

多酚-蛋白质共价作用及其对食品体系的影响研究进展

阚茗铭, 叶发银, 赵国华*
(西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

摘 要: 近年来多酚与蛋白质间的相互作用及其对食品体系的影响受到人们的极大关注。按作用方式可将多酚与蛋白质之间的相互作用分为非共价作用和共价作用。有关非共价作用的研究较完善, 相比之下共价作用的研究报道非常少。为推动对食品体系中多酚与蛋白质共价作用的研究, 在广泛查阅文献的基础上, 本文综述了多酚与蛋白质共价结合的机理、影响因素以及这种结合对食品体系感官特性、功能与营养特性、安全性的影响, 并进一步提出了有关食品体系中多酚与蛋白质共价作用今后的研究方向。

关键词: 多酚; 蛋白质; 共价作用; 营养; 食品

Advance in Research on Covalent Interactions of Polyphenol and Protein and Their Effects on Food System

KAN Mingming, YE Fayin, ZHAO Guohua*
(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Recently, the interactions between polyphenols and proteins have attracted increasing scientific interest. Based on the mode of their interactions, the interactions between polyphenols and proteins can be divided into two categories known as the non-covalent interaction and the covalent interaction. While extensive studies have been conducted on the non-covalent interactions, little research is available on the covalent interactions. Based on an extensive literature review, this paper overviews the mechanism of covalent interactions between polyphenols and proteins, factors affecting their interactions, and the effects of these interactions on the food system. It has been shown that the covalent interactions of polyphenol and protein are partially responsible for the sensory properties, functional and nutritional properties and safety of the food system. Finally, future research directions in this area are also discussed.

Key words: polyphenols; proteins; covalent interactions; nutrition; food

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)01-0245-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201501047

大多数食品是多成分共存的复杂体系。在生产、加工、包装、流通等过程中, 食品中的不同成分之间可能发生相互作用进而影响到食品的营养、质地、安全性等。近年来, 针对食品成分之间的相互作用并据此调控食品品质的研究已成为食品科学新的研究热点。食品成分之间相互作用的研究能对复杂食品体系和现象做出合理的解释。如对食品多糖与蛋白质相互作用的研究能揭示食品体系的流动性、稳定性、质地与口感形成的内在原因^[1]。作为食品体系常见的两类物质, 研究表明多酚与蛋白质能以非共价或共价方式在食品体系中发生相互作用。多酚与蛋白质分子通过氢键、疏水相互作用和范德

华力等分子间作用力发生可逆的非共价相互作用并对食品体系产生明显的影响。如多酚与淀粉酶的非共价复合作用直接导致了淀粉消化速率的降低^[2]。对多酚蛋白质非共价作用的研究已有大量的报道和综述, 本文不再赘述。而有关多酚与蛋白质之间的共价作用的研究相对较薄弱, 其作用规律及对食品体系的影响还鲜为人知。为快速推动这方面的研究, 在广泛调研文献的基础上, 本文对食品体系中多酚与蛋白质共价作用的机理、影响因素及其对食品体系的影响进行了全面综述, 旨在为含有蛋白质和多酚的食品加工提供有益帮助, 以提升这类产品的质量。

收稿日期: 2014-02-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31371437)

作者简介: 阚茗铭(1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: kmm1212@yeah.net

*通信作者: 赵国华(1971—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学与营养学。E-mail: zhaoguohua1971@163.com

