

食源性蛋白衍生钙与螯合肽构效关系研究进展

李赵敏, 曹涵文*

(西藏自治区农牧科学院农产品开发与食品科学研究所, 西藏 拉萨 850030)

摘要: 钙摄入不足会导致骨质疏松等症状, 因此肽-钙螯合物作为新一代优良的补钙剂受到广泛关注。食品蛋白衍生的钙螯合肽因其广泛的来源和卓越的性能而具有独特的优势。本综述总结了不同动物来源、水生资源以及植物来源的钙螯合肽, 并重点分析了肽的分子量、氨基酸序列和位置、特定氨基酸基团以及肽的空间结构等对肽与钙结合能力的影响。通过探讨肽与钙螯合的构效关系, 旨在深入理解肽与钙之间的相互作用机制, 并开发出更优质、高钙结合力的新型补钙剂产品。

关键词: 钙螯合肽; 补钙剂; 构效关系; 食品蛋白; 相互作用

中图分类号: F762.5; S811

文献标志码: A

Research Progress of Structure-Activity Relationship of Calcium Chelating Peptides Derived from Different Food Proteins

LI Zhaomin, CAO Hanwen*

(Institute of Agricultural Product Development and Food Science Research, Tibet Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850030, China)

Abstract: Insufficient calcium intake can lead to symptoms such as osteoporosis, so peptide-calcium chelates have been widely concerned as a next-generation calcium supplement. Calcium chelates derived from food proteins have the unique advantages of wide availability and excellent performance. This review summarizes calcium chelates from different animal sources, aquatic resources, and plant sources, with a focus on analyzing the influence of peptide molecular weight, amino acid sequence and position, specific amino acid groups, and peptide spatial structure on the binding capacity of peptides with calcium. By exploring the structure-activity relationship of peptide-calcium chelation, the purpose is to understand the interaction mechanism between peptide and calcium, and develop a new calcium supplement product with better quality and high calcium binding force.

Key Words: calcium chelates; calcium supplements; structure-activity relationship; food proteins; interaction

钙是人体中含量最丰富的矿物质, 占体重的1.5%至2.2%, 其中大部分(约99%)以磷酸钙的形式存在于骨骼中。钙在人体内担任信号传导的第二信使, 同时也是神经传递、肌肉收缩和血液凝固等生理功能所必需的。据报道, 人体对钙的吸收量依赖于十二指肠和近端空肠中的可溶性钙^[1]。然

而, 钙的溶解度可因钙离子与草酸、植酸盐和纤维素等拮抗剂在肠道中结合沉淀而降低。钙摄入或吸收不足会导致代谢性骨病, 如儿童病和老年人骨质疏松症。针对这些现象, 市场上出现了各种钙制剂产品。根据其发展情况, 钙制剂可分为无机钙、有机酸钙、氨基酸螯合钙和肽螯合钙。

近年来, 研究人员发现螯合钙可作为一种优秀的替代品, 不仅能够克服无机钙和有机酸钙的两个主要局限性, 即低浓度时的低生物利用度和高浓度时的生物毒性^[2], 而且氨基酸螯合钙和肽螯合钙在消化过程中不受pH值变化的影响, 始终保持可溶性和稳定性, 并呈现电中性。然而, 氨基酸螯合钙的吸收程度取决于配体, 并且长期使用氨基酸螯合钙可能对机体代谢产生阻碍。相比之下, 小肽的吸收具有更多的优势,

收稿日期: 2023-10-18

基金项目: 西藏自治区自然科学基金项目(XZ202401ZR0118); 西藏自治区重大科技专项(XZ202201ZD0001N); 西藏自治区财政项目(XZKNKYS-2024-C-046)。

作者简介: 李赵敏(1994-), 女, 硕士, 主要从事畜产品加工与品质调控研究, E-mail: 1253271132@qq.com; *为通信作者: 曹涵文(1989-), 男, 硕士, 主要从事畜产品加工与品质调控研究, E-mail: 751261399@qq.com。

例如消耗较少的能量、加速运输速度以及载体不易饱和^[3]。因此,肽螯合钙具有广泛的应用潜力,而食品来源的钙螯合肽不仅来源广泛,还具有良好的安全性和高生物利用度,因此拥有广阔的发展空间。本综述总结了不同来源食品蛋白衍生的肽-钙螯合物的构效关系,有助于开发具有高钙结合力的新型补钙剂,更好地解决骨质疏松等问题,并有助于深入了解肽与钙之间的相互作用机制。

