杜斌, 黄安琪, 林舒婧, 等. 薏仁米糠多肽-亚铁螯合物的制备、结构表征及稳定性研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(17): 297−306. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080272

DU Bin, HUANG Anqi, LIN Shujing, et al. Preparation, Structure Characterization and Stability of Adlay Bran Peptide-Iron Chelate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(17): 297−306. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080272

· 工艺技术 ·

薏仁米糠多肽-亚铁螯合物的制备、结构表征及稳定性研究

杜　斌[1], 黄安琪[1], 林舒婧[1], 王诗琦[2], 李文浪[1], 鲁海洋[1], 黄周兵[3], 孙大利[3,*]

（1.贵阳学院食品科学与工程学院, 贵州 贵阳 550005;
2.锦州海关综合技术服务中心, 辽宁 锦州 121013;
3.贵州医科大学公共卫生和健康学院, 贵州 贵阳 561113）

摘　要: 为了充分利用薏仁米糠资源，减少蛋白质资源的浪费，该研究以薏仁米糠为原料提取薏仁米糠蛋白，经碱性蛋白酶酶解制备薏仁米糠多肽，采用单因素实验结合正交试验优化制备了薏仁米糠多肽-铁螯合物，通过扫描紫外光谱、傅里叶红外光谱、扫描电镜和原子力显微镜等分析方法，对制备的薏仁米糠多肽-铁螯合物（Adlay Bran Peptides-Iron Chelate，ABP-Fe）进行结构表征，同时评价其稳定性，并通过体外模拟胃肠道消化试验探究其 Fe^{2+} 释放特性。结果表明：薏仁米糠多肽-铁螯合物的最佳制备条件为 pH5.0，肽铁质量比为 3∶1，温度为 40 ℃，反应 20 min。在此条件下，螯合物中 Fe^{2+} 螯合率可达 76.33%。紫外光谱和傅里叶红外光谱结果显示，Fe^{2+} 与 ABP 肽链上的羧基氧和氨基氮发生螯合反应生成了新物质；扫描电镜以及原子力显微镜结果显示，薏仁米糠多肽与铁离子螯合后从表面光滑的碎片状变为表面粗糙的颗粒状，两者存在明显差异。此外，ABP-Fe 螯合物对不同 pH 和温度表现出良好的稳定性，其在体外模拟胃肠道消化试验中也表现出比硫酸亚铁更高的 Fe^{2+} 释放率。本实验制备的薏仁米糠多肽源性补铁剂螯合力强、稳定性好且具有更高的释放率，可为薏仁米加工副产物的高效利用和新型膳食铁补充剂的开发提供建设性参考。

关键词: 薏仁米糠, 肽铁螯合物, 铁补充剂, 结构表征, 体外稳定性

中图分类号: TS251.93　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)17−0297−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080272

本文网刊:

Preparation, Structure Characterization and Stability of Adlay Bran Peptide-Iron Chelate

DU Bin[1], HUANG Anqi[1], LIN Shujing[1], WANG Shiqi[2], LI Wenlang[1], LU Haiyang[1], HUANG Zhoubing[3], SUN Dali[3,*]

（1.School of Food Science and Engineering, Guiyang University, Guiyang 550005, China;
2.Jinzhou Customs Integrated Technical Service Center, Jinzhou 121013, China;
3.School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 561113, China）

Abstract: In order to fully utilize adlay bran resources and reduce the waste of protein resources, we prepared adlay bran peptides through alkaline protease hydrolysis of adlay bran protein, which was extracted from adlay bran. The preparation of adlay bran peptides-iron chelate (ABP-Fe) was optimized based on univariate analysis and orthogonal tests. The ABP-Fe was characterized using UV spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), and atomic force microscopy (AFM). Also, its stability was explored and its Fe^{2+} release characteristics were investigated through *in vitro* gastrointestinal digestion simulations. The results showed that the optimized conditions for the

收稿日期: 2025−08−27

基金项目: 贵州省科技厅项目（黔科合支撑 [2022]151）; 中央支持地方高校改革发展资金（黔教技 [2023]067 号）。

作者简介: 杜斌（1983−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全与功能性食品开发, E-mail: dubin_gyu@126.com。

*** 通信作者:** 孙大利（1985−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 功能性食品开发, E-mail: dalisun11@163.com。

preparation of ABP-Fe were pH5.0, peptide-to-iron mass ratio 3∶1, reaction temperature 40 ℃ and reaction time 20 min. Under the optimized conditions, the chelation rate of Fe^{2+} in the ABP-Fe reached 76.33%. Characterization using UV and FTIR spectroscopy indicated that Fe^{2+} chelated with the carboxyl oxygen and amino nitrogen on the ABP peptide chains to form a new substance. Characterization using SEM and AFM revealed that the adlay bran peptides transform from smooth fragments into rough particles after chelation with Fe^{2+}, with significant morphological differences. Additionally, the ABP-Fe exhibited good stability under varying pH and temperatures, and its Fe^{2+} release rate was higher than that of ferrous sulfate in the *in vitro* gastrointestinal digestion simulations. The as-prepared adlay bran peptide-derived iron supplement exhibited excellent chelation capability, good stability, and high release rate. This study provides insights for efficient utilization of adlay processing by-products and development of novel dietary iron supplements.

Key words: adlay rice bran; peptides-iron chelate; iron supplement; structural characterization; *in vitro* stability

薏仁米(*Coix chinensis* Tod)作为一种功能性食品,因其兼具营养、保健与美容等多种功效,被广泛应用于各类产品的加工中[1]。薏仁米糠是薏仁米加工过程中的主要副产品,其营养成分与普通米糠相似,富含多种营养因子[2−3],其中蛋白质含量可达18%[4]。然而,长期以来薏仁米糠未得到充分开发与利用,通常仅被作为廉价动物饲料使用,既造成了资源浪费,也显著降低了薏仁米的整体经济价值[5]。研究表明,杨华连等[6]以薏仁米糠为原料,采用双酶分步酶解法制备的薏仁米糠多肽具有良好的功能特性,提示薏仁米糠可作为一种具有巨大开发潜力的功能性多肽来源。

铁是人体必需的微量元素,在氧气运输、维持正常造血功能及机体免疫调节等生理过程中发挥重要作用[7]。人体所需铁元素只能通过膳食摄取,但肠道对膳食铁的吸收率较低,仅为 5%~15%[8],且易受植酸、磷酸等抗营养因子的干扰[9],因此铁缺乏较为普遍,尤其在婴幼儿、育龄妇女及孕妇等人群中更为突出[10−11]。为改善这一状况,市面上已有四类铁补充剂,但均存在不同程度的局限性:以氯化亚铁为代表的无机铁盐吸收率低且易刺激胃肠道[12];乳酸亚铁等有机铁稳定性差、保存性不足[13];氨基酸亚铁与血红素铁价格高昂,而多糖铁复合物则可能引发副作用[14]。因此,开发高效、安全且稳定的新型铁补充剂已成为迫切需求。