1 多酚与蛋白质的共价结合机理

当前的研究表明,多酚与蛋白质的共价结合机理主要包括邻醌机制^[3-4]与碳正离子机制^[5]。

1.1 邻醌机制

多酚与蛋白质的邻醌结合机制主要分两步完成。第一步是多酚被氧化形成邻醌或半醌。多酚的氧化途径主要有3个:首先,在诸如酪氨酸酶或漆酶^[4,6]的催化下,多酚发生酶促氧化生成邻苯醌,酶促氧化的发生它需要同时出现3个因素:氧、酚类化合物和多酚氧化酶;再者,食品体系中的活性氧可直接使多酚发生自动氧化形成邻苯半醌,pH值的增加会促进自动氧化的发生,在碱性或中性pH值时酚类物质会以酚盐形式存在,很容易由活性氧化形成邻苯醌或邻苯半醌^[7];另外,某些金属阳离子如 Fe^{3+} ,也能诱导多酚氧化形成邻苯醌或邻苯半醌,特别是温度的增加,热导会使酚类化合物氧化形成邻苯醌、邻苯半醌或降解酚类化合物的结构^[8-9]。多酚与蛋白质的共价结合的第二步是通过邻醌或半醌与蛋白质分子中的巯基、氨基、亚氨基等发生亲核加成反应使多酚和蛋白质之间形成C—N或C—S共价键^[10-11]。图1以咖啡酸为例给出了多酚与蛋白质共价结合的邻醌机制。

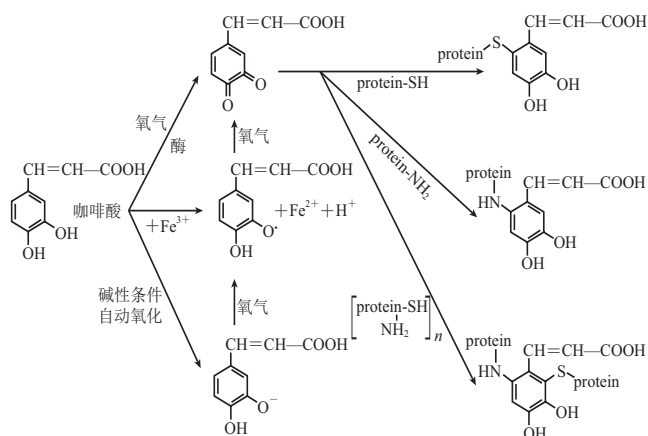


图1 多酚与蛋白质共价结合邻醌机制示意图(以咖啡酸为例)

Fig.1 O-Quinone mechanism of the polyphenol-protein covalent interaction (caffeic acid as an example)

1.2 碳正离子机制

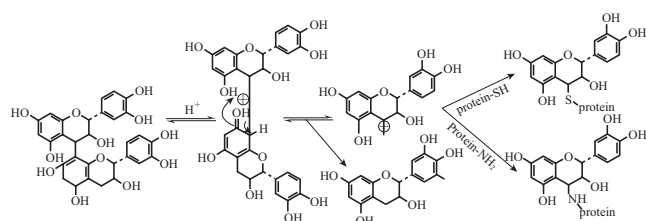


图2 多酚与蛋白质共价结合的碳正离子机制示意图

Fig.2 Carbocation mechanism of the polyphenol-protein covalent interaction

多酚与蛋白质的碳正离子结合机制也主要分两步完成。第一步是食品体系中的原花青素-黄烷复合物在酸性介质中相对不稳定,结构相对脆弱,容易发生裂解,导致高聚的黄烷-3-醇的C4位有碳正离子的生成以及低聚黄烷-3-醇会释放出黄烷-3-醇单体^[12-14]。第二步是裂解形成的碳正离子与蛋白质的亲核基团如巯基、氨基等发生加成反应使多酚和蛋白质之间形成C—N或C—S共价键,或者与外源性多肽链发生交联^[12]。图2给出了多酚与蛋白质共价结合的碳正离子机制。