1 食源性钙螯合肽的来源

考虑到健康和饮食偏好,食源性钙螯合肽作为优质的营养补充剂更易于被消费者接受,因此受到了广泛的研究和报道。目前,国内外的研究人员已经成功地分离、表征和鉴定了多种不同来源的钙螯合肽,包括酪蛋白^[4]、鸡蛋卵黄蛋白^[5]、乳清蛋白^[6-7]、罗非鱼蛋白^[8-9]、虾蛋白^[10]、猪血浆蛋白^[11]、牛血清蛋白^[12]、大豆蛋白^[13]和小麦胚芽蛋白^[14-15]等。表1详细列出了迄今为止从不同动物、海洋和植物来源的食物衍生蛋白中已鉴定的钙螯合肽。这些钙螯合肽不仅来源丰富、安全可靠,而且具有

强大的钙结合能力和良好的生物学功能,满足了食品工业副产品的利用需求。

2 钙螯合肽的构效关系

尽管钙螯合肽的构效关系尚未完全建立,但影响多肽与钙螯合能力的因素众多。已明确的是,多肽的分子量、氨基酸组成序列、特定氨基酸基团以及肽钙螯合物的空间构像都会影响多肽与钙的结合能力。

2.1 分子量差异的影响

在很多研究中,针对肽钙螯合物的研究首先根据分子量对蛋白质水解产物进行了分离纯化,因为不同分子量的多肽具有不同的生物活性和功能。分子量的大小会影响多肽与钙的结合能力。许多研究表明,低分子量的多肽更容易与钙结合。例如,从卵清蛋白^[16]、小球藻蛋白^[17]、虾产品^[18]和小麦胚芽蛋白^[15]中分离出的钙螯合肽的分子量分别为396.98 Da、700.48 Da、960.58 Da、579.34 Da,这些多肽的分子量均小于1 000 Da。此外,从牛血清^[12]、猪血浆^[11]、罗非鱼片^[8-9]和阿拉斯加鳕鱼骨

表1 食源性的钙螯合肽					
	来源	水解酶	分离纯化方法	氨基酸序列	分子量
动物来源	酪蛋白 ^[4]	胰蛋白酶	—	S(P)S(P)S(P)EE	—
	鸡蛋卵清蛋白 ^[5]	胰蛋白酶	超滤法	—	1~3 kDa
	乳清蛋白 ^[6~7]	风味酶和复合酶(2:1)	DEAE阴离子交换色谱法, SephadexG-25凝胶过滤,半准备反相高效液相色谱	YDT	396.98Da
	牛血清蛋白 ^[12]	碱性蛋白酶	超滤、离子交换色谱和液相色谱	DNLPNPEDRKNYE	1 603 Da
	猪血浆蛋白 ^[11]	风味酶	Sephadex G-15凝胶过滤、高效液相色谱、离子交换层析和快速蛋白质液相层析	VSGVEDVN	1 172 Da
水生资源	罗非鱼片 ^[8]	碱性蛋白酶、风味酶和木瓜蛋白酶	—	WEWLHYW	1.2 kDa
	罗非鱼片 ^[9]	胃蛋白酶,胰蛋白酶和风味蛋白酶	羟基磷灰石亲和层析、凝胶过滤和反相高效液相色谱	DGDDGEAGKIG	1 033 Da
	磷虾 ^[10]	胰蛋白酶	离子交换色谱、凝胶过滤、反相高效液相色谱	TCH	<1 kDa
植物来源	大豆蛋白水解物 ^[13]	蛋白酶M和脱酰胺酶	—	DEGEQPRPFPPF	3~10 kDa
	小麦胚芽蛋白 ^[14]	碱性酶、原蛋白、风味酶、中和酶、木瓜蛋白酶、	—	ERDG	小于2 000 Da
	小麦胚芽蛋白 ^[15]	碱性蛋白酶	超滤、阴离子交换层析、凝胶过滤层析和反相高效液相层析	FVDVT	579.34 Da

干^[19]中鉴定出的钙螯合肽的分子量分别为1 603 Da、1 172 Da、1 200 Da、1 033 Da、1 200 Da,这些多肽的分子量在1 000~2 000 Da之间。

