

## 食源肽螯合钙的研究进展

石 景, 邹 烨, 马晶晶, 杨 彪, 徐为民, 王道营, 杨 静

### Research Progress in Food-derived Calcium Chelated Peptides

SHI Jing, ZOU Ye, MA Jingjing, YANG Biao, XU Weimin, WANG Daoying, and YANG Jing

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070380>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 姜黄素乳液的研究进展

Recent Advances in Research of Curcumin Emulsion

食品工业科技. 2020, 41(1): 341-348 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.01.056>

#### 玉米低聚肽硒螯合物的理化性质及稳定性

Physicochemical Properties and Stability of Selenium-chelating Corn Oligopeptide

食品工业科技. 2018, 39(24): 67-71 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.24.012>

#### 不同包埋技术构建的食品级运载体系负载 $\beta$ -胡萝卜素的研究进展

Research progress in the food-grade delivery systems in different encapsulating technology loading beta-carotene

食品工业科技. 2017(03): 380-385 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.03.067>

#### 金针菇多糖螯合钙对广式腊肠品质的影响

Effect of *Flammulina velutipes* polysaccharide chelated calcium on the quality of Cantonese sausage

食品工业科技. 2017(16): 69-74 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.16.014>

#### 红鳍东方鱼皮胶原低聚肽螯合钙工艺优化

Optimization of Process of Collagen Oligopeptide Calcium-Chelating of *Takifugu rubripes* Skin

食品工业科技. 2019, 40(3): 147-152 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.03.024>

#### 牛骨源胶原蛋白肽的制备及其生理活性研究进展

Research Progress on Preparation and Biological Activity of Bovine Bone Collagen Peptides

食品工业科技. 2020, 41(15): 357-364 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.15.055>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

石景, 邹烨, 马晶晶, 等. 食源肽螯合钙的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(11): 460–467. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070380

SHI Jing, ZOU Ye, MA Jingjing, et al. Research Progress in Food-derived Calcium Chelated Peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(11): 460–467. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070380

· 专题综述 ·

## 食源肽螯合钙的研究进展

石 景<sup>1,2,3</sup>, 邹 烨<sup>1,2,4</sup>, 马晶晶<sup>1,2,4</sup>, 杨 彪<sup>1,2,4</sup>, 徐为民<sup>1,2,4</sup>, 王道营<sup>1,2,4,\*</sup>, 杨 静<sup>1,2,4,\*</sup>

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014;

2. 省部共建国家重点实验室培养基地/江苏省食品质量安全重点实验室, 江苏南京 210014;

3. 南京农业大学食品科技学院, 江苏南京 210095;

4. 农业农村部农产品冷链物流技术重点实验室, 江苏南京 210014)

**摘要:** 钙是人体必需的营养物质, 在生命健康中起着重要作用。钙摄入不足常会引发骨质疏松、佝偻病等诸多疾病。近年来随着越来越多的肽螯合钙从食物中制备出来, 肽螯合钙稳定性好、生物利用度高等优点备受关注, 它也在诸多研究中被视为一类理想的钙源补充剂。本文就食源性肽螯合钙的研究进展进行概述, 介绍了肽螯合钙的制备及分离纯化方法, 分析了影响其螯合能力的因素, 并探讨了其促进钙生物利用度的方式, 为肽螯合钙今后在功能性食品上的开发利用提供帮助。

**关键词:** 肽螯合钙, 分离纯化, 融合能力, 稳定性, 生物利用度

中图分类号: TS251

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)11-0460-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070380

本文网刊:



## Research Progress in Food-derived Calcium Chelated Peptides

SHI Jing<sup>1,2,3</sup>, ZOU Ye<sup>1,2,4</sup>, MA Jingjing<sup>1,2,4</sup>, YANG Biao<sup>1,2,4</sup>, XU Weimin<sup>1,2,4</sup>,  
WANG Daoying<sup>1,2,4,\*</sup>, YANG Jing<sup>1,2,4,\*</sup>

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China;

2. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, A National Key Laboratory Training Base Jointly  
Established by the Ministry and the Province, Nanjing 210014, China;

3. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

4. Key Laboratory of Agricultural Products Cold Chain Logistics Technology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,  
Nanjing 210014, China)

**Abstract:** Calcium is an essential nutrient and plays an important role in life and health. Insufficient calcium intake in the body can lead to kinds of diseases, such as rickets and osteoporosis. As more and more calcium chelated peptides are prepared from food in recent years, the advantages of calcium chelated peptides like good stability and high bioavailability have attracted much attention and calcium chelated peptides have been reported to be a kind of ideal calcium supplements. In this paper, the research progress of calcium chelated peptide is summarized, the preparation, separation and purification methods of calcium chelated peptide are introduced, the factors affecting its chelating ability are analyzed, and the ways to promote the bioavailability of calcium are also discussed, in order to provide help for the development and utilization of calcium chelated peptide in functional foods in the future.

**Key words:** calcium chelated peptide; isolation and purification; chelated ability; stability; bioavailability

钙是人体的重要组成物质。除了维持骨骼健康  
外, 钙还参与各种生理功能, 如参与血液凝固、肌肉

收缩、糖原代谢以及细胞增殖和分化等<sup>[1]</sup>。钙缺乏是  
一个全球性的公共卫生问题, 儿童若长期缺钙将导致

收稿日期: 2022-08-02

基金项目: 江苏省自然科学基金青年科学基金项目 (BK20210160); 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-41)。

作者简介: 石景 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 禽肉品加工与质量研究, E-mail: yuyuss29@163.com。

\* 通信作者: 王道营 (1979-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 肉品加工与质量控制, E-mail: wdy0373@aliyun.com。

杨静 (1986-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 肉品及其副产物加工, E-mail: 20210007@jaas.ac.cn。

生长发育缓慢, 易患佝偻病, 老年人缺钙易患骨质疏松症等疾病<sup>[2]</sup>, 可以通过增加膳食钙的摄入和吸收来改善这种现象。

近年来, 研究中提到的膳食钙补充剂有碳酸钙、柠檬酸钙、乳酸钙、葡萄糖酸钙和肽螯合钙等。与其他钙补充剂相比, 肽螯合钙溶解性更高, 生物利用度更好, 对人体胃肠道的刺激也更少<sup>[3]</sup>。所以现在的研究普遍认为, 钙肽螯合物可能是更佳的钙补充剂, 在改善人体胃肠道对钙的吸收上拥有巨大潜力。目前, 已经从动物、植物中制备出许多具有钙结合能力的多肽, 如鸡肉蛋白钙螯合肽<sup>[4]</sup>、太平洋鳕鱼骨胶原肽螯合钙<sup>[5]</sup>和大豆肽螯合钙<sup>[6]</sup>等。由于肽的分子量、氨基酸及肽钙结合方式对肽螯合钙的能力有显著影响, 对此也展开了一系列研究。此外, 肽螯合钙可以促进钙吸收, 了解肽螯合钙在人体内的吸收途径, 并利用细胞模型及动物试验有助于增加其对提高钙的生物利用度的认知。