2 影响多酚与蛋白质共价结合的因素

影响食品体系中多酚与蛋白质共价作用的因素主要包括多酚的浓度与性质、蛋白质的浓度与性质以及食品体系的环境条件。

2.1 多酚的影响

多酚与蛋白质的共价相互作用会受到多酚类型、浓度、分子质量等因素的影响。Rawel等^[15]研究发现在相同条件下槲皮素比芦丁更容易与乳清蛋白(whey protein, WP)发生共价结合。与没食子酸相比,芦丁能以更高的强度与来自鳕鱼皮的明胶共价结合从而形成更高强度的多酚交联明胶凝胶^[16]。Prodpran等^[17]发现在相同浓度下单宁酸与鱼肌纤维蛋白的共价作用明显比咖啡酸、儿茶素和阿魏酸强。这些多酚的加入可使鱼肌纤维蛋白膜具有更好的机械性能,而单宁酸的效果最佳。Dubeau等^[18]发现红茶中分子质量较高的多酚(如茶黄素、茶红素)更容易与牛奶蛋白结合。但Bartolome等^[19]的结果则表明分子质量较低的多酚(如对香豆酸、原儿茶酸、咖啡酸和肉桂酸等)与牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)有强的结合亲和力,而对羟基苯甲酸与牛血清白蛋白之间没有显著的结合作用。有关多酚结构对其与蛋白质共价作用的影响规律还需完善。

2.2 蛋白质的影响

蛋白质的疏水性、溶解度、等电点、浓度、氨基酸组成以及多酚与蛋白质的物质的量比对多酚与蛋白质的共价作用有明显影响。Prigent等^[20]发现蛋白质分子中赖氨酸残基侧链上的氨基($-\text{NH}_2$)比组氨酸和色氨酸残基上的亚氨基($-\text{NH}-$)更容易与邻苯醌发生加成反应,所以酪氨酸含量越高的蛋白质与多酚发生共价结合作用的强度也越高。Rohn等^[21]的研究则表明当牛血清白蛋白与槲皮素的物质的量比为2:1时两者的共价结合程度最高。

2.3 环境条件的影响

多酚与蛋白质的相互作用对pH值、温度等环境条件敏感。Wang Xiaoya等^[22]发现pH值对 α -乳清蛋白与表没食子儿茶素没食子酸酯(—)-epigallocatechin gallate, EGCG共价结合作用影响显著。当pH值为8.0时, α -乳

清蛋白与EGCG的共价结合程度最高, pH值降低对此共价结合作用有负面影响, 其主要原因是EGCG在碱性条件下更容易被氧化形成醌。更有意思的是, 环境pH值甚至会影响多酚与蛋白质的作用方式。有研究发现绿原酸在中性或酸性条件下($\text{pH} \leq 7$)与牛血清白蛋白、溶菌酶和 α -乳清蛋白以非共价作用结合, 而在碱性条件下这种作用转变为共价方式, 其根本原因仍然是多酚在碱性条件下更易被氧化形成醌。温度对多酚蛋白质共价作用的发生与强度有明显影响。Prigent等^[23]研究发现5-*O*-咖啡酰奎宁酸与牛血清白蛋白在低温下(如5、25 °C)以非共价作用结合而在高温下(60 °C)会产生共价键, 这是由于多酚在高温容易发生氧化而生成醌类物质。

3 多酚与蛋白质共价作用对食品体系的影响

多酚与蛋白质的共价相互作用对食品体系的感官特性、安全性以及多酚与蛋白质的生物学与营养学特性产生影响。表1总结了多酚与蛋白质相互作用对食品体系的影响。

表 1 多酚与蛋白质共价作用对食品体系的影响
Table 1 Effects of the polyphenol-protein covalent interactions in food system