然而,也有研究表明,高分子量的肽段可能具有更高的钙结合能力。例如,以大豆蛋白水解物(SPHs)为研究对象,Bao等^[20]在2008年发现具有高钙结合能力的肽段的平均分子量为14.4 kDa或8~9 kDa。同时,Lv等^[21]通过Caco-2细胞试验证明了大分子量(10~30 kDa)的大豆肽-钙螯合物的活性高于小分子量(3~10 kDa和1~10 kDa)的肽段。此外,Jiang等^[22]以鸡蛋黄卵黄素中提取的磷酸肽为研究对象,发现小于1 kDa的磷酸肽片段不会明显结合钙,而1~3 kDa的高分子量磷酸肽片段比酪蛋白磷酸肽(CPPs)结合更多可溶性钙。

这些研究结果存在一定的差异。低分子量肽段螯合钙更具有优势可能是因为小肽与钙螯合反应时的空间位阻较小,易于在人体中被运输和吸收;而支持高分子量肽段螯合钙能力更强的观点可能是因为这些肽钙螯合物会发生聚集作用,形成的聚合物结合钙的能力会大大提高。当然,上述研究结果的差异部分可能是由于试验原料的食品衍生蛋白肽来源的不同,也可能是由于研究方法和分离手段的差异导致了在分子量评估和分离效果上的差异。

2.2 氨基酸组成序列及特定基团的作用

2.2.1 磷酸基团及相应氨基酸-钙螯合模式

酪蛋白磷酸肽(CPPs)和卵黄高磷蛋白磷酸肽(PPPs)是代表磷酸基团-钙螯合模式的肽段,它们来源于酪蛋白和卵黄高磷蛋白,具有预防或阻止不溶钙盐形成、增强钙溶解度以及促进钙吸收和利用的作用。

CPPs是磷酸化的酪蛋白衍生肽,不同的CPPs包含着核心序列Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu,该序列是钙、铁和锌等矿物质的结合位点,在矿物质的生物利用度中起着重要作用。研究人员发现,肽段与Ca²⁺结合的强弱与磷酸丝氨酸磷酸酯基团的存在相关,并证明磷酸酯基团促进了小肠对钙的吸收^[23]。另外,Ferraretto等^[24]指出,CPP与钙结合能力与磷酸基残基有关,形成了非晶态Ca₃(PO₄)₂纳米粒子。

PPPs是由胰蛋白酶酶解卵黄高磷蛋白得到的磷酸肽,相比酪蛋白,PPPs含有更多的丝氨酸残基,其中大部分被磷酸化。Jiang等^[22]已证明磷酸

肽的分子大小以及磷酸盐的含量对钙结合性能具有重要影响。

类似于酪蛋白磷酸肽和卵黄高磷蛋白磷酸肽,许多来源于鱼类水解蛋白(主要为鱼皮和鱼骨水解蛋白)的具有高钙结合率的钙螯合肽也含有磷酸盐残基^[19]。此外,黄海发现在生理条件下,1分子鲤鱼卵衍生肽能结合4个钙离子,而羧酸基团并未参与钙离子的结合,磷酸基团则是钙离子的优先结合部位^[25]。研究人员还发现,将鲱鱼卵肽(HEPPs)磷酸化后,其钙结合活性优于非磷酸化的HEPPs^[26]。

不同来源的磷酸肽与钙的结合亲和力强弱一方面与磷酸基有着密切关系。另一方面,磷酸肽溶解钙的关键似乎在于一些提供磷酸化位点的极性氨基酸残基,其中最典型的是磷酸丝氨酸残基。Zong^[27]等通过比较6种合成磷酸肽和酪蛋白磷酸肽的试验设计发现,磷酸丝氨酸的数量和位置对于防止磷酸钙沉淀的形成至关重要;其他氨基酸如苏氨酸、蛋氨酸和酪氨酸也常出现在寡磷酸肽中,有助于肽与钙的结合^[28]。例如,Thr与Ser类似,其中羟基的氧原子可为金属离子提供额外的配位位点,同时羟基能与相邻的氨基进行质子转移,增强肽的配位能力^[29]。