本文对肽螯合钙的最新研究进展进行综述, 主要包括肽螯合钙的制备及分离纯化方法, 对肽螯合钙螯合能力的影响因素以及肽螯合钙对钙的生物利用度的促进作用, 以期对肽螯合钙的应用和相应功能性产品的研究开发提供帮助。

## 1 肽螯合钙的制备及分离纯化

肽螯合钙是钙离子通过配位键与肽连结而形成的具有环状结构的配合物。目前, 关于肽螯合钙的制备及分离纯化方法较多。本文对部分食源性肽螯合钙的制备及分离纯化方法进行了总结, 见表 1。

### 1.1 肽螯合钙的制备方法

肽螯合钙的制备首先通过不同方法获取多肽, 然后加入氯化钙等钙源与多肽进行反应。植物、动物、水产品及其副产物等富含蛋白质的食品都是多肽的良好来源。以食品蛋白质为原料得到多肽的常见方法有酶解法、微生物发酵法、酸水解法及碱水解法等。酸水解法及碱水解法虽然方法简单, 价格低廉, 但该技术不符合安全环保的要求, 所以使用相对较少。

**1.1.1 酶解法** 酶解法是指用合适的酶将食物蛋白质进行水解, 进而得到多肽。它具有可行性高、反应条件温和、安全性好等优点, 所以应用最为广泛。该法常用的酶有胰蛋白酶、碱性蛋白酶、复合蛋白酶等。周名洋等<sup>[7]</sup>以鹅骨胶原蛋白为原料, 利用碱性蛋白酶酶解得到了两条不同肽序的多肽, 且钙螯合能力分别为  $70.08\pm2.20\text{ mg/g}$  和  $68.18\pm1.31\text{ mg/g}$ 。王孟丽等<sup>[8]</sup>考察了碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶及风味蛋白酶对花生肽-钙螯合率的影响, 发现碱性蛋白酶的螯合率最高。此外, 除了采用单一酶制备多肽外, 还有研究采用不同蛋白酶复合使用的方法, 以提高多肽的水解程度及与钙的螯合能力。Wu 等<sup>[9]</sup>研究结果发现与单酶相比, 碱性蛋白酶和中性蛋白酶两者的协同作用能显著提高多肽的钙结合能力。魏新颜<sup>[4]</sup>以鸡肉蛋白为原料, 研究了木瓜蛋白酶、风味蛋白酶两种单酶和一步及分步酶解四种酶解方式对其与钙螯合的影响, 发现分步酶解后的多肽具有最好的钙螯合力, 达到  $58.21\text{ mg/g}$ 。此外, 酶解工艺如酶解时间、酶解温度的不同也会影响多肽与钙的螯合能力。吴长平等<sup>[10]</sup>优化了鳗鱼肽螯合钙的制备工艺, 并获得最佳螯合条件。孙博<sup>[11]</sup>也对芝麻蛋白多肽螯合钙的酶解工艺进行优化, 并提升了芝麻蛋白多肽的水解度。

酶的特异性、酶解方法以及肽的水解程度的不同会得到不同序列的多肽, 进而影响多肽与钙的螯合能力<sup>[12]</sup>, 因此在实际应用中, 不仅要挑选合适的酶, 也要优化酶解工艺, 保证酶解效果, 从而获取螯合能力最好的多肽。

**1.1.2 微生物发酵法** 微生物发酵法利用蛋白酶产生菌产酶水解蛋白从而获取多肽。较酶解法而言, 它具有成本低、蛋白酶产量高等优点<sup>[13]</sup>。孙晓富等<sup>[14]</sup>以牛骨粉和大豆粉为主要原料, 采用纳豆芽孢杆菌 SWS-001 发酵制备多肽螯合钙, 多肽螯合钙含量最高达到  $707.47\pm32.16\text{ mg/L}$ 。Wang 等<sup>[15]</sup>利用枯草芽孢杆菌进行液体发酵, 得到黄瓜种子肽, 并发现分子

表 1 肽螯合钙的制备及分离纯化技术

Table 1 Preparation, isolation and purification of calcium chelated peptides

蛋白质来源	制备方法	分离纯化方法	螯合能力	参考文献
鹅骨	酶解法	凝胶过滤色谱法、反相高效液相色谱法	$70.08\pm2.20\text{ mg/g}$ $68.18\pm1.31\text{ mg/g}$	周名洋等 <sup>[7]</sup>
猪	酶解法	—	—	Wu 等 <sup>[9]</sup>
鳗鱼	酶解法	—	$56.78\text{ mg/g}$	吴长平等 <sup>[10]</sup>
牛、大豆	发酵法	—	$707.47\pm32.16\text{ mg/L}$	孙晓富等 <sup>[14]</sup>
黄瓜	发酵法	超滤	—	Wang 等 <sup>[15]</sup>
羊	酶解法、发酵法	—	—	Wang 等 <sup>[17]</sup>
海参	化学合成法	—	—	Cui 等 <sup>[32]</sup>
小麦	酶解法	超滤、阴离子交换色谱法、凝胶过滤色谱法、反相高效液相色谱法	—	Wang 等 <sup>[21]</sup>
南极磷虾	酶解法	羟基磷灰石色谱法、尺寸排除色谱法、反相高效液相色谱法	$0.134\text{ mmol/g}$	Hou 等 <sup>[24]</sup>
太平洋鳕鱼	酶解法	羟基磷灰石色谱法、反相高效液相色谱法	$2.53\pm0.12\text{ }\mu\text{g/mg}$	Zhang 等 <sup>[5]</sup>
蛋黄	酶解法	阴离子交换色谱法、凝胶过滤色谱法、反相高效液相色谱法	$151.10\pm3.57\text{ mg/g}$	Zhang 等 <sup>[26]</sup>
米	酶解法	体积排阻色谱法、反相高效液相色谱法	$136.2\pm0.75\text{ mg/g}$	李超楠 <sup>[29]</sup>