食品属性	多酚	蛋白质	产生的影响	文献
感官特性	单宁	酸性唾液蛋白	混浊度增加	[24]
	EGCG	α -乳清蛋白	浊度降低	[22]
	油菜籽多酚	菜籽蛋白	色泽变暗, 产生异味	[25]
	咖啡酸、儿茶素、阿魏酸等	鱼肌纤维蛋白	颜色变为黄绿色	[17]
生物活性	EGCG	牛血清白蛋白和 α -乳清蛋白等	蛋白质抗氧化活性增加	[26]
	EGCG	α -乳清蛋白	总酚含量增加	[22]
	茶多酚	牛奶蛋白	茶的抗氧化性降低/增加	[18]
	咖啡多酚	牛奶蛋白	总酚和总黄酮含量降低	[27]
	槲皮素	牛血清白蛋白	多酚抗氧化活性降低	[21]
多酚生物利用率	绿原酸	牛奶蛋白	生物利用率降低	[28]
	沙棘原花青素	牛血清白蛋白	生物利用率降低	[29]
	可可豆黄酮	牛奶蛋白	生物利用率降低	[30]
蛋白质热稳定性	没食子酸、芦丁	明胶	热稳定性提高	[16]
	酚酸、槲皮素、芦丁	明胶	热稳定性提高	[31]
	咖啡酸	牛奶蛋白	热稳定性提高	[8]
	酚酸、槲皮素、杨梅酮	大豆球蛋白	热稳定性提高	[32]
	沙棘原花青素	牛血清白蛋白	生物利用率降低	[29]
	绿原酸	牛血清白蛋白	生物利用率降低	[33]
	洋葱中酚类物质	面包中蛋白质	生物利用率降低	[34]

3.1 对食品感官特性的影响

多酚与蛋白质的共价作用会引起食品体系混浊度、颜色、风味等的变化。Soares等^[24]发现唾液蛋白(尤其是富含脯氨酸的酸性蛋白(acidic proline-rich proteins, APRPs))与单宁的共价相互作用会形成大量不溶性聚集体而体系的混浊度增加。Wang Xiaoya等^[22]发现60 °C时在接近中性条件时($\text{pH} 6 \sim 8$), EGCG与 α -乳清蛋白的共价作用会使体系的浊度降低。Xu等^[25]发现来自油菜籽

饼粕的蛋白质和多酚在水相体系中能形成共价复合物, 这与油菜籽蛋白产品的颜色变暗和不良风味的出现关系密切。Prodpran等^[17]发现多酚(咖啡酸、儿茶素、阿魏酸和单宁酸)与鱼肌纤维蛋白的共价作用会导致可食性鱼肌纤维蛋白膜的透明度下降、颜色变暗、亮度下降, 且这种影响随多酚用量的增加而更加明显。

3.2 对多酚生物学效应的影响

多酚与蛋白质的共价相互作用对食品体系中的形态、抗氧化力和生物利用率均有明显的影响。有多篇有关添加牛奶对茶或咖啡多酚抗氧化能力影响的文献, 但研究结果各不一样。其主要原因是使用的抗氧化评价方法不一致。Niseteo等^[27]发现添加牛奶会导致速溶咖啡中总酚、绿原酸衍生物、咖啡因含量及其抗氧化力明显降低。咖啡中总酚、绿原酸衍生物、咖啡因含量实际是由于这些物质与蛋白质结合使多酚从游离态转化为结合态而无法被作者所采用的Folin-Ciocalteu法测定。Dubeau等^[18]用3种抗氧化评价方法(ABTS⁺·清除法、伏安法和脂质过氧化抑制法)研究了牛奶对绿茶、大吉岭茶和英国早餐茶中多酚抗氧化能力的影响。结果发现牛奶会使由ABTS⁺·清除法和伏安法测定的茶的抗氧化能力下降而使由脂质过氧化抑制法测定的茶的抗氧化能力提高。其原因与牛奶蛋白和茶叶中多酚物质的共价作用密切相关。ABTS⁺·清除法和伏安法测定的主要是体相中由游离多酚决定的抗氧化能力, 多酚-蛋白质的共价相互作用明显使这一能力削弱。而脂质过氧化抑制法测定的主要是油水界面上由蛋白质决定的抗氧化能力, 多酚-蛋白质共价结合物比游离蛋白质具有更好的乳化活性和抗氧化性, 使得这一结果得以提升。Rohn等^[21]发现槲皮素与牛血清白蛋白的共价结合物的抗氧化性(Trolox当量抗氧化力)明显低于游离的槲皮素。Duarte等^[28]发现牛奶中的清蛋白和酪蛋白能与咖啡中的绿原酸发生共价作用, 这是导致牛奶与咖啡同时摄入时机体对咖啡中绿原酸代谢效率急剧下降的直接原因。巧克力黄酮类化合物与牛奶蛋白的相互作用会大幅度降低巧克力中黄酮化合物被吸收进入血液的数量^[30], 而巧克力在加工时加入牛奶的影响比巧克力与牛奶同时摄入的影响要更严重。多酚与蛋白质的共价作用与非共价作用往往同时发生, 很难完全区分它们对食品体系的影响, 再加上实验方法、仪器、条件等的不同, 导致研究结果也各不一样, 所以多酚与蛋白质相互作用对多酚生物学效应的影响还需要更深入的研究, 希望在以后能在明确区分是共价作用还是非共价作用的情况下更深入的研究对多酚生物学效应的影响。

