

鲶鱼骨肉泥酶解多肽螯合钙的结构表征

王洋¹, 郭耀华^{1,2}, 樊晓盼², 熊凤娇², 王凯丽^{2,3}, 马俐珍^{1,2,*}, 焦学超⁴

(1.天津农学院水产学院, 天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300384;

2.天津农学院食品与生物工程学院, 国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心, 天津 300384;

3.山西农业大学食品科学与工程学院, 山西太谷 030801;

4.天津市宽达水产食品有限公司, 鱼糜高值转化及品质控制技术企业重点实验室, 天津 300304)

摘要:为表征鲶鱼骨肉泥酶解多肽螯合钙结构特征, 分别采用红外吸收(IR)光谱法、紫外吸收(UV)光谱法、扫描电镜(SEM)和X射线光电子能谱(XPS)法, 解析并对比多肽及多肽螯合钙结构。结果表明, 多肽螯合钙相对于多肽, 紫外最大吸收峰红移, 红外吸收峰在N-H伸缩振动特征区蓝移, 酰胺II带的N-H变形振动特征区消失, 酰胺I带的C=O伸缩振动特征区红移, O-H面内变形振动指纹区消失, 表明钙离子与多肽的氨基、羧基发生配合; 多肽螯合钙后微观结构由无规则态变为致密且有棱角的块状, 表面新增Ca、Mg元素。研究结果为鲶鱼骨肉泥酶解多肽螯合钙的构效研究及应用提供了理论支撑。

关键词: 鲶鱼骨肉泥, 多肽, 多肽螯合钙, 结构表征

Structure Characterization of Peptide Chelating Calcium Derived from Enzymatic Hydrolysis of Catfish Flesh and Bone Paste

WANG Yang¹, GUO Yao-hua^{1,2}, FAN Xiao-pan², XIONG Feng-jiao²,
WANG Kai-li^{2,3}, MA Li-zhen^{1,2,*}, JIAO Xue-chao⁴

(1.Tianjin Key Laboratory of Aquatic Ecology and Aquaculture, College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;

2.National R&D Branch Center for Conventional Freshwater Fish Processing, College of Food Science and Biotechnology, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;

3.College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

4.Tianjin Kuan Da Aquatic Food Co., Ltd., Key Laboratory of High Value Conversion and Quality Control Technology of Surimi, Tianjin 300304, China)

Abstract: In order to characterize the structure of peptide chelating calcium prepared from catfish flesh and bone paste, the structure of the peptide and peptide chelating calcium was analyzed and compared, ultraviolet absorption spectrum, infrared absorption spectrum, scanning electron microscopy and X-ray photoelectron spectroscopy were used in the experiment. The results showed that, the maximum ultraviolet absorption peak of peptides chelating calcium had a red shift, the N-H stretching vibration absorption peak showed a blue shift, and the N-H stretching vibration absorption peak for amide II disappeared, meanwhile there was a red shift in C=O stretching vibration absorption peak, and the deformation vibration fingerprint region for O-H disappeared, compared with that of polypeptide, suggesting an integration of calcium ions with amino and carboxyl of the peptide. After chelation with calcium, the microstructure of polypeptide turned out to be compact and regular, and the elements Ca and Mg emerged in the surface of peptide chelating calcium. The results of the study provided theoretical supports for further study on structure-activity and application of peptide chelating calcium derived from enzymatic hydrolysis of catfish flesh and bone paste.

Key words: catfish flesh and bone paste; peptide; peptide chelating calcium; structure characterization

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2018)13-0036-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.13.007

引文格式: 王洋, 郭耀华, 樊晓盼, 等. 鲶鱼骨肉泥酶解多肽螯合钙的结构表征[J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 36-40.