与传统铁补充剂相比,以蛋白肽为载体制备的肽铁螯合物具有更高的生物利用度,且无胃肠刺激或毒副作用等问题[15]。此外,肽-铁螯合物仍能保留活性肽的固有生物活性,具备营养与功能双重效应,因而应用前景广阔[16]。目前,已有研究报道并成功应用鹰嘴豆肽-亚铁螯合物[17]、花生肽-亚铁螯合物[13]、牛血红蛋白肽-亚铁螯合物[18]等多种肽铁螯合物用于新型铁补充剂的开发。然而,利用来源丰富且具有良好功能特性的薏仁米糠肽作为原料制备肽铁螯合物的研究尚未见报道。鉴于此,本研究以薏仁米糠为原料提取薏仁米糠蛋白,经碱性蛋白酶酶解制备薏仁米糠多肽(ABP),进而合成其亚铁螯合物 ABP-Fe,并对产物进行结构表征与体外稳定性评价,旨在为开发源自薏仁米糠的高效补铁剂提供理论依据,同时推动薏仁米糠的高值化利用,提升其经济价值与应用潜力。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜薏仁米糠 贵州泛亚实业(集团)有限公司,经石油醚脱脂处理后,粉碎过 20 目筛,−18 ℃ 保存备用;碱性蛋白酶(2×10^5 U/g) 购自上海源叶生物科技有限公司;柠檬酸钠、硫酸亚铁 均为分析纯,购自国药集团。

UV1601 型紫外可见分光光度计 北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司;F-280 荧光分光光度计 天津港东有限公司;D/Max-2200 型 X 射线衍射仪(X-Ray Diffractometer, XRD) 日本理学公司;Zetasizer Nano ZS90 粒度仪 英国马尔文仪器有限公司;JSM-5510 扫描电镜 日本电子株式会社;Multimode 8 原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM) 德国布鲁克集团公司;H1750R 型高速冷冻离心机 湖南湘仪离心机仪器有限公司;LGJ-18 真空冷冻干燥机 北京松源华兴科技发展有限公司;YL0814-40 型超声波清洗机 云奕超声(深圳)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 薏仁米糠多肽的制备 根据实验室前期优化条件,采用超声辅助碱提法制备薏仁米糠蛋白[19]。具体如下:使用磷酸盐缓冲液将脱脂薏仁米糠按 1∶10(w/v)的固液比进行混匀,调整 pH 为 9.0,温度为 50 ℃,超声功率 400 W,超声频率 40 kHz 作用 40 min 后,6000 r/min 离心 10 min,取沉淀物。用蒸馏水溶解沉淀物,调节 pH 至 7.0,0.45 μm 滤膜过滤除杂,经真空冷冻干燥最终得到薏仁米糠蛋白。

薏仁米糠多肽采用酶解法参照实验室先前优化的方法进行制备,具体为:用蒸馏水制备 10% 薏仁米糠蛋白溶液,碱性蛋白酶加酶量为 2%(w/v),pH9.5,50 ℃ 条件下,酶解 150 min。85 ℃ 灭酶 10 min 后,12000 r/min 离心 10 min,取上清液浓缩并冷冻干燥,最终可得薏仁米糠多肽(ABP)[19]。

1.2.2 薏仁米糠多肽-亚铁螯合物(ABP-Fe)的制备 将上述制得的薏仁米糠多肽与亚铁离子进行螯合,以 pH4、肽铁质量比(ABP/$FeSO_4$)为 3∶1、螯合温度 40 ℃、螯合时间 30 min 为基础条件,亚铁螯合率为考察指标,探究螯合 pH(2、3、4、5、6)、肽铁质量

比（1∶2、1∶1、2∶1、3∶1、4∶1、5∶1）、螯合温度（30、40、50、60、70 ℃）、螯合时间（20、30、40、50、60 min）各因素对螯合率的影响。

参照尹乐斌等[20]的实验步骤，采用邻菲啰啉比色法测定 Fe^{2+}含量，通过公式（1）计算螯合率：

$$Fe^{2+}螯合率(\%) = m_1/m_0 \times 100 \quad 式（1）$$

式中：m_1 为螯合物中 Fe^{2+}含量，μg；m_0 为加入螯合体系的 Fe^{2+}总量，μg。

1.2.3　螯合条件的优化　在单因素实验结果的基础上，以 Fe^{2+}螯合率为指标，分别选取 pH、螯合温度和肽铁质量比进行三因素三水平正交试验，实验设计方案见表 1。结合极差分析，获得 ABP-Fe 的最佳制备工艺，并加以验证。

表 1　正交试验因素与水平

Table 1　Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素		
	A pH	B肽铁质量比(w/w)	C反应温度（℃）
1	4	2∶1	40
2	5	3∶1	50
3	6	4∶1	60

1.2.4　ABP-Fe 结构表征

1.2.4.1　紫外光谱（UV）检测　使用紫外-可见分光光度计测定浓度为 0.4 mg/mL 的 ABP 和 ABP-Fe 溶液（波长范围为 200~400 nm）。扫描速度设为中速，采样间隔设为 1 nm。

1.2.4.2　荧光光谱检测　使用荧光光谱仪测定 ABP（100 μg/mL）和 ABP-Fe（100 μg/mL）的荧光光谱。测定样品在 280 nm 激发波长、300~500 nm 发射波长、10 nm 激发/发射狭缝宽度和 450 V 光电倍增管（PMT）电压下的荧光强度。

1.2.4.3　X 射线衍射（XRD）光谱检测　使用衍射仪测定 ABP 或 ABP-Fe 粉末的 XRD 光谱，扫描角度（2θ）和扫描速率分别为 5°~90°和 0.02°/min。

1.2.4.4　傅里叶变换红外光谱　使用傅里叶变换红外光谱仪测定 ABP 或 ABP-Fe 粉末的红外光谱。粉末与 KBr 的比例为 1∶100。在 4000~400 cm^{-1} 的波数范围内记录光谱，分辨率为 4 cm^{-1}，扫描次数为 32 次。

1.2.4.5　能量色散光谱和扫描电子显微镜检测　将 ABP-Fe 和 ABP 粉末放置在 SEM 设备上，通过双面胶带固定。样品溅射金后，在 3 kV 加速电压和 2000 倍放大倍率下观察并拍摄。使用 EDS 点扫描确定样品的元素组成。

1.2.4.6　粒径分布以及 Zeta 电位分析　将 ABP 或 ABP-Fe 溶解在去离子水中，在 37 ℃ 下平衡 5 min，测定粒径以及 Zeta 电位。

1.2.4.7　原子力显微镜检测　将浓度为 100 μg/mL 的 ABP-Fe 和 20 μL 的 ABP 溶液分别滴加在无气泡和裂纹的云母片上，在 25 ℃ 下干燥 12 h。将云母片粘贴在圆形磁性片（15×0.3 mm）上。使用原子力显微镜观察并拍摄样品表面的拓扑图像，并在峰值力 QNM 模式下，在 5 μm 扫描范围内拍摄图像。