量<6 kDa 的黄瓜种子肽与钙的螯合能力最强。但是有很多的产酶菌株会对机体产生毒害,并且生产过程中蛋白质利用率较低<sup>[16]</sup>,生物活性难以得到保证。因此将发酵法投入实际生产,还需要提高生产效率,并确保产物的安全。此外,两种制备方法也可结合使用。Wang 等<sup>[17]</sup>采用酶解和乳酸杆菌发酵相结合的方法制备了游离钙含量高的胶原肽。

## 1.2 肽螯合钙的分离纯化方法

制备得到的肽螯合钙通常是多组分肽的混合物,为了获得纯度更高、活性更好的肽段,需要对具有结合活性的肽段进行分离纯化。目前分离纯化的常用方法有超滤法、羟基磷灰石色谱法、凝胶过滤色谱法及反相高效液相色谱法等。这些方法单独使用很难达到理想的螯合效果,因此许多研究都是将这些方法交联使用,通过多步纯化来提高多肽的获取率与纯度。

**1.2.1 超滤法** 超滤是一种以压力差为推动力,利用不同孔径的超滤膜截留大分子物质的膜分离方法<sup>[18]</sup>。这一方法方便、快捷,但也存在易结垢和膜堵塞、难以过滤大分子,以及样品量大等缺点<sup>[19]</sup>。Yang 等<sup>[20]</sup>以白鲢鱼皮为原料,用超滤膜制备了低分子量( $\leq 3$  kDa)胶原肽,将胶原肽与钙离子结合,形成了具有作为膳食钙补充剂应用潜力的肽钙螯合物。Wang 等<sup>[21]</sup>利用超滤法将小麦水解物分别水解成分子量<1 kDa、1~3 kDa 以及>3 kDa 的肽段,并发现大分子量肽(>3 kDa)不利于钙的结合。

**1.2.2 羟基磷灰石色谱法** 因羟基磷灰石与肽之间存在较强的亲合作用,羟基磷灰石色谱法也适合用于多肽分离领域<sup>[22]</sup>。然而羟基磷灰石材料作为色谱柱填料时会使液相流动的阻力较大,这在一定程度上限制了它的大规模应用<sup>[23]</sup>。Hou 等<sup>[24]</sup>利用虾蛋白酶从南极磷虾中制备具有高钙结合能力的多肽,并采用羟基磷灰石色谱纯化了肽结合钙。Zhang 等<sup>[5]</sup>用羟基磷灰石特异性亲和层析和反相高效液相色谱法,从太平洋鳕鱼骨明胶水解物中分离纯化出了一种具有较强钙结合活性的多肽,肽序鉴定为 KGDPGLSPGK。

**1.2.3 凝胶过滤色谱法** 凝胶过滤色谱法利用不同孔径大小的凝胶,根据不同相对分子质量的蛋白质在柱中的洗脱时间不同,从而收集得到具有目标分子量的蛋白质。Chen 等<sup>[25]</sup>采用 Sephadex G-15 凝胶色谱法和反相高效液相色谱法对扁舵鲣螯合钙进行序列纯化。Zhang 等<sup>[26]</sup>以钙螯合率为指标,采用阴离子交换色谱法、凝胶过滤色谱法和反相高效液相色谱法逐步分离磷维素水解产物,使钙螯合率相比未纯化前提高了 2.69%。凝胶过滤色谱法操作简便,样品回收率高,适用于蛋白质、多肽、多糖等各种生化物质,但是对于分子量相近的物质则难以分离。

**1.2.4 反向高效液相色谱法** 反向高效液相色谱技术是基于多肽混合物和固定相之间疏水性不同达到纯化效果的一种色谱分离技术,常用于多肽分离纯化的最后阶段<sup>[27]</sup>。陈铭<sup>[28]</sup>通过凝胶层析和反向高效

液相色谱,从扁舵鲣鱼肽中纯化出了一种高得率、高钙含量以及高吸收率的肽螯合钙。李超楠<sup>[29]</sup>以碎米为原料制备米蛋白,通过体积排阻色谱和反向高效液相色谱对螯合物进行了分离纯化。由于 RP-HPLC 具有稳定性好、分离效率高、适用性广等优点,因此被广泛应用于生物活性肽的分离纯化<sup>[30]</sup>。

分离纯化后的多肽,通常采用质谱或质谱联合其他技术进行序列鉴定,如液相色谱-电喷雾电离质谱、超高效液相色谱-串联质谱、基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱来鉴定纯化后得到的多肽序列。Bao 等<sup>[31]</sup>用金属螯合离子亲和层析法分离葵花籽肽 SSP4 和花生肽 PP1,并利用高效液相色谱-电喷雾电离-时间飞行质谱对其氨基酸序列进行了表征,分别从中鉴定出 7 种和 8 种肽。

## 2 影响肽螯合钙的螯合能力的因素

目前研究肽螯合钙的螯合能力的方法有质谱法、紫外可见光谱法和红外光谱法等。并且有研究表明,多肽的结构特征,包括分子量、氨基酸组成和多肽序列等,是影响其钙螯合能力的关键因素<sup>[33]</sup>。

### 2.1 多肽分子量

不同分子量的多肽与钙的结合能力有所不同。表 2 展示了以食品蛋白质为来源的不同肽螯合钙的分子量。Bao 等<sup>[31]</sup>发现葵花籽和花生水解蛋白超滤组分 PP1( $\geq 10$  kDa)的钙结合能力最高,为 124.70 mg/g。高敏<sup>[34]</sup>选取牛骨粉为原料,制备牛骨多肽螯合钙,分子量分布结果显示在 500~5000 Da 分子量范围内的多肽螯合效果较好。孙博<sup>[11]</sup>提出分子量小于 3000 Da 的玉米多肽更易与钙结合。Tam 等<sup>[35]</sup>利用风味酶对虾进行水解,发现<1 kDa 组分的肽段钙螯合能力最高。

表 2 以蛋白质为来源的肽螯合钙的分子量

Table 2 The mass weight of calcium chelated peptides from different protein sources