2.2.2 酸性氨基酸及电荷影响-钙螯合模式

酸性氨基酸在促进多肽与钙结合过程中扮演着重要的角色。早期的研究表明,钙网蛋白是一种高亲和力的钙结合蛋白,其中包含了109个酸性氨基酸,占总氨基酸数量的26%^[30]。随后的研究发现,不同来源的高钙亲和力肽钙螯合物中,酸性氨基酸能够促进多肽与钙的结合。例如,Sun等发现在弱碱条件下,脱植酸大豆蛋白水解物与钙的结合量随着羧基含量的增加呈线性增加,表明多肽与钙结合的位点很可能是Asp和Glu的羧基^[26]。Lin等通过紫外可见和傅立叶变换红外光谱的研究发现,小麦胚芽蛋白水解产物中的钙螯合肽主要由Glu、Asp、Arg和Gly组成,其中Glu和Asp羧基上的氨基氮原子和氧原子是多肽与钙结合的位点。此外,多肽与钙螯合后,酸性氨基酸的相对比例会增加^[31]。例如,王小林等^[32]发现脱植酸大豆分离蛋白水解肽与钙螯合后,Asp和Glu的比例达到了54.17%,比原始肽增加了56%。

对于谷氨酰胺而言,最稳定的构型是钙与两个羧基的氧原子形成键合;对于天冬氨酸、谷氨酸和天冬酰胺,最稳定的构型则是钙与氨基酸上的一个

羧基氧原子和一个氮原子形成键合^[33]。酸性氨基酸,尤其是Asp和Glu残基之所以成为钙结合的位点,一方面可能是因为这些酸性氨基酸残基能够提供质子化位点,有利于多肽的去质子化和与钙的结合^[34]。另一方面,这也可能与多肽的净电荷以及离子键的形成有关。例如,Zhao等^[35]的试验发现Asp羧基上的氧原子和氨基上的氮原子可以通过提供电子对来与钙形成配位键。此外,Zhang等^[9]研究人员还发现多肽侧链中的羧基可能会改变局部电荷密度,从而为二价金属离子的配位提供了良好的环境。由于pH值可以改变多肽的净电荷状态,使其成为中性、负性或正性,因此在研究酸性氨基酸与钙之间的相互作用时,需要考虑环境中pH值的影响。

2.2.3 疏水性氨基酸-钙螯合模式

酸性氨基酸在创造适宜的酸性环境以促进钙离子的协调作用方面起着重要作用。然而,需要注意的是,高钙亲和力的多肽中也含有大量的疏水性氨基酸^[6,9,11,15]。这可能与NH₂或NH基团在协调多肽与钙的螯合或与疏水作用力中的作用有关。2012年,Liu等^[36]利用高效液相色谱分析发现,大豆肽对Fe³⁺、Cu²⁺、Zn²⁺和Ca²⁺4种金属离子的吸附具有相似的强疏水特性。此外,研究人员从藻类^[37]和鱼骨^[38]中分别鉴定出3个不含酸性氨基酸的钙结合肽链(Phe-Tyr、Ser-Ser-Val、Val-Leu-Ser-Gly-Gly-Thr-Thr-Met-Ala-Met-Tyr-Thr-Leu-Val)。这表明钙结合能力可能与疏水性氨基酸直接相关。

在疏水性氨基酸中,His^[8,10]和碱性氨基酸(Lys和Arg^[39])是报道最多的。His咪唑环中的 δ -N和Lys的 ϵ -氨基氮通常被认为是多肽与钙结合的位点。对于组氨酸而言,早期的研究表明锌离子等二价金属离子通过His咪唑环的 δ -N与杆菌肽(含组氨酸的十肽)结合^[40]。Chen等^[41]也发现,多肽GPAGPHGPPG中所有与金属离子螯合的片段都含有组氨酸,这种金属离子螯合活性可能是因为组氨酸在脱水过程中形成了环状结构。对于碱性氨基酸而言,Lys和Arg都是带有正电荷的氨基酸。报道显示,Lys和Arg对于钙与钙调蛋白的结合具有间接作用,钙调蛋白中的氨基酸残基中有13.2%带有正电荷。此外,赖氨酸残基也被报道能与Asp或Glu相互作用形成盐桥,以中和多余的负电荷,从而有利于钙的结合和蛋白质结构的稳定。

除了组氨酸和碱性氨基酸,其他一些疏水性氨

基酸如甘氨酸^[9,11,19,21]、苯丙氨酸^[24]、酪氨酸^[19,21]、亮氨酸^[42]和脯氨酸^[13]在多肽与钙的螯合中也发挥着重要作用。例如,Pro通常存在于蛋白质结构的随机卷曲和 β 转角中,对于钙连接的蛋白质结构的形成至关重要。