1.2.5　ABP-Fe 的稳定性分析

1.2.5.1　酸碱稳定性分析　配制浓度为 5 mg/mL 的 ABP-Fe 溶液，并将其 pH 分别调整至 2、4、6、8 和 10，在室温下放置 2 h，然后以 5000 r/min 离心 15 min。将上清液与体积为其 3 倍的无水乙醇混合，沉淀 1 h 后，再以 5000 r/min 离心 15 min。使用第 1.2.2 中的方法测定沉淀中的亚铁离子质量，并根据公式（2）计算亚铁离子的保留率：

$$保留率(\%) = M_1/M_2 \times 100 \quad 式（2）$$

式中：M_1 为沉淀中的 Fe^{2+}质量（μg），M_2 为溶液中的 Fe^{2+}质量（μg）。

1.2.5.2　温度稳定性分析　配制浓度为 5 mg/mL 的 ABP-Fe 溶液，分别在 25、40、55、70 和 85 ℃ 下加热 2 h，对上清液进行与第 1.2.5.1 相同的操作，并使用相同的方法测定 Fe^{2+}的保留率。

1.2.5.3　体外模拟消化　参照 Fu 等[21]的体外模拟消化方法，研究了 ABP-Fe 螯合物在模拟胃肠消化过程中的稳定性。模拟胃液的制备如下：将 0.2 g NaCl 和 0.32 g 胃蛋白酶分别溶解在 100 mL 蒸馏水中，并将 pH 调至 2，从而形成模拟胃液。模拟肠液的制备方法是将 1 g 胰蛋白酶溶解在 100 mL 蒸馏水中，并用 0.2 mmol/L NaOH 将 pH 调至 7.4。首先，ABP-Fe 在 37 ℃ 下进行 120 min 的模拟胃消化。然后，将螯合物转移到模拟肠液中，并在 37 ℃ 下处理 120 min。在模拟胃肠消化过程中，反应液在 0、30、60、90、120、150、180、210 和 240 min 的时间点收集。通过在沸水中孵育样品 10 min 来终止酶的活性。样品冷却后，进行离心处理 15 min，转速为 5000 r/min，并收集上清液。使用第 1.2.2 中的方法，通过公式（3）计算 Fe^{2+}释放率。此外，使用 100 μg/mL 的 $FeSO_4$ 作为对比。

$$Fe^{2+}释放率(\%) = N_s/N_t \times 100 \quad 式（3）$$

式中：N_s 为上清液中 Fe^{2+}质量，μg；N_t 为消化溶液中总 Fe^{2+}质量，μg。

1.3　数据处理

所有实验均重复测定 3 次，结果以平均值±标准偏差表示。使用 Origin 2022 软件绘制图片，使用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。单因素方差分析和 Duncan 多重范围检验用于均值多重比较。P<0.05 时，认为有显著差异。

2　结果与分析

2.1　ABP-Fe 螯合物制备条件的优化

为了提高 ABP-Fe 制备的效率，研究了 pH、时间、ABP/$FeSO_4$ 的质量比和螯合温度对 ABP-Fe 螯

合物中铁含量的影响。由于在碱性条件下，反应体系呈碱性，含较高的 OH^-浓度，此时 Fe^{2+}更容易与反应系统中的 OH^-结合，导致 $Fe(OH)_2$ 沉淀的形成，从而降低螯合效率[22]，因此主要分析了在酸性条件下 pH 对螯合反应的影响。如图 1A 所示，pH 较低时，

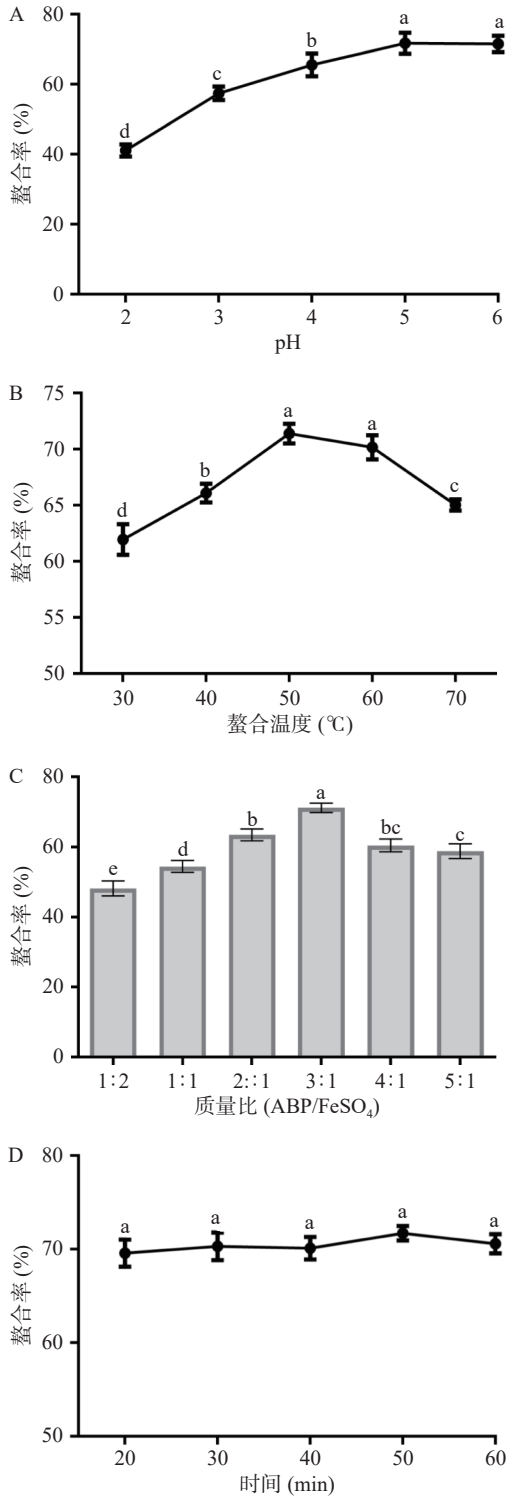


图 1 pH（A）、螯合温度（B）、肽-亚铁质量比（C）和反应时间（D）对亚铁螯合率的影响

Fig.1 Effects of pH (A), chelation temperature (B), the mass ratio of peptide to ferrous ion (C) and chelation time (D) on the ferrous chelation rate