蛋白质来源	氨基酸序列	钙螯合活力	分子量(Da)	文献
鸡蛋	DEEENDQVK	151.10 $\pm$ 3.57 mg/g	1106.44402	Zhang 等 <sup>[26]</sup>
南极磷虾	VLGYIQIR	—	960.58	Hou 等 <sup>[24]</sup>
扁舵鲣	EPAH	76.8 $\pm$ 4.5 mg/g	453.3	Chen 等 <sup>[25]</sup>
乙炔对虾	YEIPAEDL	—	948.4	Tam 等 <sup>[35]</sup>
小麦胚芽	FVDVT	89.94% $\pm$ 0.75%	—	Wang 等 <sup>[21]</sup>
罗非鱼	GPAGPHGPVG FDHIVY YQEPVIAPKL	18.80 $\pm$ 0.49 mg/g 35.73 $\pm$ 0.74 mg/g 28.4 $\pm$ 0.94 mg/g	—	Liao 等 <sup>[36]</sup>
罗非鱼	YGTGL LVFL	76.03 $\mu$ g/mg 79.50 $\mu$ g/mg	509.25 490.32	Liu 等 <sup>[37]</sup>
酪蛋白	VLPVPQK	129.46 mg/g	779.4960	Liao 等 <sup>[38]</sup>
裂殖壶菌	SSV	136.68 $\pm$ 4.6 $\mu$ g/mg	291.15	Zhang 等 <sup>[39]</sup>
裂殖壶菌	FY	128.77 $\pm$ 2.57 $\mu$ g/mg	—	Cai 等 <sup>[40]</sup>
海参	NDEELNK	—	—	Cui 等 <sup>[41]</sup>

目前多数研究表明分子量相对较小的多肽与钙的螯合效果更好,但是不同研究中对于分子量影响肽螯合能力的结论仍存在一定的差异。这可能是由于肽的来源、分离纯化肽的方法,以及评价钙螯合活性方法的不同等造成的。如何改善不同来源的肽螯合钙的螯合能力还有待继续探索。

## 2.2 多肽的氨基酸组成

钙的结合能力不仅与多肽的分子量有关, 还与其氨基酸组成有关。关于肽螯合钙中有助于螯合的氨基酸, 报道最多的有谷氨酸、天冬氨酸、组氨酸、半胱氨酸等<sup>[33]</sup>。刘晓容等<sup>[42]</sup>通过对比乳源钙螯合肽前后氨基酸的组成变化, 发现谷氨酸、丝氨酸和天冬氨酸对钙螯合活性的贡献较大。Huang 等<sup>[43]</sup>发现, 蛋清肽钙螯合物中天冬氨酸、谷氨酰胺、赖氨酸、苏氨酸、甘氨酸和半胱氨酸在钙结合中起重要作用。

酸性氨基酸是蛋白质和多肽提高钙结合能力的重要氨基酸<sup>[44]</sup>。吴长平等<sup>[10]</sup>在鳗鱼肽与钙的螯合反应中发现谷氨酸和天冬氨酸等酸性氨基酸发挥了巨大作用。Sun 等<sup>[45]</sup>也提出海参卵泡水解物与钙结合时, 谷氨酸和天冬氨酸的羧基是主要的钙结合位点, 并且酸性氨基酸的相对含量有显著增加。此外, 有研究提出纯化后的多肽中的疏水氨基酸也可以提供更多的肽钙螯合空间<sup>[37]</sup>。

## 2.3 结合方式

目前关于肽钙螯合物的螯合机制, 主要有磷酸基-钙、羧基-钙、氨基-钙等方式, 其中羧基-钙最为常见<sup>[26]</sup>。有研究认为钙离子可以与羧基氧原子和氨基氮原子以及酰胺键上的氮、氧原子形成配位键<sup>[46]</sup>。钱跃威等<sup>[47]</sup>的荧光光谱、傅立叶变换红外吸收光谱和扫描电镜结果表明, 钙离子可能与鳗鱼骨胶原肽中的色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的氨基氮和羧酸基的氧原子相互作用, 形成了鳗鱼骨胶原肽钙螯合物。Chen 等<sup>[25]</sup>通过红外光谱和质谱分析, 发现钙结合肽的结合位点有谷氨酸的羧基, 组氨酸的羧基和氨基以及组氨酸残基。Bao 等<sup>[48]</sup>利用红外光谱和拉曼光谱, 表明蛋白肽可以通过羧基、磷酸和氨基与钙进行螯合, 肽键也可能参与肽-钙结合。Jiang 等<sup>[49]</sup>通过结构表征也表明了类似观点, 认为钙离子主要与羧基氧、羟基氧、氨基氮和酰胺键等肽中存在的结合位点发生反应。

Fang 等<sup>[50]</sup>发现氨基酸通过配位或静电相互作用提供更多的反应性侧链与钙离子结合, 是钙离子的主要结合位点。Sun 等<sup>[44]</sup>发现鲱鱼蛋磷酸肽-钙配合物主要是由羧基或磷酸丝氨酸残基与正二价钙离子相互作用形成的。此外, 当羟基、胺或羧酸盐等配位基团出现在肽的侧链中时, 会产生强烈的相互作用。

钙在不同结合位点上的螯合模式也不尽相同, 目前研究中提出的螯合模式包括单齿模式、双齿模式和  $\alpha$  模式。陈铭<sup>[28]</sup>利用 SephadexG-15 凝胶层析和反相高效液相色谱从扁舵鲣鱼蛋白肽中分离纯化出一种新的钙结合肽, 发现其与钙离子的结合模式为谷氨酸的羧酸基团以双齿模式与钙离子结合, 组氨酸的羧酸基团和氨基以  $\alpha$  模式与钙离子结合。Luo 等<sup>[51]</sup>结合紫外-可见光、傅立叶变换红外吸收光谱和等温滴定量热法和分子动力学模拟, 揭示了  $\beta$  酪蛋白磷

酸肽的钙结合行为, 可以通过三种配位模式, 包括单齿、双齿和三齿模式携带六个钙离子, 并且钙结合位点主要位于谷氨酸 Glu-2 的羧基和磷酸化色氨酸 Ser-15、Ser-18 和 Ser-19 的磷酸基上。Cui 等<sup>[32]</sup>也证实了钙离子与海参卵肽上的天冬氨酸和谷氨酸的两个羧基氧原子以单体形式特异性地结合, 即“双齿”模式。

## 3 促进钙生物利用度的方式

多肽作为配体具有能耗低、运输速度快、载体饱和小等优点, 可与钙离子形成可溶性稳定螯合物<sup>[3]</sup>, 弥补了其他钙补充剂如无机钙、有机钙等生物利用度较低的缺点。钙补充剂通过口服进入人体内, 经胃肠消化时, 易受多种因素如 pH、草酸和各种消化酶影响, 导致生物利用度降低。评价钙生物利用度的方法主要通过体外模拟消化、Caco-2 细胞及动物实验等。