3.3 对蛋白质生物学效应的影响

多酚与蛋白质共价作用对蛋白质的影响主要表现在提高蛋白质的热稳定性、抗氧化活性和乳化活性而降低蛋白质的生物利用率和抗原性等。Almajano等^[26]认

为蛋白质（酪蛋白等）与EGCG溶液在混合初期主要为非共价复合作用而在后期可能发生共价加合作用，而这种作用能使蛋白质的抗氧化能力明显得以提升。Wang Xiaoya等^[22]的研究也表明，与 α -乳白蛋白相比， α -乳白蛋白-EGCG共价复合物的抗氧化活性和乳化活性更强。O'Connell等^[8]发现添加5.5 mmol/L的咖啡酸能显著提升牛奶在高温（140~150 °C）下的热稳定性。但多酚对蛋白质的影响与多酚的种类和结构关系密切。Yan Mingyan等^[16]研究发现用芦丁交联能显著增加明胶干凝胶的热稳定性，但溶胀率有所降低；而没食子酸交联对明胶干凝胶的热稳定性和溶胀率均无影响。Strauss等^[31]同样发现用酚酸、槲皮素、芦丁交联能大幅度提升明胶微粒的热稳定性。Rawel等^[32]发现与酚酸、槲皮素、杨梅酮的共价作用对大豆球蛋白热稳定性有益，但与黄酮、芹黄素、山奈酚的共价作用则对大豆球蛋白的热稳定性无影响。

多酚与蛋白质的共价作用往往导致蛋白质的生物利用率降低但抗原性也明显减弱。Arimboor等^[29]发现沙棘原花青素与牛血清白蛋白的共价作用会导致后者被胃蛋白酶和胰蛋白酶水解的速度显著下降，损害其生物利用率。Rawel等^[33]研究发现与绿原酸的共价结合作用会极大地降低牛血清白蛋白被胃蛋白酶和胰蛋白酶消化的速率，且降低的幅度随共价结合程度的增大而增大。但必须指出只有与绿原酸的共价结合程度较低时（5.1~7.1 mol绿原酸/mol BSA），牛血清白蛋白被胰凝乳蛋白酶消化的速率才有显著降低。Świeca等^[34]发现洋葱皮多酚与小麦粉中蛋白质的相互作用直接导致了添加4%的洋葱皮面包蛋白质的消化率（55%）显著低于未添加者的（78.4%）。Tantoush等^[35]发现与酸樱桃酚类物质的非二硫键共价作用能明显降低酶交联 β -乳球蛋白的过敏性。咖啡酸对酶交联 β -酪蛋白的过敏性也有减弱作用^[36]，同样发现与咖啡酸的共价作用能使花生蛋白的致敏性降低^[37]。常见多酚降低樱桃过敏原Pru av 1的强弱顺序为咖啡酸和表儿茶素>儿茶素和没食子酸>槲皮素和芦丁^[38]。

4 结 语

在食品生产与加工过程中，酚类物质与蛋白质接触而发生各种相互作用，常常会导致感官品质变坏，会降低蛋白质的营养价值，造成富含多酚食品的营养损失等。而且多酚与蛋白质的共价相互作用并非占主导，在一些研究中观察到并非只有蛋白质与酚类化合物的相互作用，食物中的其他物质与此同时也可能发生作用、产生影响，所以如何有效区分多酚与蛋白质共价作用与非共价作用，以及如何区分多酚与其他物质作用对食品体