注：图中不同小写字母表示同一指标不同数据差异显著（$P<0.05$）。

ABP 螯合铁的能力较弱，出现这一现象的原因是，当螯合系统中的 pH 较低时，H^+会与 Fe^{2+}竞争电子供体基团，阻碍螯合物的形成。随着 pH 的逐渐增加，H^+浓度开始下降，改善了潜在金属离子螯合位点的电子供给能力，从而提高 ABP 与 Fe^{2+}的结合能力，在 pH 5 时螯合率达到最大值 71.77%，之后 pH6 时螯合率为 71.58%，与其无显著差异（$P>0.05$），因此选择 pH 4~6 进行后续优化实验。螯合温度对螯合率的影响如图 1B 所示，当温度从 30 ℃ 升高到 50 ℃ 时，ABP-Fe 螯合物中的铁含量逐渐增加，从 61.95% 增加到最大值 71.41%。多肽与金属离子的结合是一种吸热反应，温度的升高增加了与 Fe^{2+}与多肽之间的碰撞频率，从而促进了螯合反应的进行。然而，当温度升高到 60 ℃ 时，ABP-Fe 螯合物中的铁含量下降，这可能是由于过高的温度导致 ABP 结构被破坏，阻碍了螯合反应的进行[23]。因此，后续优化实验在 40~60 ℃ 下进行。如图 1C 所示，随着 ABP 与 Fe^{2+}质量比的增加，ABP 的亚铁离子螯合能力呈现先增加后下降的趋势。当质量比达到 3:1 时，Fe^{2+}螯合能力达到最大值 71.18%。随后，随着 ABP 与 Fe^{2+}质量比的进一步增加，螯合能力开始下降。这种现象可能是由于当 ABP 与 Fe^{2+}质量比过低时，多肽无法为 Fe^{2+}提供足够的反应基团，导致大量 Fe^{2+}未参与螯合反应，螯合率较低。然而，当肽与亚铁离子的比例过高时，溶液中发生聚集，导致肽的有效利用率降低，阻碍其与金属离子的结合，所以，螯合肽铁质量比选择 2∶1、3∶1、4∶1。如图 1D 所示，螯合率在 20~60 min 内保持稳定，这表明反应时间对 ABP 的螯合能力没有显著影响。这可能是由于ABP 能够在较短时间内与 Fe^{2+}离子发生反应，并迅速达到平衡。因此选择 20 min 作为螯合反应时间。

在单因素实验基础上，选择对 Fe^{2+}螯合率有显著影响的三个因素（pH、螯合温度和肽铁质量比）进行螯合条件的正交试验优化。如表 2 所示，通过极

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal experimental results

试验号	A pH	B肽铁质量比(w/w)	C螯合温度（℃）	螯合率(%)
1	4	2∶1	40	57.46
2	4	3∶1	50	68.62
3	4	4∶1	60	55.53
4	5	2∶1	50	64.16
5	5	3∶1	60	66.97
6	5	4∶1	40	73.76
7	6	2∶1	60	72.4
8	6	3∶1	40	67.69
9	6	4∶1	50	60.20
k_1	60.54	64.67	66.30	
k_2	68.96	67.76	64.33	
k_3	66.76	63.16	64.97	
R	7.76	4.60	1.98	
最优组合	A_2	B_2	C_1	76.33

差分析，发现单因素工艺条件对 ABP-Fe 螯合率的影响顺序为 pH>肽铁质量比>螯合温度。确定的最佳螯合反应条件为 $A_2B_2C_1$，对应 pH 为 5.0，肽铁质量比为 3∶1，螯合温度为 40 ℃。在这些最佳条件下进行验证，得到的螯合率为 76.33%，高于正交试验各组别的结果。螯合率提高表明 ABP-Fe 的制备条件已成功优化。在这些条件下制备的螯合物可用于后续实验。

2.2　ABP-Fe 螯合物的结构

2.2.1　紫外吸收光谱分析　ABP 和 ABP-Fe 螯合物的紫外吸收光谱如图 2 所示，ABP 的最大吸收峰出现在 202 nm 处，对应于肽键中 C=O 的 n→π 跃迁[24]。而 ABP-Fe 的最大吸收峰出现在 205 nm，出现了明显的红移，其吸收强度相比于 ABP 显著增加。峰值红移的原因在于铁离子与肽中 C=O 螯合后，C=O 的原始结构发生了变化，从而增强了 ABP-Fe 螯合物中的 n→π 跃迁。此外，ABP 在与 Fe^{2+}螯合后，原来在 272 nm 处的吸收峰也红移至 274 nm 且吸收强度相比于 ABP 有所增加。其原因是铁螯合增加了肽中芳香族氨基酸残基的 π→π*跃迁，导致 ABP 和 ABP-Fe 螯合物在紫外吸收上存在显著差异。类似地，祝超智等[18] 发现，与亚铁离子螯合后，牛血红蛋白肽在 225 nm 处的吸收峰红移至 231 nm 处，并且吸收强度增加；林栋等[25] 研究显示核桃多肽 WP 在螯合 Fe^{2+}后，随着 Fe^{2+}浓度的增加，其紫外吸收发生红移，逐步从 276 nm 移动至 281 nm，吸收强度也逐渐上升。紫外光谱中吸收峰的位移和强度变化表明，ABP 通过金属结合位点（如–CO–NH–、–NH–、–COOH 等）与铁离子相互作用，形成了 ABP-Fe 螯合物的新结构。

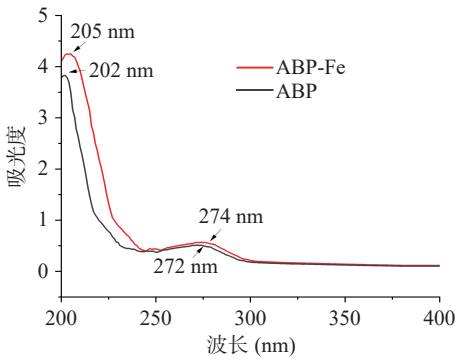


图 2　ABP 和 ABP-Fe 的紫外光谱图

Fig.2　UV spectra of ABP and ABP-Fe

2.2.2　荧光光谱分析　蛋白或多肽中含有芳香族氨基酸，如苯丙氨酸和色氨酸，在特定波长光的激发下，易发生 π-π*跃迁，从而产生荧光[26]。因此，荧光强度的变化是功能基团与金属离子相互作用的有效指示器。如图 3 所示，螯合物 ABP-Fe 的荧光强度低于 ABP。这种降低可能归因于铁离子与 ABP 中的活性基团（特别是羧基和氨基）的螯合，引发氨基酸残基的聚集和肽链的空间折叠，从而导致荧光强度的降低。此外，ABP 在 354 nm 处的荧光峰（由 Trp 生成）在螯合后蓝移至 350 nm。先前研究表明，金属离子通过与特定氨基酸如 Tyr、Trp 和 Asp 结合，可以改变肽的荧光峰波长[27]。本研究结果与 Li 等[28] 关于小米麸皮蛋白水解产物肽与锌离子螯合反应中荧光光谱变化的结果相似。总之，荧光光谱中发射峰位置和强度的变化表明，由于铁离子的结合导致 ABP 空间结构发生变化，从而生成了一种区别于 ABP 的新物质。

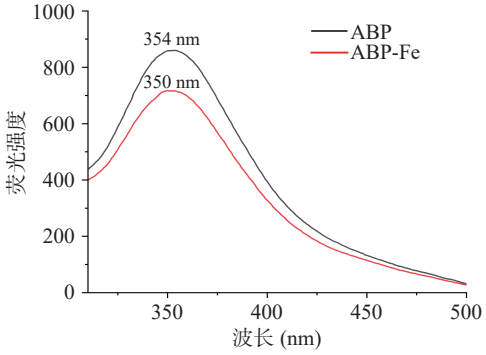


图 3　ABP 和 ABP-Fe 的荧光光谱图

Fig.3　Fluorescence spectra of ABP and ABP-Fe

2.2.3　X 射线衍射分析　X 射线衍射（XRD）通常用于确定物质的晶体性质，是通过晶体变化研究材料结构的公认分析方法[29]。当晶体材料暴露在 X 射线下时，由于晶体内部原子或离子的规则排列，X 射线会发生散射，在某些方向上产生相位增强，从而展现出特征性衍射图谱[30]。图 4 显示了 ABP 和 ABP-Fe 的