### 3.1 体外模拟消化

一般来说, 钙肽螯合物的溶解性会影响其消化吸收效果。Cai 等<sup>[40]</sup>从裂殖质蛋白水解物中纯化出了具有钙结合能力的多肽, 将多肽与钙结合后, 证实结合物具有优异的热稳定性和溶解性, 有利于其在人体肠道中的运输和吸收。Fang 等<sup>[50]</sup>制得的核桃蛋白水解物与钙的螯合物也表现出了相似的效果。

除其自身的溶解性外, 植酸、单宁酸、草酸和磷酸等膳食成分, 也会与钙结合形成不溶性复合物, 降低钙的溶解度, 从而抑制钙的吸收<sup>[49]</sup>。Wu 等<sup>[52]</sup>制得的章鱼碎片蛋白水解物与钙的螯合物能够保护钙离子免受膳食抑制剂单宁酸和植酸盐引起的沉淀。海参卵泡水解物与钙的复合物在草酸盐等饮食成分的存在下, 仍可以保持钙的溶解度<sup>[45]</sup>。

在消化过程中, 由于胃蛋白酶和胰蛋白酶的降解以及环境 pH 的变化, 肽螯合钙会被分解成小肽和游离氨基酸, 所以肽螯合钙如果要用作新一代膳食钙补充剂, 还需要考虑它在经消化后的钙保留率。黄海等<sup>[53]</sup>发现鲤鱼卵肽钙复合物具有较高的抗消化性, 经过胃蛋白酶、胰蛋白酶共同作用后, 仍保留了消化酶作用前的持钙能力, 达到 89.69%。张玲<sup>[54]</sup>在对罗非鱼皮胶原蛋白肽螯合钙进行体外模拟消化时还发现胰蛋白酶的影响作用比胃蛋白酶要大。牛骨胶原多肽在热加工和胃肠道消化过程中都是稳定的, 酸性环境是其分解的主要因素<sup>[55]</sup>。王俊强<sup>[6]</sup>在体外模拟消化实验中发现, 大豆肽钙螯合物长时间处于酸性条件下同样会发生一定程度的解离, 而在模拟十二指肠及小肠消化过程中则具有良好的稳定性。

### 3.2 肽螯合钙促进钙的吸收

提高钙的生物利用度, 不仅需要提高其在消化过程中的保留率, 还需要提高其在肠道中的有效吸收。肽吸收途径包括被动的胞外扩散、囊泡介导的寡肽胞内转运(胞吞作用)、肽转运体(PepT1)介导的渗透和通过肠道上皮细胞的胞外转运, 以完整或活性

的形式通过肠上皮细胞膜运输<sup>[56]</sup>。Hou 等<sup>[57]</sup>提出脱盐鸭蛋清多肽与钙结合形成可溶性螯合物, 并以小肽形式被肠上皮细胞吸收, 从而促进钙吸收; 并且脱盐鸭蛋清多肽通过与瞬时受体电位相互作用调控肠上皮细胞的增殖和分化。蛋清肽钙螯合物促进钙吸收的途径包括钙离子通道  $Ca_v1.3$ 、胞吞途径和细胞旁路途径<sup>[58]</sup>。酪蛋白磷酸肽(CPPs)是磷酸-钙螯合模式的代表性肽。CPPs 被磷酸化后与钙结合, 具有良好的补钙效果<sup>[3]</sup>, 这说明磷酸化修饰有助于钙离子与多肽的结合, 在提高钙的生物利用度中起着重要作用。

Caco-2 细胞系具有与肠道上皮细胞相似的结构和功能, 可用于模拟药物或营养物质的肠道吸收过程<sup>[59]</sup>。因此目前 Caco-2 动物细胞模型被广泛用于研究肽螯合钙促进钙吸收的作用。来自海洋植物 *Schizochytrium* sp. 的二肽与钙的螯合物可以提高肠细胞对钙的吸收, 钙吸收量是  $CaCl_2$  的 3 倍, 并且它可以保护钙离子免受膳食抑制剂(如单宁酸、草酸、植酸和  $Zn^{2+}$ )的影响<sup>[40]</sup>。Sun 等<sup>[60]</sup> 使用 Caco-2 细胞在体外研究了蛋清蛋白水解物与钙的螯合物在改善钙吸收上的作用。结果表明, 这一螯合物通过促进钙流入细胞质基质, 提高了 Caco-2 细胞单分子层对钙的吸收, 比对照的  $CaCl_2$  提高了 7 倍以上。刘玉玉等<sup>[61]</sup> 利用 Caco-2 单层模型, 模拟了低浓度白鲢鱼皮胶原肽钙螯合物与  $CaCl_2$  的吸收, 发现相比于  $CaCl_2$ , 白鲢鱼皮胶原蛋白肽钙螯合物可以促进钙在细胞水平的吸收转运。

此外, 动物模型也常常用于肽螯合钙对钙的生物利用度的影响。许家宝等<sup>[62]</sup> 通过小鼠灌胃实验发现, 芝麻蛋白多肽螯合钙对小鼠股骨生长有促进作用, 提高了骨钙含量, 且效果明显优于葡萄糖酸钙和碳酸钙。Peng 等<sup>[63]</sup> 从太平洋鳕鱼骨中提取了高钙亲和力的骨胶原肽, 通过动物实验, 发现骨胶原肽可以有效降低钙的排泄, 增加钙的吸收, 使钙化达到正常水平, 改善股骨的重量和长度, 该研究表明它可以提高钙的生物利用度, 在预防钙缺乏症方面具有潜在的应用价值。Hua 等<sup>[64]</sup> 以低钙饲粮大鼠为实验对象, 研究了核小球藻蛋白水解物-钙螯合物对钙吸收的影响, 提出核蛋白原小球藻水解蛋白螯合钙通过影响相关基因表达、增强快速生长大鼠骨组织、提高钙吸收利用、调节肠道菌群等途径促进肾脏钙吸收。

### 3.3 提高肽螯合钙生物利用度的新技术

部分肽螯合钙尚存在一些问题, 如有一定的苦味、生物利用度欠佳等, 一些研究采用了纳米技术及微胶囊技术等对此进行改善。

Zhang 等<sup>[65]</sup> 采用动态高压微流态化和非动态高压微流态化薄膜分散法制备了蛋白肽钙复合物的纳米脂质体, 并证明了该纳米脂质体有效地减缓了胃消化过程中钙的释放, 使更多的钙进入肠道。此外, 海参卵生七肽与钙的纳米复合物可以显著增强钙在

