophysics**,2009,4:317-370.
[68] ZHANG L,SAHU I D,MAN X,et al. Data for β-lactoglobulin conformational analysis after (-)-epigallocatechin gallate and metal ions binding[J]. **Data in Brief**,2017,10:474-477.
[69] XIAO J B,KAI G Y. A review of dietary polyphenol-plasma protein interactions:characterization,influence on the bioactivity, and structure-affinity relationship[J]. **Food Science and Nutrition**,2012,52:85-101.
[70] 王团结. 茶多酚—大豆分离蛋白纳米乳液的制备与表征[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017.
[71] HU Y J,CHEN C H,ZHOU S,et al. The specific binding of chlorogenic acid to human serum albumin[J]. **Molecular Biology Report**,2012,39:2781-2787.
[72] 周瑞,董学艳,景浩. 不同溶液中牛血清白蛋白与花青素相互作用特征及抗氧化性[J]. 食品科学,2013,34(15):11-16.
[73] 刘建垒,邢效娟,周瑞,等. 牛血清白蛋白与槲皮素及花青素相互作用方式及其纳米颗粒特征的比较[J]. 食品科学,2017,38(5):7-13.
[74] SOARES S,MATEUS N,FREITAS D V. Interaction of different polyphenols with bovine serum albumin (BSA) and human salivary a-amylase(HSA) by fluorescence quenching[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2007,55(16),6726-6735.
[75] ROYER C A. Probing protein folding and conformational transitions with fluorescence[J]. **Chemical Reviews**,2006,106(5):1769-1784.