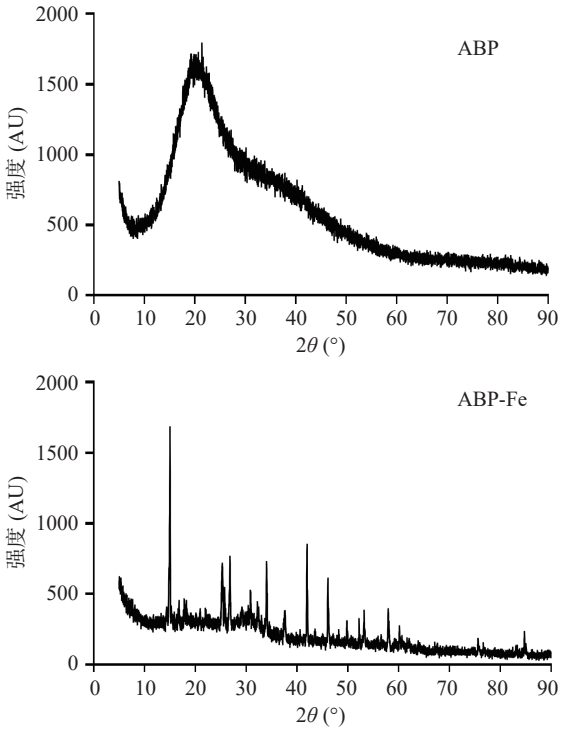


图 4　ABP 和 ABP-Fe 的 X 射线衍射图

Fig.4　X-ray diffraction of ABP and ABP-Fe

XRD 图谱。如图中所示，ABP 在 2θ 约为 22.34°处出现衍射峰，但吸收峰的背景较高且峰强度较低，表明 ABP 具有无定形和不规则结构。相反，当 ABP 与铁离子形成螯合物时，XRD 图谱发生了显著变化。ABP-Fe 在 2θ 值为 15.0°、25.38°、26.84°、30.82°、34.02°、42.08°、46.10°、57.96°等位置表现出多个尖锐的衍射峰。图谱背景较低，衍射峰高且尖锐，表明其具有明确的晶体结构。这表明 ABP 与铁的结合产生了新物质。

2.2.4 傅里叶红外光谱分析 多肽与金属离子间的配位反应可引起氨基与羧酸基团吸收峰位的变化。因此，傅里叶变换红外光谱(FT-IR)技术被广泛应用于鉴定肽活性基团与金属离子间的螯合位点[19,31]。图 5 展示了 ABP 及其铁螯合物(ABP-Fe)的红外特征谱：ABP 光谱中 3381 cm^{-1} 处的吸收峰归属于酰胺 A 带，表征羟基伸缩振动与 N-H 伸缩振动的复合吸收峰。当与 Fe^{2+}发生螯合作用后，该吸收峰红移至 3368 cm^{-1} 处。此位移现象的产生机制可归结于两方面：一方面源于 N-H 键中 N 原子孤对电子与 Fe^{2+}形成配位键导致的 N-H 键长延伸；另一方面则表明 Fe^{2+}的结合影响了肽分子间的氢键作用体系，证实 ABP 的氨基末端(NH_3)参与了 Fe^{2+}的螯合反应[32]。

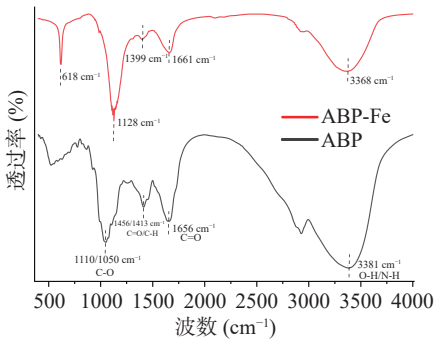


图 5 ABP 和 ABP-Fe 的红外光谱图

Fig.5 Infrared spectra of ABP and ABP-Fe

酰胺Ⅰ带(1656 cm^{-1})的吸收峰对应于酰胺基团(-NH-CO-)中 C=O 键的伸缩振动模式，而肩峰酰胺Ⅱ带(1550 cm^{-1})则主要与肽骨架中 N-H 弯曲振动及 C-N 伸缩振动相关[33−34]。与 Fe^{2+}结合后，酰胺Ⅰ带(C=O)在 1656 cm^{-1} 处的吸收峰强度明显降低，峰位发生 5 cm^{-1} 的蓝移(1656→1661 cm^{-1})，同时酰胺Ⅱ带吸收峰基本消失，这表明肽键中的氨基与羰基是 Fe^{2+}的重要结合位点。此外，螯合铁离子后，归属于-COOH 的 1413 cm^{-1} 吸收峰红移至 1399 cm^{-1} 处且相对强度明显降低，提示 COO^-可能与 Fe^{2+}发生共价结合[20]。1128 cm^{-1} 与 618 cm^{-1} 处新出现的尖锐特征峰，暗示样品中可能生成大量 C-O-Fe 结构。

综上可知，ABP 通过羧酸基团与氨基与 Fe^{2+}发生化学键合作用，其中羧酸基与氨基是 Fe^{2+}的关键结合位点，且 Fe^{2+}的结合作用显著改变了肽分子间的氢键作用力(即影响肽的二级结构)。

2.2.5 扫描电镜以及能谱分析 扫描电子显微镜(SEM)广泛应用于分析生物材料的表面微观结构[35]。如图 6A 和图 6B 所示，ABP-Fe 的微观结构与 ABP 存在明显差异。ABP 呈现平坦且光滑的表面结构，没有裂缝。相反，经过铁离子螯合后，ABP-Fe 表现出粗糙的颗粒状聚集形态。这主要归因于 ABP 与铁之间的桥接形成。此外，活性肽在与金属离子螯合过程中，促进了肽的快速聚集，导致寡聚体的形成。铁离子的存在加速了肽二聚体的形成并稳定了形成的二聚体，从而促进了聚集。铁离子还可能影响分子间作用力、表面张力和各向异性，从而进一步促进聚集过程[36]。肽-铁螯合物的 SEM 图像揭示了 ABP 与铁离子之间的共价和离子相互作用，表明了紧密且复杂的结合。这些发现与 Qu 等[32]研究玉米 ACE 抑制肽-铁螯合物聚集状态的观察结果一致。