Caco-2 细胞单分子层的吸收<sup>[32]</sup>。这说明纳米技术可以为肽螯合钙提供新的输送系统, 增强其理化稳定性以及生物利用度<sup>[66]</sup>。

Mi 等<sup>[67]</sup> 通过微胶囊化技术, 以海藻酸盐和壳聚糖为壁材, 解决了磷酸化类人胶原钙螯合物作为钙补充剂时, 生物利用度易受胃肠道中极低的 pH 和蛋白水解酶影响的问题。其动物实验表明, 微胶囊技术的运用显著提高了磷酸化类人胶原钙螯合物治疗骨质疏松症的疗效, 表明微胶囊化对磷酸化类人胶原钙螯合物的生物利用度具有一定的应用意义。Zhang 等<sup>[65]</sup> 采用薄膜分散法制备了含有蛋白肽钙复合物的纳米脂质体和粗脂质体。蛋白肽钙复合物负载的纳米脂质体有效地减缓了胃消化中钙的释放, 使更多的可溶性钙进入肠道, 并且含蛋白肽钙复合物的纳米脂质体比粗脂质体具有更好的稳定性。因此, 蛋白肽钙复合物负载的纳米脂质体可以掺入钙强化食品中, 以增强钙的输送, 从而维持骨骼健康。Zhao 等<sup>[68]</sup> 通过壳聚糖低聚糖与三聚磷酸的凝胶化相互作用获得一种新的钙输送系统, 并将脱盐鸭蛋清肽-钙螯合物包封以制备微胶囊, 并表明微胶囊化的脱盐鸭蛋清肽-钙螯合物可以促进体内肠细胞中钙的吸收, 从而降低骨质疏松症的风险, 改善肠道健康。

微胶囊技术虽然增加了肽螯合钙商业化的可能性, 但是它们的运用也面临一些困境。包埋材料的选择是最大挑战之一, 尤其是适用于食品的包埋材料范围有限, 控释评价和生物利用度的研究尚不充分, 成本和规模扩大也是需要考虑的因素。同时, 在应用这一技术时, 还应考虑产品的抗氧化性能、化学、物理和感官质量等。

### 4 结论与展望

本文概述了肽螯合钙的最新研究进展, 包括肽螯合钙的制备、分离及纯化方法, 影响肽螯合钙的螯合能力的因素, 以及促进钙生物利用度的方式。肽螯合钙的制备、分离及纯化虽然方法各异, 但主要都以提高钙螯合率为目的。此外, 钙肽螯合物提高钙的生物利用度与钙肽复合物在胃肠道消化过程中的稳定性, 肠道钙的有效吸收等多种因素有关。虽然肽螯合钙的研究现在已经有了一定成果, 但是一些方面的研究尚不明确, 一是肽钙螯合的具体螯合机制; 二是肽螯合钙在肠道内的吸收转运途径, 及其促钙吸收的作用机理; 三是肽螯合钙作为食品成分的安全性评价仍然缺少, 并且肽螯合钙的补钙潜力的证明仍不充分。未来应该围绕这些方面做更多研究, 以期丰富肽螯合钙作为膳食钙补充剂的理论依据。此外, 肽螯合钙如何结合现代加工技术, 更好投入生产工艺也还需进一步探索。

### 参考文献

- [1] PALACIOS C, HOFMEYR G J, CORMICK G, et al. Current calcium fortification experiences: A review[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2020, 1484(1).