钙质缺乏是全球性的营养问题, 我国人民缺钙的现象尤为严重, 因此补钙一直是我国膳食营养研

收稿日期: 2017-08-10

作者简介: 王洋(1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 水产益生菌及水产品品质控制, E-mail: chaosheng5@163.com。

* 通讯作者: 马俐珍(1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 畜产及水产食品品质及安全控制, E-mail: malizhen-6329@163.com。

基金项目: 天津市水产产业技术体系创新团队项目(ITTFRS2017020); 国家星火科技计划课题(2012GA610003)。

究领域的重要课题。补钙食品种类繁多,包括第一代无机钙、第二代有机酸钙和第三代氨基酸螯合钙。其中氨基酸螯合钙易吸收、安全性高,在补充钙的同时还可以补充氨基酸。有研究表明,多肽螯合钙比氨基酸螯合钙更易于吸收^[1-2],是一种更为理想的补钙制剂^[3-4]。

淡水鱼糜加工过程中会产生大量(40%~60%)副产物,包括鱼头、鱼骨、鱼皮、鱼鳞和鱼内脏等,如何有效利用这些副产物,是当今淡水鱼加工行业尤为关注的问题。酶解法制备多肽螯合钙是水产副产物综合利用的良好方式^[4]。淡水鱼加工副产物酶解后与氯化钙反应,可以制备多肽螯合钙。如 Jung 等^[5-6]利用肉食性鱼肠道酶降解鳕鱼骨,并从酶解液中分离出鱼骨磷酸肽,使其与钙螯合得到螯合钙。陆剑锋等^[7]以斑点叉尾鲟鱼骨酶解胶原多肽液和氯化钙为原料,以质量比2:1混合,在60℃、pH5.4条件下反应1.5h,可得多肽螯合钙,且螯合率高达82.53%。鲶鱼产量高,成本低,加工副产物除了加工鱼粉,没有更好的综合利用方式,造成了较大的资源浪费。本实验室前期以鲶鱼副产物(鱼头、鱼皮、鱼骨和碎肉等)制备的鲶鱼骨肉泥为原料,在未添加氯化钙的情况下,经胃蛋白酶酶解,可直接制得含有钙的肽,无机钙/有机钙的转化率为47.78%^[8-9]。推测产物中的有机钙可能是多肽螯合钙,原因是胃蛋白酶反应的酸性条件,能将鱼骨中不溶解的无机钙转化为可溶解的钙离子,另一方面骨胶原降解生成了骨胶原多肽,二者可能在反应过程中发生螯合。

钙离子与多肽螯合后,会影响多肽的多种光谱学特征,这是鉴定多肽螯合钙的主要依据。钙离子可能与多肽中氨基酸残基之间的酰胺键、侧链、末端的氨基和羧基发生配位反应,导致其红外光谱中出现氨基变形振动、伸缩振动和羧基的伸缩振动等特征吸收峰^[10]。张红漫等^[11]对氨基酸铜螯合物进行红外光谱分析,发现螯合铜离子前后,氨基酸中由-NH₂伸缩振动特征峰由3072 cm⁻¹和2964 cm⁻¹红移至3336 cm⁻¹和3192 cm⁻¹,C=O伸缩振动吸收峰由1632 cm⁻¹红移至1673 cm⁻¹。另外紫外光谱、扫描电镜^[12],X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy,XPS)^[13]都可用于鉴定钙是否与多肽生成螯合物。

本文以鲶鱼骨肉泥为原料,利用胃蛋白酶酶解-乙醇提取工艺制备多肽螯合物,同时以不含钙的相同多肽作为对照,分别利用红外吸收(IR)光谱、紫外吸收(UV光谱)、扫描电镜及X射线光电子能谱法对多肽螯合物进行结构表征分析,证明钙与多肽形成了稳定的螯合物。研究结果为开发多肽螯合钙新产品、促进淡水鱼副产物综合利用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

革胡子鲶鱼(*Clarias gariepinus*) 购于天津市红旗水产批发市场;胃蛋白酶(4.74×10⁵ U/g)、牛血清蛋白北京索莱宝科技有限公司;Na₂HPO₄、柠檬酸、氢氧化钠、硫酸铜、酒石酸钾钠、浓硫酸、硼酸、95%乙醇、

无水乙醚 分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;氧化镧 分析纯,上海化学试剂一厂;Ca标准溶液 国家有色金属及电子材料分析测试中心;硝酸 优级纯,天津市风船化学试剂科技有限公司。

TOMY SX-500 高压灭菌锅 日本 TOMY;ST40R 冷冻离心机 美国 Thermo;UV-1800 紫外可见分光光度计 日本岛津;Nicoler-SX-170 傅里叶变换红外光谱仪 日本岛津;S-3400N 扫描电镜 日本 Hitachi;QUANTAX 系列 X 射线能谱仪 德国布鲁克。