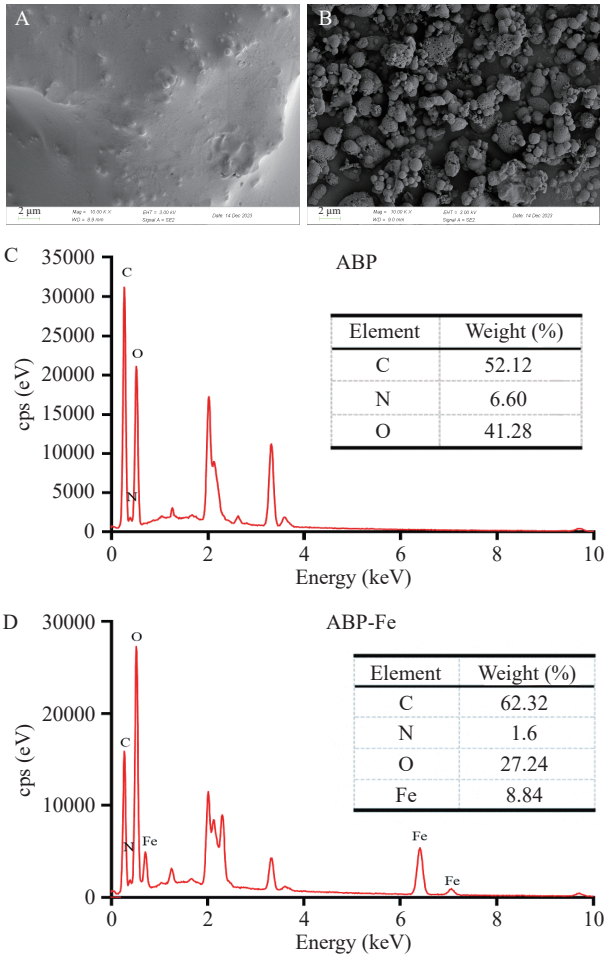


图 6 ABP (A)和 ABP-Fe (B)的扫描电镜图以及 ABP(C)和 ABP-Fe (D)的能量色散光谱图

Fig.6 Scanning electron microscopic images of ABP (A) and ABP-Fe (B) and surface elemental compositions of ABP (C) and ABP-Fe (D)

通过能量色散光谱(EDS)分析了 ABP 和 ABP-Fe 螯合物的表面元素组成，结果如图 6C 和图 6D 所示。ABP 主要由三种元素组成：C(52.12%)、N(6.6%)和 O(41.28%)。然而，与铁离子反应后，相较于原肽，出现了铁的三个特征吸收峰。此外，主要表面元素组

成也发生了显著变化，涉及四种元素：C(62.32%)、N(1.6%)、O(27.24%)和 Fe(8.84%)。铁元素信号的存在表明铁离子成功与 ABP 结合[32,37]。

2.2.6　粒径分布以及 Zeta 电位分析　粒径是表征金属螯合肽的重要物理参数，直接决定样品的应用范围[38]。ABP 及其铁螯合物(ABP-Fe)的粒径分布如图 7A 所示。ABP-Fe 的粒径(825.22±3.38 nm)显著大于 ABP(255.21±4.36 nm)，说明 ABP 与 Fe^{2+}的分子间相互作用促进了不同肽段间的连接[39]，使复合粒径增大。此外，ABP 和 ABP-Fe 的多分散指数(PDI)均低于 0.5(ABP=0.421±0.06; ABP-Fe=0.416±0.03)，表明两者分布密集且均匀。与本研究类似，绿豆肽的粒径为 224.25±18.04 nm，而螯合钙后的肽粒径升高至 384.67±9.92 nm[40]。此外，这些结果也与 SEM 结果相吻合，证明 ABP 与 Fe 离子的反应促进了肽链的聚集与折叠。

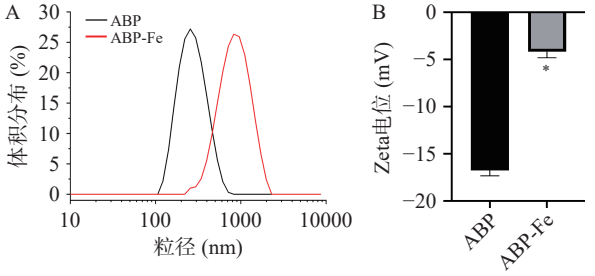


图 7　ABP 和 ABP-Fe 的粒径分布(A)以及 Zeta 电位(B)

Fig.7　Particle size distribution (A) and Zeta potential (B) of ABP and ABP-Fe

注：*表示差异性显著，$P<0.05$。

为了进一步研究静电作用，本研究对 ABP 和 ABP-Fe 进行了 Zeta 电位分析，结果如图 7B 所示。与 ABP 相比，ABP-Fe 的 Zeta 电位显著从−16.76 mV 变化为−4.18 mV($P<0.05$)，表明螯合物颗粒表面负电荷减少。该趋势与 Sun 等[41] 关于南极磷虾肽-锌螯合物 Zeta 电位由−29.20 mV 升至−10.20 mV 的报道一致。研究表明，蛋白质表面电荷与多肽链中不同氨基酸残基的电离状态密切相关[42]。ABP-Fe Zeta 电位的升高提示在螯合反应过程中，部分含羧基的酸性氨基酸残基与亚铁离子结合，导致表面负电荷被中和[43]。此外，较低的 Zeta 电位意味着颗粒间静电斥力减弱，从而促进分子间聚集，从而使 ABP-Fe 形成更大粒径的聚集体。

2.2.7　原子力显微镜分析　通过原子力显微镜(AFM)获得的肽和肽-铁螯合物的二维和三维相位图，分别如图 8A 和图 8B 所示。使用 Nanoscope 分析软件的粒子分析功能对其高度和直径进行了分析。ABP 的算术平均粗糙度(Ra)在与铁结合后从 0.415 nm 增加到 0.773 nm。此外，高度传感器图像和三维(3D)图像显示，ABP 呈现聚集特性，粒子高度在约 1~2.4 nm 之间(图 8A)。这种现象与 ABP 的羧基有关，羧基可能通过分子间氢键诱导聚集[19]。然而，ABP-Fe 螯合物更容易形成较小的聚集体或单一分散状态(图 8B)。粒子总数量显著增加，分子尺寸显著增大，粒子高度范围为 1~5.1 nm。粒子高度分布的变化可以解释在 SEM 结果中观察到的 ABP-Fe 粗糙度的增加。

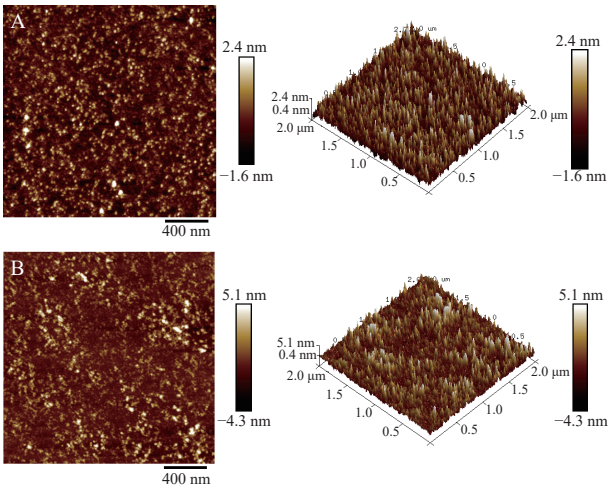


图 8　ABP (A)和 ABP-Fe(B)的原子力显微镜图

Fig.8　AFM images of ABP (A) and ABP-Fe (B)