- [ 2 ] 汪学荣, 彭顺清, 吴峰. 钙代谢及生理功能研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2005(2): 42–44. [ WANG X R, PENG S Q, WU F. The study progress on metabolism and physio logical functions of calcium[J]. China Food Additives, 2005(2): 42–44. ]
- [ 3 ] ZHANG M, LIU K. Calcium supplements and structure–activity relationship of peptide-calcium chelates: a review[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2022, 31(9): 1111–1122.
- [ 4 ] 魏新颜. 鸡肉蛋白钙螯合肽的制备及螯合性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [ WEI X Y. Preparation and chelation properties of chicken protein calcium chelating peptide[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019. ]
- [ 5 ] ZHANG K, LI J, HOU H, et al. Purification and characterization of a novel calcium-biding decapeptide from *Pacific cod* (*m*) bone: Molecular properties and calcium chelating modes[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 52: 670–679.
- [ 6 ] 王俊强. 大豆肽钙螯合物的结合机理及其性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019. [ WANG J Q. Study on binding mechanism and properties of calcium-binding soy peptides[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019. ]
- [ 7 ] 周名洋, 何雨欣, 孙杨瀛, 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. [ ZHOU M Y, HE Y X, SUN Y Y, et al. Isolation, Purification and structural identification of calcium-chelating peptides from goose bone collagen hydrolysate[J]. Food Science, 2020, 41(22): 8–14. ]
- [ 8 ] 王孟丽, 布冠好, 陈复生, 等. 花生肽-钙螯合物的制备及其结构表征[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(5): 47–54, 76. [ WANG M L, BU G H, CHEN F S, et al. The preparation and structural characterization of peanut peptide-calcium chelate[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2021, 42(5): 47–54, 76. ]
- [ 9 ] WU W, HE L, LIANG Y, et al. Preparation process optimization of pig bone collagen peptide-calcium chelate using response surface methodology and its structural characterization and stability analysis[J]. *Food Chemistry*, 2019, 284: 80–89.
- [ 10 ] 吴长平, 钟芳芳, 霍国昌, 等. 鳗鱼钙螯合肽制备工艺研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(1): 181–187. [ WU C P, ZHONG F F, HUO G C, et al. Study on the preparation for calcium-chelating peptides from eel protein[J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(1): 181–187. ]
- [ 11 ] 孙博. 玉米多肽螯合钙的制备及表征[D]. 长春: 吉林大学, 2019. [ SUN B. Preparation and characterization of calcium chelate corn polypeptide[D]. Changchun: Jilin University, 2019. ]
- [ 12 ] CAETANO-SILVA M E, NETTO F M, BERTOLDO-PACHECO M T, et al. Peptide-metal complexes: Obtention and role in increasing bioavailability and decreasing the pro-oxidant effect of minerals[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(9): 1470–1489.
- [ 13 ] 张开平, 苏仕林, 刘燕丽, 等. 生物活性肽功能及制备方法的研究进展[J]. 农产品加工, 2015(12): 61–64. [ ZHANG K P, SU S L, LIU Y L, et al. Research progress on functions and preparations of bioactive peptides[J]. Farm Products Processing, 2015(12): 61–64. ]
- [ 14 ] 孙晓富, 董超, 李文静, 等. 响应面法优化纳豆芽孢杆菌发酵制备多肽螯合钙工艺[J]. 中国酿造, 2021, 40(6): 119–123. [ SUN X F, DONG C, LI W J, et al. Optimization of preparation process of peptides chelated calcium from *Bacillus natto* fermentation by response surface methodology[J]. China Brewing, 2021, 40(6): 119–123. ]
- [ 15 ] WANG X, GAO A, CHEN Y, et al. Preparation of cucumber seed peptide-calcium chelate by liquid state fermentation and its characterization[J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 487–494.
- [ 16 ] 余楠楠, 陈琛. 生物活性肽功能及制备技术研究进展[J]. 中国酿造, 2018, 37(9): 17–21. [ YU N N, CHEN C. Research progress of bioactive peptide function and preparation technology[J]. China Brewing, 2018, 37(9): 17–21. ]
- [ 17 ] WANG X, ZHANG Z, XU H, et al. Preparation of sheep bone collagen peptide-calcium chelate using enzymolysis-fermentation methodology and its structural characterization and stability analysis[J]. *RSC Advances*, 2020, 10(20): 11624–11633.
- [ 18 ] 宋凯强, 刘鹏莉, 郑振佳, 等. 大蒜降压肽的制备及超滤分离[J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 73–80. [ SONG K Q, LIU P L, ZHENG Z J, et al. Preparation and ultrafiltration separation of garlic antihypertensive peptide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(19): 73–80. ]
- [ 19 ] SRIDHAR K, INBARAJ B S, CHEN B H. Recent developments on production, purification and biological activity of marine peptides[J]. *Food Research International*, 2021, 147: 110468.
- [ 20 ] YANG X, YU X, YAGOUB A GasimA, et al. Structure and stability of low molecular weight collagen peptide (prepared from white carp skin)-calcium complex[J]. *LWT*, 2021, 136: 110335.
- [ 21 ] WANG L, DING Y, ZHANG X, et al. Isolation of a novel calcium-binding peptide from wheat germ protein hydrolysates and the prediction for its mechanism of combination[J]. *Food Chemistry*, 2018, 239: 416–426.
- [ 22 ] 王斌, 刘道杰. 羟基磷灰石色谱在生物分子分离中的应用[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(6): 1009–1013. [ WANG B, LIU D J. Applications of hydroxyapatite chromatography in the separation and purification of biomolecules[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2008, 28(6): 1009–1013. ]
- [ 23 ] 王爱娟, 吕宇鹏, 孙瑞雪. 羟基磷灰石在生物活性物质分离与提纯领域中应用的研究进展[J]. 材料导报, 2006(6): 111–114, 118. [ WANG A J, LÜ Y P, SUN R X. Research progress in application of hydroxyapatite in the separation and purification of bioactive substances[J]. Materials Reports, 2006(6): 111–114, 118. ]
- [ 24 ] HOU H, WANG S, 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.
- [ 25 ] CHEN M, JI H, ZHANG Z, et al. A novel calcium-chelating peptide purified from *Auxis thazard* protein hydrolysate and its binding properties with calcium[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 60: 103447.
- [ 26 ] ZHANG X, JIA Q, LI M, et al. Isolation of a novel calcium-binding peptide from phosvitin hydrolysates and the study of its calcium chelation mechanism[J]. *Food Research International*, 2021, 141: 110169.
- [ 27 ] 张金杨. 罗非鱼促钙吸收肽的制备分离及生物活性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018. [ ZHANG J Y. Preparation and separation calcium-binding peptide from tilapia protein hydrolysate and its bioavailability[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018. ]
- [ 28 ] 陈铭. 扁舵鲣鱼蛋白肽螯合钙的制备及其对大鼠骨骼生长影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2019. [ CHEN M. The preparation of *Auxis thazard* protein peptide chelated calcium its effect on bone growth in rats[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019. ]
- [ 29 ] 李超楠. 米蛋白肽-钙螯合物的制备及其性质研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019. [ LI C N. Preparation and proper-