2.3 肽的空间结构及其对构象的影响

需要注意的是,多肽与钙螯合活性的高低不仅仅依赖于前文讨论的氨基酸基团的作用。实际上,多肽在与钙结合后会形成特定的空间结构,从而促进钙的吸收。正如Walters等^[29]的研究所述,多肽通过结合二价矿物质提高其稳定性和生物利用度,这是因为其具有离子和富电子的侧链氨基酸残基,并且多肽与矿物质结合后会形成适当的构象。

许多研究人员发现,肽与钙结合后通常会发生聚集现象,形成空间结构上的聚合物^[24,43]。Gravaghi等^[44]发现,酪蛋白磷酸肽(CPPs)的“Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu酸性基序”本身并不表现出钙吸收作用,只有与磷酸钙形成聚集复合物时才能诱导Ca²⁺流入HT-29细胞发挥生物学效应。此外,PEREGO等人对酪蛋白磷酸肽(CPP)与钙形成的聚集体进行了结构分析,确定了两个层次:一个是大约数百纳米尺寸的大规模结构(肽矩阵),另一个是更细分枝的较小亚结构,以网状无定形磷酸钙纳米团簇的形式排列。研究结果表明,没有钙离子时,CPP链不会发生聚集,而二价钙离子促进了CPP链的超分子结构的形成^[45]。

聚集现象的出现通常与肽与钙螯合后的构象变化以及分子间相互作用有关。Ferraretto等^[24]研究发现,钙与酪蛋白磷酸肽的“Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu”序列结合会引起肽骨干构象的变化,导致环状结构和 β 转角的出现。Wu等^[28]研究了海参卵子衍生肽(Asn-Asp-Glu-Glu-Leu-Asn-Lys),发现钙离子与NDEELNK肽上的Asp和Glu的两个羧基氧原子结合后,钙离子的配位诱导了该肽以 α 螺旋和随意线圈结构进行自组装,从而形成了具有晶体结构的纳米颗粒。

在分子间相互作用方面,Zhang等发现钙会屏蔽多肽链上的负电荷,作为大豆蛋白衍生肽聚集的盐桥。大豆蛋白衍生肽主要通过氢键和疏水相互作用与钙离子相互作用形成纳米颗粒^[46]。SUN等^[26]以鲱鱼卵肽(HEPPs)为研究对象,发现HEPPs-Ca纳米颗粒主要通过疏水相间作用、氢键和静电相互作用力形成。

肽与钙结合后形成的空间结构对其功能和生

物活性具有重要影响。这种空间结构可能包括螺旋、折叠、 β -折叠等形式,取决于肽序列以及与钙离子的相互作用^[47]。例如,许多钙结合蛋白中的肽段会形成 α -螺旋结构,这种结构能够与钙离子形成稳定的配位键^[48]。另外,一些肽可能会形成折叠结构,通过特定的氨基酸残基之间的相互作用与钙离子结合^[49]。这些结构的形成使得肽能够与钙离子有效地相互作用,并展现出特定的生物活性。

此外,肽与钙结合后的空间结构还可以影响其在细胞内的定位和功能。许多细胞内信号传导过程中都涉及到钙离子的调控,而肽与钙结合后的特定结构可以使其具有特异性,与细胞内的钙信号通路相互作用^[50]。例如,一些肽可能通过与细胞膜上的钙通道或钙离子传感器结合,调控细胞内钙离子浓度的变化,从而影响细胞功能和信号传导^[51]。

总的来说,肽与钙结合后会形成特定的空间结构,这种结构对肽的功能和生物活性至关重要。肽的空间结构可以通过多种相互作用力的参与形成,包括离子相互作用、氢键、疏水相互作用等。这些结构的形成不仅影响肽与钙离子的相互作用,还可能影响其在细胞内的定位和功能。因此,对肽的空间结构及其对构象的影响的研究对于理解肽与钙之间的相互作用机制具有重要意义。