1.2 实验方法

1.2.1 鲶鱼骨肉泥酶解液的制备 参考郭耀华等方法^[8-9],取革胡子鲶鱼鱼头、鱼骨、鱼皮、碎肉等副产物,经121℃(0.1 MPa)2h高温高压处理,取出后在沸水中反复煮制5~6次,不断弃掉上层油脂,最后用1层纱布过滤挤压,绞肉机绞碎后即得到鱼骨泥,在6.73倍质量的含胃蛋白酶(终浓度7000 U/g)的缓冲液(柠檬酸/Na₂HPO₄ pH=3)中,于37℃酶解6h,沸水浴10min灭酶后离心20min(7702 r/min,4℃),收集上清液,即为酶解液。

1.2.2 多肽螯合钙粉的制备 将10mL酶解液逐滴加入90mL无水乙醇,静置5min后离心(7702 r/min,20min,4℃),除去上清液,将沉淀物在50℃恒温培养箱中烘干12h,即得到多肽螯合钙粉,置于干燥器皿于(20±5)℃保存。

1.2.3 无钙多肽粉的制备 为了分析多肽螯合钙前后的结构变化,需要以不含螯合钙的多肽作为参照物。多肽的制备方法为:取鲶鱼骨肉泥(制备方法如1.2.1所述)50.0g,加入10倍质量的0.5mol/L盐酸溶液,于30℃下浸泡2h脱盐,离心(7702 r/min,20min,4℃),取沉淀反复进行脱盐反应三次。收集脱盐后的鲶鱼骨肉泥,参考1.2.2中干燥方法制备不含钙多肽粉,置于干燥器皿于(20±5)℃保存。

1.2.4 多肽螯合钙的螯合率 取酶解液(v_2)10mL,采用原子吸收光谱法测定其中钙浓度(c_2)。按照1.2.2方法从酶解液(m_2)可提取得到的多肽螯合钙粉(m_1)配制成溶液,体积 v_1 ,稀释 n 倍,测定其中的钙浓度(c_1)。按照公式(1),以螯合肽中钙元素的重量与酶解液中总钙元素含量的比值,计算多肽螯合钙的螯合率($P\%$)。

$$P(\%) = \frac{c_1 \times n \times m_1 \times v_1}{m_2 \times c_2 \times v_2 \times 1000} \quad \text{式(1)}$$

式中, c_1 :多肽螯合钙溶液中钙浓度(mg/mL); n :多肽螯合钙溶液的稀释倍数; m_1 :多肽螯合钙质量(mg); v_1 :多肽螯合钙溶液的体积(mL); m_2 :酶解液的质量(mg); c_2 :酶解液中钙浓度(mg/mL); v_2 :酶解液体积(mL)。

1.2.5 多肽螯合钙的结构表征 取1.2.2和1.2.3得到的多肽螯合钙粉和多肽粉,分别进行紫外(UV)光谱分析、红外(IR)光谱分析、扫描电镜及X射线光电子能谱分析(XPS)。

1.2.5.1 紫外(UV)光谱分析 以pH5.0的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液将纯多肽粉和多肽螯合钙粉分别配制成1mg/mL溶液,用紫外分光光度计进行扫描,

测定其在 190~400 nm 之间的紫外吸收变化。

1.2.5.2 红外(IR)光谱分析 取纯多肽粉和多肽螯合钙粉各 2.0 mg 放入玛瑙研钵中,加入少量干燥的光谱纯 KBr,在红外灯下混合研磨均匀,使其粒度在 2.5 μm 以下,将粉末放入压片的磨具中,抽气加压,压力为 600 kg/cm^2 ,维持 5 min,卸掉压力得到透明的 KBr 样品片,放入测定室内,采用傅里叶变换红外光谱仪在 400~4000 cm^{-1} 区间扫描,得到红外光谱图。

1.2.5.3 扫描电镜成像 取适量多肽粉和多肽螯合钙粉,粘附于导电胶上,喷金后置于应用扫描电镜拍摄多肽粉和多肽螯合钙粉表面特征,并进行对比分析。

1.2.5.4 X 射线光电子能谱分析(XPS) 取少量多肽粉和多肽螯合钙粉,加入金靶,放入 X 射线能谱仪分析室分析。

1.3 数据处理

以上测试均重复 3 次,每次两个平行,数据以平均值 \pm 标准偏差表示,以 SPSS 13.0 (Duncan, $\alpha = 0.05$) 进行单因素方差分析,以 Sigmaplot 10.0 绘制曲线。