系的影响还需要更深入的研究；其次，目前很多有关多酚与蛋白质相互作用的研究是在模拟体系中进行的，不同的消化酶、不同胃消化模拟模型等都对体外消化率的测定结果等有影响，从而还需要加强在真实食品体系中多酚与蛋白质的共价作用的研究；再者，我们还应进一步了解不同种类的多酚与蛋白质共价结合的确切作用机制，以及更深入地从化学反应的热力学和动力学角度来分析两者发生共价结合的可能性和反应的速度、程度等，从而可利用多酚与蛋白质的共价作用改良含有蛋白质和酚类食品的质地、加工工艺条件和工艺参数等，有利于帮助研发具有更高营养和健康价值的新食品产品；另外，肠道微生物对抗消化多酚-蛋白质共价结合物及其部分降解物的代谢机制还不清楚，有关这方面的研究也还亟需加强。总之，蛋白质和酚类化合物的相互作用是复杂的，尤其是两者间的共价相互作用更需要做进一步的研究，以便更好地了解蛋白质-酚类化合物的相互作用机制及其影响因素。

参考文献：

- [1] de KRUIF C G, TUINIER R. Polysaccharide protein interactions[J]. Food Hydrocolloids, 2001, 15(4/6): 555-563.
- [2] CHAI Yanwei, WANG Mingzhu, ZHANG Genyi. Interaction between amylose and tea polyphenols modulates the postprandial glycemic response to high-amylose maize starch[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(36): 8608-8615.
- [3] NICOLAS J J, RICHARD-FORGET F C, GOUPY P M, et al. Enzymatic browning reactions in apple and apple products[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1994, 34(2): 109-157.
- [4] BEART J E, LILLEY T H, HASLAM E. Polyphenol interactions. part 2. Covalent binding of procyanidins to proteins during acid-catalysed decomposition, observation of some polymeric proanthocyanidins[J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, 1985(9): 1439-1443.
- [5] MATHEIS G, WHITAKER J R. Modification of proteins by polyphenol oxidase and peroxidase and their products[J]. Journal of Food Biochemistry, 1984, 8(3): 137-162.
- [6] CILLIERS J J L, SINGLETON V L. Characterization of the products of nonenzymic autoxidative phenolic reactions in a caffeic acid model system[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991, 39(7): 1298-1303.
- [7] de FREITAS V A P, GLORIES Y, LAGUERRE M. Incidence of molecular structure in oxidation of grape seed procyanidins[J]. Food Chemistry, 1998, 46(2): 376-382.
- [8] O'CONNELL J E, FOX P F. Proposed mechanism for the effect of polyphenols on the heat stability of milk[J]. International Dairy Journal, 1999, 9(8): 523-536.
- [9] BATE-SMITH E C. Leuco-anthocyanins. 1. Detection and identification of anthocyanidins formed leuco-anthocyanins in plant tissues[J]. Journal of Biochemistry, 1954, 58(1): 122-125.
- [10] PETER M G. Chemical modifications of biopolymers by quinones and quinone methides[J]. Angewandte Chemie International Edition, 1989, 28(5): 555-570.