2.3　ABP-Fe 螯合物的稳定性

2.3.1　ABP-Fe 对酸碱的稳定性分析　图 9 展示了 ABP-Fe 螯合物在酸碱条件下的稳定性。在不同 pH 下，ABP-Fe 中铁离子的保持率反映了其在酸性和碱性条件下的明显稳定性差异。在弱酸性和碱性环境(pH6~10)中，ABP-Fe 表现出优异的稳定性，留率均保持在 90% 左右。然而，ABP-Fe 螯合物在强酸性环境(pH2)中稳定性降低，铁离子保持率仅为 34.00%±2.54 %。Qu 等[32] 同样报道了玉米 ACE 抑制肽-铁螯合物在 pH10 时的铁保持率为 95.71%，但在 pH2 时下降至 10.18%。这是因为在酸性环境中，铁离子带正电荷，而 H^+也带正电荷，它们会与 Fe^{2+}竞争超声处理的 CP 上的螯合位点，导致部分螯合的 Fe^{2+}流失[44]。总体而言，ABP-Fe 在酸性和碱性条件下(pH6~10)表现出较高的稳定性，铁离子保持率较

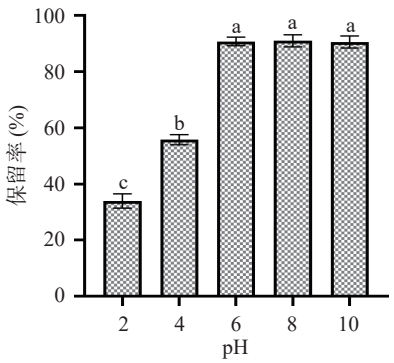


图 9　不同 pH 对亚铁离子保留率的影响

Fig.9　Influence of different pH on the retention rate of ferrous ions

注：图中不同字母代表数据之间存在显著性差异($P<0.05$)，图 10~图 11 同。

高。大多数常见食物的 pH 系统在 5~9 之间，对 ABP-Fe 的稳定性影响较小。因此，本研究中的 ABP-Fe 适合作为铁补充剂和功能性食品使用。

2.3.2 ABP-Fe 对热的稳定性分析 图 10 显示了 ABP-Fe 在不同温度下的稳定性。在 25~55 ℃ 范围内，ABP-Fe 螯合物表现出优异的稳定性，铁的保持率高于 90%。即使在 70 ℃ 的高温下，ABP-Fe 仍能保持 87.93%±1.13% 的螯合铁含量。这一稳定性变化趋势与肖怀秋等[45] 在花生肽-铁螯合物中的结果相似，该螯合物在 10~60 ℃ 范围内具有良好的热稳定性，而在 60 ℃ 以上温度下其铁螯合率显著降低。这是因为在极高温度下，ABP-Fe 结构被破坏，导致肽与铁的结合位点受到损害，稳定性变差。上述结果表明，ABP-Fe 螯合物具有较强的热稳定性，在 25~70 ℃ 范围内亚铁离子保留率在 85% 以上。

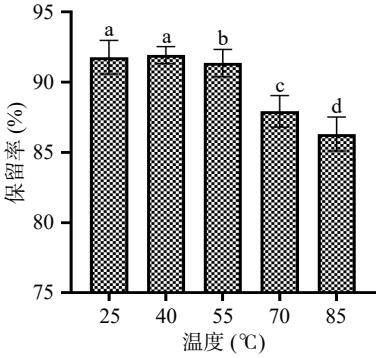


图 10 不同温度对亚铁离子保留率的影响

Fig.10 Influence of different temperature on the retention rate of ferrous ions

2.3.3 ABP-Fe 在体外模拟消化过程中铁的释放率 口服铁膳食补充剂的生物利用度显著受到各种胃肠消化酶作用的影响，这会极大影响铁的生物利用度。如图 11 所示，ABP-Fe 和 $FeSO_4$ 在胃消化阶段(0~120 min)的铁溶解度显著高于肠消化阶段(120~240 min)(P<0.05)。当铁离子从胃进入肠道时，随着 pH 的升高，一部分 Fe^{2+}可能会转化为不溶性铁盐[22]。对于 ABP-Fe，尽管胃肠道消化导致肽链降解，铁溶解度下降，但在碱性环境中获得的小肽可以形成新的肽-铁螯合物，从而保护 Fe^{2+}免于形成沉淀[45]。因此，在整个肠道消化阶段，ABP-Fe 的铁溶解度显著高于 $FeSO_4$(P<0.05)。以上结果显示，ABP-Fe 在模拟消化过程中表现出持续且较高的铁溶出率，具有良好的溶解性与生物可及性，提示 ABP-Fe 螯合物作为一种新型铁补充剂，具有提高人体胃肠道铁吸收的潜力。

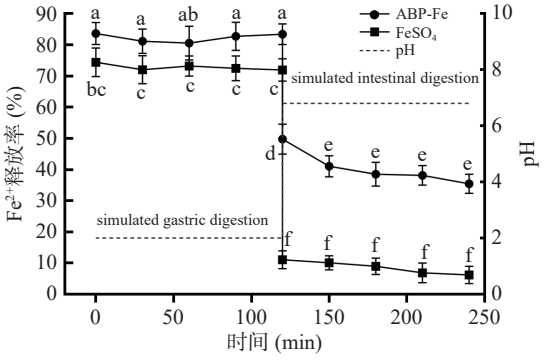


图 11 体外模拟胃肠消化条件下 ABP-Fe 和 $FeSO_4$ 的 Fe^{2+}释放率

Fig.11 Fe^{2+} release rates of ABP-Fe and $FeSO_4$ under simulated gastrointestinal digestion *in vitro*

3 结论

本文通过酶解薏仁米糠蛋白制备了薏仁米糠多肽 ABP，并利用其开发了一种新型铁膳食补充剂。在 pH 为 5.0，肽铁质量比为 3∶1，螯合温度为 40 ℃ 条件下，ABP-Fe 复合物的 Fe^{2+}螯合率可达 76.33%。紫外吸收光谱、荧光光谱及 X 射线衍射分析表明，ABP-Fe 是一种区别于 ABP 的新型化合物。原子力显微镜、扫描电镜和粒径分布分析显示，Fe^{2+}参与的分子间及分子内相互作用导致 ABP 空间结构发生显著改变，引发后续的多肽聚集与折叠，从而使 ABP-Fe 螯合物呈现独特的形态特征。红外光谱分析进一步证实，ABP 中羧基的氧原子和氨基的氮原子是主要的螯合位点。在稳定性方面，ABP-Fe 复合物对不同 pH 和温度均表现出良好的稳定性。体外胃肠模拟消化试验结果证实，ABP-Fe 具有比 $FeSO_4$ 更高的 Fe^{2+}释放率。综合实验结果表明，源于薏仁米糠多肽的 ABP-Fe 复合物作为铁膳食补充剂和生物活性肽具有广阔的应用前景。未来需进一步探究该多肽螯合物的体内吸收特性，并系统解析其潜在的新型生物活性。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] ZHU Fan. *Coix*: Chemical composition and health effects[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 61: 160−175.

[2] YANG Qingyun, ZHAO Mouming, LIN Lianzhu. Adsorption and desorption characteristics of adlay bran free phenolics on macroporous resins[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 900−907.