2 结果与分析

2.1 钙螯合率

分别测定酶解液和乙醇沉淀后得到的多肽螯合钙粉中的钙含量,按照公式(1)计算得到酶解液中多肽螯合钙的钙螯合率为 65.8% \pm 0.5%。鲮鱼骨肉泥酶解产物是一个复杂的多种肽的混合物,由于各类肽氨基酸组成和二级结构的区别,其螯合能力也可能不同^[14],因此本研究中所测得的螯合率为各种肽的平均螯合率。

2.2 多肽与多肽螯合钙的结构表征

2.2.1 紫外(UV)光谱分析 图 1 为多肽与多肽螯合钙的紫外光谱扫描对比图。与多肽相比,多肽螯合物在 230~240 nm 间的最大吸收波长显著红移,且最大吸收峰增高,这表明有金属螯合物生成。有研究证明金属离子可以吸收紫外区一部分波长的光而发生跃迁,同时金属离子结合能改变配位体的电子跃迁能量。其他关于螯合金属的研究同样发现,金属离子的螯合使氨基酸或多肽的紫外吸收光谱特征改变,如管海跃^[15]分析了甘氨酸和甘氨酸锌的紫外吸收光谱,发现甘氨酸锌的紫外吸收峰较甘氨酸红移,且最大吸收峰对比甘氨酸明显增大。Jin^[16]分析了牛骨胶原多肽和胶原多肽钙的紫外吸收光谱,发现胶原多肽的最大吸收波长为 218 nm,而胶原多肽钙的最大吸收波长蓝移至 208 nm。陆剑锋^[7]酶解斑点叉尾鲮鱼骨得到的胶原多肽与氯化钙螯合,并比较胶原多肽和胶原多肽螯合钙的紫外吸收光谱,也发现螯合物的紫外光谱图较多肽发生了红移。

2.2.2 红外(IR)光谱分析 图 2 展示了多肽与多肽螯合钙的红外光谱多肽的红外光谱中有 4 个吸收峰发生明显变化,分别为 3284、1653、1539、929 cm^{-1} 。其中特征区 3284 cm^{-1} 附近为 N-H 伸缩振动,多肽螯合钙的红外光谱图中此波段变为 3314 cm^{-1} ,发生了蓝移,且波峰变宽,成为铵盐的特征频率。1653 cm^{-1}