3 结论与展望

本文综述了近年来从不同动物、水生资源和植物中提取的食品蛋白衍生的钙螯合肽。为了探索肽-钙螯合物的构效关系,重点分析了多肽的分子量、氨基酸序列组成、氨基酸的特异性基团以及肽-钙螯合物的空间构像对肽与钙结合能力的影响。研究发现,肽的分子质量对其与钙结合的影响并不明确。低分子质量的肽可能由于其较小的空间位阻,更易于在人体内被吸收和运输;而高分子质量的肽可能通过聚集作用增强了与钙的结合能力。此外,丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)通常作为磷酸化位点,磷酸化作用可以增强肽与钙的亲合力。然而,许多不含磷酸化残基的肽也表现出很强的钙螯合能力,这主要与酸性氨基酸和疏水性氨基酸有关。特定基团,如天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)的羧基、组氨酸(His)的咪唑基以及碱性氨基酸的氨基和亚氨基,常被认为是钙结合的位点。

此外,需要注意的是,肽与钙结合后通常会聚集形成特定的空间结构,从而促进钙的吸收。随着

钙螯合肽的深入研究,肽与钙的构效关系变得越来越清晰。未来的研究需要从分子动力学的角度探究多肽与钙的结合特性,进一步研究多肽与钙离子的配位机制,并通过三维空间建模获取具有高钙亲和力的钙螯合肽的空间结构,以进一步研究其空间结构对构效关系的影响。

参考文献:

- [1] WONGDEE K, RODRAT M, TEERAPORN PUNTAKIT J, et al. Factors Inhibiting Intestinal Calcium Absorption: Hormones and Luminal Factors that Prevent Excessive Calcium Uptake [J]. The Journal of Physiological Sciences, 2019, 69(5): 683-696.
- [2] LIU J C, TANG N, CHENG Y Q. Understanding the Factors Influencing the Ability of Calcium-Binding Peptides to Promote Calcium Absorption [J]. ACS Food Science & Technology, 2023, 3(3): 499-513.
- [3] RÉRAT A, NUNES C S, MENDY F, et al. Amino Acid Absorption and Production of Pancreatic Hormones in Non-Anaesthetized Pigs after Duodenal Infusions of a Milk Enzymic Hydrolysate or of Free Amino Acids [J]. British Journal of Nutrition, 1988, 60(1): 121-136.
- [4] YU X N, LIU X Y, ZHOU D Y. A Critical Review of a Typical Research System for Food-Derived Metal-Chelating Peptides: Production, Characterization, Identification, Digestion, and Absorption [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2024, 23(1): e13277.
- [5] BAO Z J, ZHANG P L, SUN N, et al. Elucidating the Calcium-Binding Site, Absorption Activities, and Thermal Stability of Egg White Peptide-Calcium Chelate [J]. Foods, 2021, 10(11): 2565.
- [6] JIANG Y, LIU X C, AHRNÉ L M, et al. Enthalpy-Entropy Compensation in Calcium Binding to Acid-Base Forms of Glycine Tyrosine Dipeptides from Hydrolysis of A-Lactalbumin [J]. Food Research International, 2021, 149: 110714.
- [7] GE X Y, ZHANG J, REGENSTEIN J M, et al. A-Lactalbumin: Functional Properties and Potential Health Benefits [J]. Food Bioscience, 2024, 60: 104371.
- [8] 柯泉, 胡晓, 杨贤庆, 等. 罗非鱼皮胶原蛋白肽-锌螯合物的制备及结构表征与体外消化分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 38-44.
- [9] ZHANG M, HE J L, PAN H Y, et al. Phosphorylation Modification of Tilapia Skin Gelatin Hydrolysate and Identification and Characterization of Calcium-Binding Peptides [J]. Process Biochemistry, 2023, 127: 1-9.
- [10] WANG T T, LIN S Y, CUI P B, et al. Antarctic Krill Derived Peptide as a Nanocarrier of Iron through the Gastrointestinal Tract [J]. Food Bioscience, 2020, 36: 100657.
- [11] LEE S H, SONG K B. Article Isolation of a Calcium-Binding Peptide from Enzymatic Hydrolysates of Porcine Blood Plasma Protein [J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2009, 52(3): 290-294.