- ties of rice protein peptide-calcium chelate[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural Reclamation University, 2019. ]
- [ 30 ] WEN C, ZHANG J, ZHANG H, et al. Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 105: 308–322.
- [ 31 ] BAO X, YUAN X, FENG G, et al. Structural characterization of calcium-binding sunflower seed and peanut peptides and enhanced calcium transport by calcium complexes in Caco-2 cells [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(2): 794–804.
- [ 32 ] CUI P, LIN S, HAN W, et al. The formation mechanism of a sea cucumber ovum derived heptapeptide-calcium nanocomposite and its digestion/absorption behavior[J]. *Food & Function*, 2019, 10 (12): 8240–8249.
- [ 33 ] GUO L, HARNDY P A, LI B, et al. Food protein-derived chelating peptides: Biofunctional ingredients for dietary mineral bioavailability enhancement[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2014, 37(2): 92–105.
- [ 34 ] 高敏. 牛骨酶解多肽螯合物的制备研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2019. [ GAO M. Preparation of bovine bone enzymatic polypeptide chelate[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2019. ]
- [ 35 ] TAM D L V, KHOA T P, LINH T L, et al. Identification of a new calcium-binding peptide from enzymatic proteolysate of *Acetes japonicus*[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, 42 (12): e13837.
- [ 36 ] LIAO W, CHEN H, JIN W, et al. Three newly isolated calcium-chelating peptides from tilapia bone collagen hydrolysate enhance calcium absorption activity in intestinal Caco-2 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(7): 2091–2098.
- [ 37 ] LIU B T, ZHUANG Y L, SUN L P. Identification and characterization of the peptides with calcium-binding capacity from tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin enzymatic hydrolysates [J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(1): 114–122.
- [ 38 ] LIAO W, LIU S, LIU X, et al. The purification, identification and bioactivity study of a novel calcium-binding peptide from casein hydrolysate[J]. *Food & Function*, 2019, 10(12): 7724–7732.
- [ 39 ] ZHANG L, LIN Y, WANG S. Purification of algal calcium-chelating peptide and its physical chemical properties[J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2018, 27(4): 518–530.
- [ 40 ] CAI X, LIN J, WANG S. Novel peptide with specific calcium-binding capacity from *Schizochytrium* sp. protein hydrolysates and calcium bioavailability in Caco-2 cells[J]. *Marine Drugs*, 2016, 15(1): 3.
- [ 41 ] CUI P, LIN S, JIN Z, et al. *In vitro* digestion profile and calcium absorption studies of a sea cucumber ovum derived heptapeptide-calcium complex[J]. *Food & Function*, 2018, 9(9): 4582–4592.
- [ 42 ] 刘晓容, 郭俊斌, 廖婉雯, 等. 酶法制备乳源钙螯合肽及其特性表征[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(8): 60–67. [ LIU X R, GUO J B, LIAO W W, et al. Preparation and characterization of milk-derived calcium chelating peptide by enzymatic method[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(8): 60–67. ]
- [ 43 ] HUANG W, LAN Y, LIAO W, et al. Preparation, characterization and biological activities of egg white peptides-calcium chelate[J]. *LWT*, 2021, 149: 112035.
- [ 44 ] SUN N, WANG Y, BAO Z, et al. Calcium binding to herring egg phosphopeptides: Binding characteristics, conformational structure and intermolecular forces[J]. *Food Chemistry*, 2020, 310: 125867.
- [ 45 ] SUN N, CUI P, LIN S, et al. Characterization of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) ovum hydrolysates: Calcium chelation, solubility and absorption into intestinal epithelial cells[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(13): 4604–4611.
- [ 46 ] LIU H, LÜ Y, XU J, et al. Interaction mode of calcium-binding peptides and Caco-2 cell membrane[J]. *Food Research International*, 2017, 102: 225–233.
- [ 47 ] 钱跃威, 徐瀚麟, 吕奇晏, 等. 鳗鱼骨胶原肽钙螯合物的制备及其稳定性和 Caco-2 吸收特性[J]. *食品科学*, 2020, 41(24): 1–8. [ QIAN Y W, XU H L, LÜ Q Y, et al. Preparation and stability of calcium-chelating peptide and its absorption characteristics in Caco-2 cells[J]. *Food Science*, 2020, 41(24): 1–8. ]
- [ 48 ] BAO Z, ZHANG P, 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.
- [ 49 ] JIANG Y, LI J, ZHAO H, et al. Preparation of grape seed polypeptide and its calcium chelate with determination of calcium bioaccessibility and structural characterisation[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, 56(1): 166–177.
- [ 50 ] FANG S, RUAN G, HAO J, et al. Characterization and antioxidant properties of Manchurian walnut meal hydrolysates after calcium chelation[J]. *LWT*, 2020, 130: 109632.
- [ 51 ] LUO M, XIAO J, SUN S, et al. Deciphering calcium-binding behaviors of casein phosphopeptides by experimental approaches and molecular simulation[J]. *Food & Function*, 2020, 11(6): 5284–5292.
- [ 52 ] WU J, CAI X, TANG M, et al. Novel calcium-chelating peptides from octopus scraps and their corresponding calcium bioavailability: Novel calcium-chelating peptides of octopus scraps[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(2): 536–545.
- [ 53 ] 黄海, 李八方, 曾名湧. 鲤鱼卵肽钙复合物的制备及稳定性[J]. *食品科技*, 2016, 41(9): 246–251. [ HUANG H, LI B F, ZENG M Y. Preparation and stability of peptide-calcium complex of carp egg[J]. *Food Science and Technology*, 2016, 41(9): 246–251. ]
- [ 54 ] 张玲. 罗非鱼皮胶原降解反应行为及肽钙螯合物制备研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020. [ ZHANG L. Studies on tilapia skin collagen degradation behavior and preparation of peptide calcium chelate[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020. ]
- [ 55 ] ZHANG H, ZHAO L, SHEN Q, et al. Preparation of cattle bone collagen peptides-calcium chelate and its structural characterization and stability[J]. *LWT*, 2021, 144: 111264.
- [ 56 ] XU Q, HONG H, WU J, et al. Bioavailability of bioactive peptides derived from food proteins across the intestinal epithelial membrane: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 86: 399–411.
- [ 57 ] HOU T, LIU W, SHI W, et al. Desalted duck egg white peptides promote calcium uptake by counteracting the adverse effects of phytic acid[J]. *Food Chemistry*, 2017, 219: 428–435.
- [ 58 ] 金子琪. 蛋清肽螯合钙的结构表征及其促钙吸收途径的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2019. [ JIN Z Q. Study on the structural characterization of egg white peptides chelated calcium and its pathways of promoting calcium absorption[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019. ]
- [ 59 ] CHEN Q, GUO L, 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.

- [ 60 ] SUN N, JIN Z, LI D, 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.
- [ 61 ] 刘玉玉, 胡筱波, 蔡晓雯, 等. 白鲢鱼皮胶原蛋白肽钙螯合物的制备及其对 Caco-2 细胞钙转运的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(8): 138–145. [ LIU Y Y, HU X B, CAI X W, et al. Preparation and effect on calcium transport in Caco-2 cells of silver carp skin collagen peptide-calcium chelate[J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(8): 138–145. ]
- [ 62 ] 许家宝, 贾晓彤, 陆世海, 等. 芝麻多肽螯合钙的制备及其补钙效果研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(5): 106–114. [ XU J B, JIA X T, LU S H, et al. Preparation and calcium supplementation effect of sesame peptide chelated calcium[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(5): 106–114. ]
- [ 63 ] PENG Z, HOU H, ZHANG K, et al. Effect of calcium-binding peptide from Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) bone on calcium bioavailability in rats[J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 373–378.
- [ 64 ] HUA P, XIONG Y, YU Z, et al. Effect of *Chlorella pyrenoidosa* protein hydrolysate-calcium chelate on calcium absorption metabolism and gut microbiota composition in low-calcium diet-fed rats[J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(6): 348.
- [ 65 ] ZHANG P, BAO Z, JIANG P, et al. Nanoliposomes for encapsulation and calcium delivery of egg white peptide-calcium complex[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(4): 1418–1431.
- [ 66 ] GHARIBZAHEDI S M T, JAFARI S M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 62: 119–132.
- [ 67 ] MI Y, LIU Z, DENG J, et al. Microencapsulation of phosphorylated human-like collagen-calcium chelates for controlled delivery and improved bioavailability[J]. *Polymers*, 2018, 10(2): 185.
- [ 68 ] ZHAO M, HE H, GUO D, et al. Chitosan oligosaccharides-tripolyphosphate microcapsules as efficient vehicles for desalted duck egg white peptides-calcium: Fabrication, entrapment mechanism and *in vivo* calcium absorption studies[J]. *LWT*, 2022, 154: 112869.