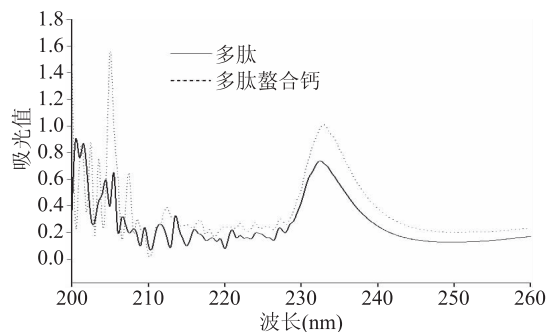


图 1 多肽与多肽螯合钙紫外扫描图

Fig.1 Ultraviolet absorption spectra of peptide and peptide chelating calcium

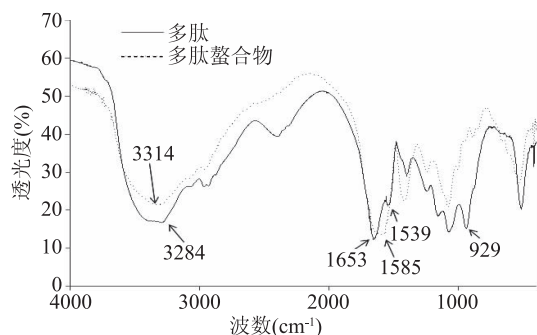


图 2 多肽与多肽螯合钙红外光谱图

Fig.2 Infrared absorption spectra of peptide and peptide chelating calcium

附近是酰胺 I 带的 C=O 伸缩振动,多肽螯合钙的红外光谱中发生了红移;1539 cm^{-1} 附近是酰胺 II 带的 N-H 变形振动,多肽螯合钙的红外光谱峰消失了,红外光谱特征峰的改变反映了分子结构的变化,表明多肽的羧基和氨基均参与了和钙的配位,形成了多肽螯合钙。多肽的指纹区在 929 cm^{-1} 附近有 O-H 面内变形振动,说明多肽含有游离的 -COOH,多肽螯合物的红外光谱中此吸收峰消失,表明多肽螯合物中不存在游离的 -COOH,羧基可能与钙离子以共价键形式结合^[17]。王辉等也发现多肽通过氨基和羧基与钙离子结合。他们以珠蚌多肽为原料,与氯化钙进行螯合,比对螯合前后红外光谱的变化,发现多肽光谱中 N-H 伸缩振动引起的吸收峰(3345.8 cm^{-1}) 在多肽螯合钙谱图中移动至铵盐特征峰(3384.8 cm^{-1}),而 COOH 伸缩振动引起的特征峰(1404.3 cm^{-1}) 在多肽螯合钙中变为羧酸盐特征峰(1412.1 cm^{-1})^[18]。Guo 等发现丝氨酸和组氨酸是阿拉斯加鲑鱼肽螯合钙的主要位点^[19]。Zhao 等认为多肽通过羧基氧原子和氨基氮原子螯合钙离子^[20]。Huang 等发现乳清蛋白水解肽通过羧基以及谷氨酸的羧基与钙发生作用的^[21]。羧基和氨基是蛋白质、多肽螯合的重要活性位点,可与多种金属离子,包括钙离子、铜离子、锰离子等结合^[17,22]。酶解肽通常同时通过多个基团与钙发生作用,将钙螯合于一个结构域中,如 Charoenphun 等水解罗非鱼蛋白制备的肽与钙螯合的活性位点是一个 7 肽序列^[23]。Nara 提出点突变研究可以更直接地揭示多肽中参与钙螯合的所有氨基酸位点^[24]。除多肽序列外,多肽的分子量及疏水氨基酸的含量也

会其影响钙螯合能力^[25]。进一步的纯化与结构鉴定以及动物实验将有助于深入解析鲶鱼骨酶解螯合钙的形成机制和作用效果。

2.2.3 多肽和多肽螯合钙粉的表面结构分析 多肽和多肽螯合钙粉的表面形貌如图3所示。图3(a、b)分别为多肽粉放大50倍和500倍的电镜照片,图3(c、d)分别为多肽螯合钙放大50倍和500倍的电镜照片。由图3(a、b)和图3(c、d)可以看出多肽粉结构不规则,而多肽螯合钙粉棱角明晰,结构较为致密,这表明钙离子与多肽发生相互作用后,改变了整个体系的结构。多肽粉表面粗糙,疏松多孔,而多肽螯合钙粉表面光滑,结构致密。另外,多肽螯合钙粉表面有少量类似晶体的结构,可能是吸附在多肽表面的钙盐结晶。肽螯合钙后显微结构发生的变化与其他报道相似,如Peng等发现骨胶原肽螯合钙后,疏松多孔的结构变成了相对致密的粒状结构,同时他们也发现螯合钙表面有一些钙盐结晶^[1],Jin等也认为肽与钙螯合后会产生一些钙盐结晶^[16]。

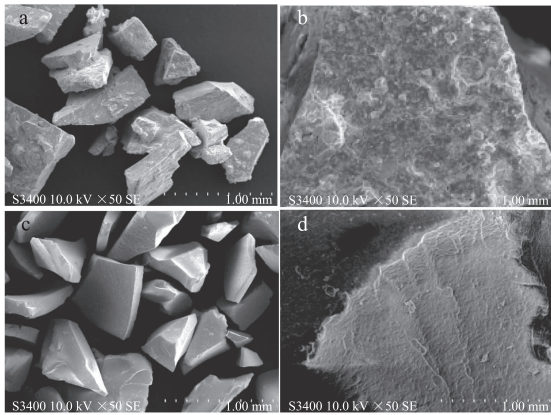


图3 多肽和多肽螯合钙的扫描电镜图

Fig.3 Scanning electron microscopy images of peptide and peptide chelating calcium

注:a:多肽,50×;b:多肽,500×;

c:多肽螯合钙,50×;d:多肽螯合钙,500×。

2.2.4 多肽和多肽螯合钙粉的表面元素分析 图4a和图4b分别为多肽和多肽螯合钙的表面成分图(X射线光电子能谱分析法测得),表1和表2分别为多肽和多肽螯合钙的表面元素种类及相对浓度。多肽含有的主要元素为O、C、P、Na、N,且质量分数分别为33.97%、22.54%、21.64%、15.35%、6.49%;多肽螯合钙含有的主要元素为C、O、Ca、N、P、Mg、Na,其质量分数分别为41.50%、37.35%、10.76%、5.72%、3.87%、0.58%、0.23%。多肽螯合钙表面有较多Ca和少量Mg元素,这也能证明钙与肽发生了结合。