- [12]CHOI D W, LEE J H, CHUN H H, et al. Isolation of a Calcium-Binding Peptide from Bovine Serum Protein Hydrolysates [J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(6): 1663-1667.
- [13]EL HAJJ S, IRANKUNDA R, CAMAÑO ECHAVARRÍA J A, et al. Metal-Chelating Activity of Soy and Pea Protein Hydrolysates Obtained after Different Enzymatic Treatments from Protein Isolates [J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134788.
- [14]LIU F R, WANG L, WANG R, et al. Calcium-Binding Capacity of Wheat Germ Protein Hydrolysate and Characterization of Peptide-Calcium Complex [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(31): 7537-7544.
- [15]LI L L, MA C M, YANG Y, et al. Exploring the Potential of Plant-Derived Metal Ion Binding Peptides: Preparation, Structure-Activity Relationship, and Biological Activities [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 152: 104650.
- [16]SUN N, JIN Z Q, LI D M, et al. An Exploration of the Calcium-Binding Mode of Egg White Peptide, Asp-His-Thr-Lys-Glu, and in Vitro Calcium Absorption Studies of Peptide-Calcium Complex [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(44): 9782-9789.
- [17]SUN N, WU H T, DU M, et al. Food Protein-Derived Calcium Chelating Peptides: a Review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 58: 140-148.
- [18]HOU H, WANG S K, ZHU X, et al. A Novel Calcium-Binding Peptide from Antarctic Krill Protein Hydrolysates and Identification of Binding Sites of Calcium-Peptide Complex [J]. Food Chemistry, 2018, 243: 389-395.
- [19]JUNG W K, KARAWITA R, HEO S J, et al. Recovery of a Novel Ca-Binding Peptide from Alaska Pollack (Theragra Chalcogramma) Backbone by Pepsinolytic Hydrolysis [J]. Process Biochemistry, 2006, 41(9): 2097-2100.
- [20]BAO X L, LV Y, YANG B C, et al. A Study of the Soluble Complexes Formed during Calcium Binding by Soybean Protein Hydrolysates [J]. Journal of Food Science, 2008, 73(3): C117-C121.
- [21]LV Y, BAO X L, YANG B C, et al. Effect of Soluble Soybean Protein Hydrolysate-Calcium Complexes on Calcium Uptake by Caco-2 Cells [J]. Journal of Food Science, 2008, 73(7): H168-H173.
- [22]JIANG B, MINE Y. Phosphopeptides Derived from Hen Egg Yolk Phosvitin: Effect of Molecular Size on the Calcium-Binding Properties [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2001, 65(5): 1187-1190.
- [23]LAO L H, HE J, LIAO W W, et al. Casein Calcium-Binding Peptides: Preparation, Characterization, and Promotion of Calcium Uptake in Caco-2 Cell Monolayers [J]. Process Biochemistry, 2023, 130: 78-86.
- [24]FERRARETTO A, GRAVAGHI C, FIORILLI A, et al. Casein-Derived Bioactive Phosphopeptides: Role of Phosphorylation and Primary Structure in Promoting Calcium Uptake by HT-29 Tumor Cells [J]. FEBS Letters, 2003, 551(1-3): 92-98.
- [25]黄海. 鲤鱼卵钙离子结合活性肽的制备及钙结合机制的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 111.
- [26]SUN N, WANG Y X, BAO Z J, et al. Calcium Binding to Herring Egg Phosphopeptides: Binding Characteristics, Conformational Structure and Intermolecular Forces [J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125867.
- [27]ZONG H, PENG L J, ZHANG S S, et al. Effects of Molecular Structure on the Calcium-Binding Properties of Phosphopeptides [J]. European Food Research and Technology, 2012, 235(5): 811-816.
- [28]WU X P, HU Y Y, ZHENG S H, et al. Food-Derived Calcium Chelating Peptides: Biological Functional Components for Better Calcium Bioavailability [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 150: 104595.
- [29]WALTERS M, ESFANDI R, TSOPMO A. Potential of Food Hydrolyzed Proteins and Peptides to Chelate Iron or Calcium and Enhance Their Absorption [J]. Foods, 2018, 7(10): 172.
- [30]BANSAL S, VACHHER M, BURMAN A. Calreticulin: a Quintessential Multifaceted Protein with Therapeutic Potential [J]. Journal of Proteins and Proteomics, 2023, 14(3): 187-200.
- [31]LIN S T, LI J, HU X, et al. Potential Dietary Calcium Supplement: Calcium-Chelating Peptides and Peptide-Calcium Complexes Derived from Blue Food Proteins [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 145: 104364.
- [32]王小林, 孔祥珍, 华欲飞, 等. 大豆分离蛋白肽钙螯合物的制备及表征 [J]. 中国油脂, 2017, 42(7): 50-54.
- [33]LIU X C, LIU J Y, SKIBSTED L H. Temperature Effect on Calcium Binding to Aspartate and Glutamate [J]. Food Research International, 2022, 159: 111625.
- [34]NEMIROVSKIY O V, GROSS M L. Determination of Calcium Binding Sites in Gas-Phase Small Peptides by Tandem Mass Spectrometry [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 1998, 9(10): 1020-1028.
- [35]ZHAO L N, HUANG S L, CAI X X, et al. A Specific Peptide with Calcium Chelating Capacity Isolated from Whey Protein Hydrolysate [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 10: 46-53.
- [36]LIU H, BAO X L, LV Y, et al. Separation and Evaluation of Soybean Protein Hydrolysates Prepared by Immobilized Metal Ion Affinity Chromatography with Different Metal Ions [J]. Journal of Chromatographic Science, 2012, 50(8): 714-720.
- [37]YANG W T, HE Y Z, TIAN Y, et al. Characterization and Mechanism of a Novel Rice Protein Peptide (AHVGMSCGEEPE) Calcium Chelate in Enhancing Calcium Absorption in Caco-2 Cells [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(15): 8569-8580.
- [38]PÉREZ A, RUZ M, GARCÍA P, et al. Nutritional Properties of Fish Bones: Potential Applications in the Food Industry [J]. Food Reviews International, 2024, 40(1): 79-91.
- [39]HU G H, LI X T, SU R N, et al. Effects of Sheep Bone Peptide-Chelated Calcium on Calcium Absorption and Bone Deposition in Rats Fed a Low-Calcium Diet [J]. Journal of Food Biochemistry, 2024, 2024: 8434888.