- [11] CHEYNIER V F, TROUSDALE E K, SINGLETON V L, et al. Characterization of 2-S-glutathionylcaffeoylquinic acid and its hydrolysis in relation to grape wines[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1986, 34(2): 217-221.
- [12] THOMPSON R S, JACQUES D, HASLAM E, et al. Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction: the isolation, structure and distribution in nature of plant procyranidins[J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1972: 1387-1399. doi: 10.1039/p19720001387.
- [13] PORTER L J, HRSTICH L N, CHAN B G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin[J]. Phytochemistry, 1985, 25(1): 223-230.
- [14] JERVIS L, PIERPOINT W S. Purification technologies for plant proteins[J]. Journal of Biotechnology, 1989, 11(2/3): 161-198.
- [15] RAWEL H M, ROHN S, KROLL J. Influence of a sugar moiety (rhamnosylglucoside) at 3-O position on the reactivity of quercetin with whey proteins[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 32(3/5): 109-120.
- [16] YAN Mingyan, LI Bafang, ZHAO Xue, et al. Physicochemical properties of gelatin gels from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) skin cross-linked by gallic acid and rutin[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 907-914.
- [17] PRODPRAN T, BENJAKUL S, PHATCHARAT S. Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 774-782.
- [18] DUBEAU S, SAMSON G, TAJMIR-RAHI H A. Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling, and English breakfast teas[J]. Food Chemistry, 2010, 122(3): 539-545.
- [19] BARTOLOMÉ B, ESTRELLA I, HERNÁNDEZ M T. Interaction of low molecular weight phenolics with proteins (BSA)[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(4): 617-621.
- [20] PRIGENT S V E, VORAGEN A G J, LI F, et al. Covalent interactions between amino acid side chains and oxidation products of caffeoylquinic acid (chlorogenic acid)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(10): 1748-1754.
- [21] ROHN S, RAWEL H M, KROLL J. Antioxidant activity of protein-bound quercetin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(15): 4725-4729.
- [22] WANG Xiaoya, ZHANG Jiao, LEI Fei, et al. Covalent complexation and functional evaluation of (–)-epigallocatechin gallate and α -lactalbumin[J]. Food Chemistry, 2014, 150: 341-347.
- [23] 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.
- [24] SOARES S, MATEUS N, DE FREITAS V. Interaction of different classes of salivary proteins with food tannins[J]. Food Research International, 2012, 49(2): 807-813.
- [25] XU L, DIOSADY L L. Interactions between canola proteins and phenolic compounds in aqueous media[J]. Food Research International, 2000, 33(9): 725-731.
- [26] ALMAJANO M P, DELGADO M E, GORDON M H. Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate[J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 126-130.
- [27] NISETEO T, KOMES D, BELŠČAK-CVITANOVIĆ A, et al. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition[J]. Food Chemistry, 2012, 134(4): 1870-1877.
- [28] DUARTE G S, FARAH A. Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogenic acids' bioavailability in humans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(14): 7925-7931.
- [29] ARIMBOOR R, ARUMUGHAN C. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) proanthocyanidins inhibit in vitro enzymatic hydrolysis of protein[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(6): 130-137.
- [30] SERAFINI M, BUGIANESI R, MAIANI G, et al. Plasma antioxidants from chocolate[J]. Nature, 2003, 424(6952): 1013.
- [31] STRAUSS G, GIBSON S M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(1): 81-89.
- [32] 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(3/4): 137-150.
- [33] RAWEL H M, ROHN S, KRUSE H P, et al. Structural changes induced in bovine serum albumin by covalent attachment of chlorogenic acid[J]. Food Chemistry, 2002, 78(4): 443-455.
- [34] ŚWIECA M, GAWLIK-DZIKI U, DZIKI D, et al. The influence of protein-flavonoid interactions on protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin[J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 451-458.
- [35] TANTOUSH Z, STANIC D, STOJADINOVIC M, et al. Digestibility and allergenicity of β -lactoglobulin following laccase-mediated cross-linking in the presence of sour cherry phenolics[J]. Food Chemistry, 2011, 125(1): 84-91.
- [36] STANIC D, MONOGIOUDI E, DILEK E, et al. Digestibility and allergenicity assessment of enzymatically crosslinked β -casein[J]. Molecular Nutrition Food Research, 2010, 54(9): 1273-1284.
- [37] CHUNG S Y, KATO Y, CHAMPAGNE E T. Polyphenol oxidase/caffeic acid may reduce the allergenic properties of peanut allergens[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2005, 85(15): 2631-2637.
- [38] GRUBER P, VIETHS S, WANGORSCH A, et al. Maillard reaction and enzymatic browning affect the allergenicity of Pru av 1, the major allergen from cherry (*Prunus avium*)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(12): 4002-4007.