3 结论

鲶鱼骨肉泥经酶解醇提得到的物质是多肽螯合钙,其钙螯合率为65.8%。光谱学特征分析可以支撑螯合钙形成的结论,紫外吸收(UV)光谱图显示,多肽螯合钙的最大吸收峰相对于多肽的最大吸收峰发生了红移,说明有螯合物形成使得配位体对光吸收的性能发生改变。红外吸收(IR)光谱分析显示,多肽螯合钙的最大吸收峰在N-H伸缩振动特征区

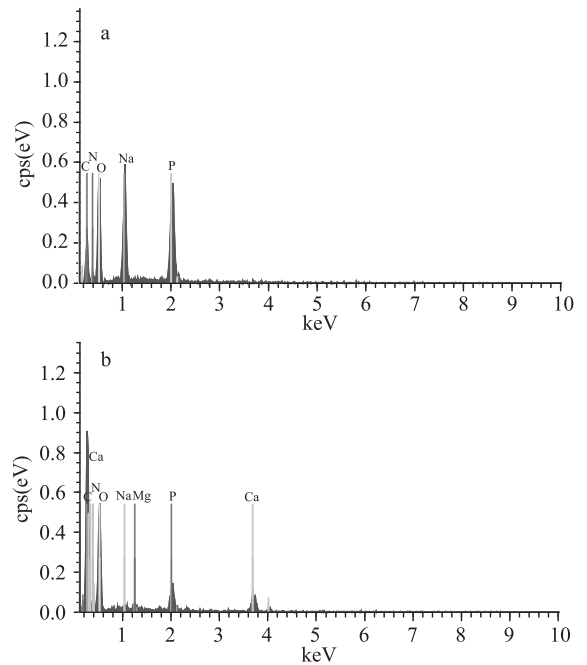


图4 多肽和多肽螯合钙表面成分X射线光电子能谱分析
Fig.4 Surface X-ray photoelectron spectroscopy spectra of peptide and peptide chelating calcium

注:a:多肽;b:多肽螯合钙。

表1 多肽的表面元素及其相对浓度

Table 1 Surface element and relative density of peptide

元素	原子数	电子层	未修正 C原子 (质量比, %)	修正的 C原子 (质量比, %)	C原子数 (数量比, %)
O	8	K层	25.59	33.97	36.42
C	6	K层	16.89	22.54	32.19
P	15	K层	16.30	21.64	11.98
Na	11	K层	11.57	15.35	11.46
N	7	K层	4.89	6.49	7.95

表2 多肽螯合钙的表面元素及其相对浓度

Table 2 Surface element and relative density of peptide chelating calcium

元素	原子数	电子层	未修正 C原子 (质量比, %)	修正的 C原子 (质量比, %)	C原子数 (数量比, %)
C	6	K层	45.11	41.50	52.15
O	8	K层	40.60	37.35	35.24
Ca	20	K层	11.69	10.76	4.05
N	7	K层	6.22	5.72	6.17
P	15	K层	4.20	3.87	1.88
Mg	12	K层	0.63	0.58	0.36
Na	11	K层	0.26	0.23	0.15

发生蓝移,且波峰变宽,在酰胺II带的N-H变形振动特征区消失,表明钙离子与氨基发生配合;在酰胺I带的C=O伸缩振动特征区发生红移,O-H面内变形振动指纹区消失,表明钙离子与羧基发生了配

合反应。扫描电镜直观呈现出多肽螯合钙表面附着许多钙晶体。X射线光电子能谱分析则探测到多肽螯合钙的表面出现了多肽没有的Ca元素,以上结果综合证明了多肽与钙成功螯合。研究结果为鲢鱼副产物的综合利用及多肽螯合钙的开发提供了理论依据,然而多肽螯合钙适合作为补钙制剂的主要原因是其具有独特的吸收转运方式,为了验证本研究制备的多肽螯合钙的生物利用率,有必要进行更为深入的体内体外实验。