- [40] SCOGIN D A, BALDWIN T O, GENNIS R B. Studies on the Complex Formed between Bacitracin a and Divalent Cations [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1983, 742(1): 184–188.
- [41] CHEN Q R, GUO L D, DU F, et al. The Chelating Peptide (GPAGPHGPPG) Derived from Alaska Pollock Skin Enhances Calcium, Zinc and Iron Transport in Caco-2 Cells [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(5): 1283–1290.
- [42] TARAHI M, ABDOLALIZADEH L, HEDAYATI S. Mung Bean Protein Isolate: Extraction, Structure, Physicochemical Properties, Modifications, and Food Applications [J]. *Food Chemistry*, 2024, 444: 138626.
- [43] HUANG L H, CAI Y J, FANG F, et al. Recent Advance in the Valorization of Soy-Based By-Products: Extraction, Modification, Interaction and Applications in the Food Industry [J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 157: 110407.
- [44] GRAVAGHI C, DEL FAVERO E, CANTU' L, et al. Casein Phosphopeptide Promotion of Calcium Uptake in HT-29 Cells—relationship between Biological Activity and Supramolecular Structure [J]. *The FEBS Journal*, 2007, 274(19): 4999–5011.
- [45] PEREGO S, DEL FAVERO E, DE LUCA P, et al. Calcium Bio-accessibility and Uptake by Human Intestinal Like Cells Following in Vitro Digestion of Casein Phosphopeptide–Calcium Aggregates [J]. *Food & Function*, 2015, 6(6): 1796–1807.
- [46] ZHANG J, LIANG L, TIAN Z, et al. Preparation and in Vitro Evaluation of Calcium-Induced Soy Protein Isolate Nanoparticles and Their Formation Mechanism Study [J]. *Food Chemistry*, 2012, 133(2): 390–399.
- [47] 宋丽, 朱临娴, 宋璐杉, 等. 钙结合卵黄高磷蛋白磷酸肽的制备及其肽钙螯合物的结构表征[J]. *食品科学*, 2023, 44(6): 125–133.
- [48] 苑贤伟, 石梦园, 颜如玉, 等. 胶束酪蛋白复酶水解肽与钙形成螯合物的制备、表征及螯合机制[J]. *食品科学*, 2024, 45(20): 57–64.
- [49] 陈旺. 箭筈豌豆蛋白理化功能特性及其水解肽螯合钙机制的研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2022.
- [50] 周名洋, 何雨欣, 孙杨赢, 等. 鹅骨胶原蛋白钙螯合肽的分离纯化及结构鉴定[J]. *食品科学*, 2020, 41(22): 8–14.
- [51] 张婉悦, 王诗瑶, 杨平, 等. 草鱼鱼鳞胶原蛋白肽及其肽-钙螯合物的结构表征[J]. *现代农业研究*, 2019, 25(12): 98–100.