参考文献

- [1] 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, 2016, 221: 373-378.
- [2] 成静, 陈栋梁, 倪萌, 等. 胶原肽螯合钙的吸收实验研究[J]. 食品科技, 2012, 37(5): 64-67.
- [3] Zhu K X, Wang X P, Guo X N. Isolation and characterization of zinc-chelating peptides from wheat germ protein hydrolysates[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 23-32.
- [4] Sun N, Wu H, Du M, et al. Food protein-derived calcium chelating peptides: A review[J]. Trends in Food Science and Technology, 2016, 58: 140-148.
- [5] Jung W K, Park P J, Byun H G, et al. Preparation of hoki (*Johnius belengerii*) bone oligophosphopeptide with a high affinity to calcium by carnivorous intestine crude proteinase[J]. Food Chemistry, 2005, 91(2): 333-340.
- [6] Jung W K, Lee B J, Kim S K. Fish-bone peptide increases calcium solubility and bioavailability in ovariectomised rats[J]. British Journal of Nutrition, 2006, 95(1): 124-128.
- [7] 陆剑锋, 孟昌伟, 李进. 斑点叉尾鲷鱼骨胶原多肽螯合钙的制备及其特征[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 314-320.
- [8] 郭耀华, 尚鑫茹, 岳兰昕, 等. 鲢鱼骨肉泥的酶解工艺优化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(12): 212-216.
- [9] 郭耀华, 尚鑫茹, 岳兰昕, 等. 3种蛋白酶对鲢鱼骨肉泥中多肽得率和钙溶出率的比较研究[J]. 食品科技, 2016, 41(2): 157-162.
- [10] Nara M, Tanokura M. Infrared spectroscopic study of the metal-coordination structures of calcium-binding proteins[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2008, 369(1): 225-239.
- [11] 张红漫, 陈国松, 仪明君. 复合氨基酸铜螯合物的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(2): 37-40.
- [12] Liu S, Liu L Z, Xiao-na L I, et al. Optimization of the preparation of calcium-chelating polypeptides from silver carp bone collagen[J]. Food Science, 2014, 35(10): 76-81.
- [13] 许先猛, 董文宾, 孙皎皎. 猪皮胶原多肽螯合钙的制备及其结构表征[J]. 食品工业科技, 2015, 36(20): 309-313.
- [14] Liu W Y, Lu J, Gao F, et al. Preparation, characterization and identification of calcium-chelating Atlantic salmon (*Salmo salar* L) ossein oligopeptides[J]. European Food Research and Technology, 2015, 241(6): 851-860.
- [15] 管海跃, 崔艳丽, 毛建卫. 一水合甘氨酸锌螯合物的合成及其表征[J]. 浙江大学学报理学版, 2008, 35(4): 442-447.
- [16] Jin Y G, Fu W W, Ma M H. Preparation and structure characterization of soluble bone collagen peptide chelating calcium[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(50): 10204-10211.
- [17] 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.
- [18] 王辉, 涂宗财, 叶云花. 超声波改性珠蚌多肽与钙离子的螯合[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(4): 12-16.
- [19] Guo L, Harnedy P A, O'keeffe M B, et al. Fractionation and identification of Alaska pollock skin collagen-derived mineral chelating peptides[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 536-542.
- [20] Zhao L, Huang Q, Huang S, et al. Novel peptide with a specific calcium-binding capacity from whey protein hydrolysate and the possible chelating mode[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(42): 10274-10282.
- [21] Huang S L, Zhao L N, Cai X, et al. Purification and characterisation of a glutamic acid-containing peptide with calcium-binding capacity from whey protein hydrolysate[J]. Journal of Dairy Research, 2015, 82(1): 29-35.
- [22] Zhu C, Sun Y, Wang Y, et al. The preparation and characterization of novel human-like collagen metal chelates[J]. Materials Science & Engineering C, 2013, 33(5): 2611-2619.
- [23] Charoenphun N, Cheirsilp B, Sirinupong N, et al. Calcium-binding peptides derived from tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate[J]. European Food Research and Technology, 2013, 236(1): 57-63.
- [24] Nara M, Morii H, Tanokura M. Coordination to divalent cations by calcium-binding proteins studied by FTIR spectroscopy[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 2013, 1828(10): 2319-2327.
- [25] 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.

欢迎光临我们的网站

www.spgykj.com