[3] LIN Lianzhu, YANG Qingyun, ZHAO Kun, et al. Identification of the free phenolic profile of Adlay bran by UPLC-QTOF-MS/MS and inhibitory mechanisms of phenolic acids against xanthine oxidase[J]. Food Chemistry, 2018, 253: 108−118.

[4] 贾青慧, 陈莉, 王珍, 等. 薏米及薏米糠氨基酸组成分析及营养评价[J]. 食品工业, 2017, 38(4): 185−188. [JIA Qinghui, CHEN Li, WANG Zhen, et al. Amino acid composition and nutritional evaluation of *Coix* seed and rice bran[J]. The Food Industry, 2017, 38(4): 185−188.]

[5] 林莉, 秦礼康, 刘荣林, 等. 响应面法优化水酶法提取薏米糠油工艺研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(4): 1−5. [LIN Li, QIN Likang, LIU Ronglin, et al. Optimization of aqueous enzymatic extraction of adlay bran oil by response surface methodology[J]. China Oils and Fats, 2015, 40(4): 1−5.]

[6] 杨华连, 陈莉, 卢红梅, 等. 薏仁米糠多肽的功能特性研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(4): 126−130. [YANG Hualian, CHEN

Li, LU Hongmei, et al. Functional properties of adlay bran polypeptide[J]. China Brewing, 2019, 38(4): 126−130.]
[7] PUIG S, ASKELAND E, THIELE D J. Coordinated remodeling of cellular metabolism during iron deficiency through targeted mRNA degradation[J]. Cell, 2005, 120(1): 99−110.
[8] MARTÍNEZ-NAVARRETE N, CAMACHO M M, MARTÍNEZ-LAHUERTA J, et al. Iron deficiency and iron fortified foods: A review[J]. Food Research International, 2002, 35(2−3): 225−231.
[9] HURRELL R, EGLI I. Iron bioavailability and dietary reference values 1 2 3 4[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2010, 91(5): 1461S−1467S.
[10] MANTADAKIS E. Iron deficiency anemia in children residing in high and low-income countries: Risk factors, prevention, diagnosis and therapy[J]. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases, 2020, 12(1): e2020041.
[11] LI Bo, HE Hui, SHI Wen, et al. Effect of duck egg white peptide-ferrous chelate on iron bioavailability *in vivo* and structure characterization[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(4): 1834−1841.
[12] DEWEY K G, COHEN R J, LÖNNERDAL B, et al. Iron supplementation affects growth and morbidity of breast-fed infants: Results of a randomized trial in Sweden and Honduras[J]. The Journal of Nutrition, 2002, 132(11): 3249−3255.
[13] BU Guanhao, TI Guanghui, ZHAO Xiaoling, et al. Isolation, identification, and chelation mechanism of ferrous-chelating peptide from peanut protein hydrolysate[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(15): 9368−9378.
[14] LONDON E. The molecular formula and proposed structure of the iron-dextran complex, IMFERON[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2004, 93(7): 1838−1846.
[15] DING Xiangjun, XU Mengdan, LI Haili, et al. Improvement of *in vivo* iron bioavailability using mung bean peptide-ferrous chelate[J]. Food Research International, 2024, 190: 114602.
[16] YU Xuening, LIU Xiaoyang, ZHOU Dayong. 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: e13277.
[17] TORRES-FUENTES C, ALAIZ M, VIOQUE J. Iron-chelating activity of chickpea protein hydrolysate peptides[J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1585−1588.
[18] 祝超智, 温耀涵, 许龙, 等. 牛血红蛋白肽的酶解工艺优化及其亚铁螯合物结构、稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(8): 75−87. [ZHU Chaozhi, WEN Yaohan, XU Long, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of bovine hemoglobin peptide and study on structure and stability of ferrous chelate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(8): 75−87.]
[19] DU Bin, CHEN Haijun, LI Yunan, et al. Novel adlay bran peptides-based zinc supplement: Optimization of the preparation procedure, structural identification, stability, and zinc transport ability *in vitro*[J]. International Journal of Food Properties, 2024, 27(1): 1230−1246.
[20] 尹乐斌, 何平, 李乐乐, 等. 豌豆多肽-亚铁螯合物制备工艺优化及抗氧化研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(4): 149−153,159. [YIN Lebin, HE Ping, LI Lele, et al. Optimization of preparation technology and antioxidant activity of pea polypeptide-ferrous chelate[J]. China Condiment, 2022, 47(4): 149−153,159.]
[21] FU T J, ABBOTT U R, HATZOS C. Digestibility of food allergens and nonallergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal FluidA comparative study[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(24): 7154−7160.
[22] SUN Na, CUI Pengbo, JIN Ziqi, et al. Contributions of molecular size, charge distribution, and specific amino acids to the iron-binding capacity of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) ovum hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2017, 230: 627−636.
[23] 杨静, 石景, 邹烨, 等. 鸡血多肽亚铁螯合物的制备工艺优化及结构表征[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(6): 1678−1685. [YANG Jing, SHI Jing, ZOU Ye, et al. Preparation process optimization and structural characterization of chicken blood peptides-iron chelate[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2022, 38(6): 1678−1685.]
[24] ZHU Chenhui, SUN Yan, WANG Yaoyu, et al. The preparation and characterization of novel human-like collagen metal chelates[J]. Materials Science and Engineering: C, 2013, 33(5): 2611−2619.
[25] 林栋, 张咏清, 肖自芬, 等. 核桃肽铁螯合物的制备及其结构表征[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(4): 221−227,235. [LIN Dong, ZHANG Yongqing, XIAO Zifen, et al. Preparation and structural characterization of walnut peptide-ferrous chelate[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(4): 221−227,235.]
[26] 侯健, 李美萍, 郭彩霞, 等. 辣木籽粕多肽亚铁螯合物的制备及其结构分析[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(11): 75−82. [HOU Jian, LI Meiping, GUO Caixia, et al. Preparation and structure analysis of polypeptide chelate with ferrous iron from *Moringa oleiferia* seed meal[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38(11): 75−82.]
[27] LIN Jiaping, CAI Xixi, TANG Mengru, et al. Preparation and evaluation of the chelating nanocomposite fabricated with marine algae *Schizochytrium* sp. protein hydrolysate and calcium[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(44): 9704−9714.
[28] LI Yan, SHI Panqi, ZHENG Yajun, et al. Millet bran protein hydrolysates derived peptides-zinc chelate: Structural characterization, security prediction *in silico*, zinc transport capacity and stability against different food processing conditions[J]. Journal of Food Science, 2023, 88(1): 477−490.
[29] WANG Li, DING Yuanyuan, ZHANG Xinxia, 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.
[30] EPP J. 4-X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization[M]. Woodhead Publishing, 2016.
[31] WANG Bo, XIAO Shan, ZHOU Guicheng, et al. Novel casein-derived peptide-zinc chelate: Zinc chelation and transepithelial transport characteristics[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(18): 6978−6986.
[32] QU Wenjuan, FENG Yiting, XIONG Ting, et al. Preparation of corn ACE inhibitory peptide-ferrous chelate by dual-frequency ultrasound and its structure and stability analyses[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 83: 105937.
[33] LIU Xiaoyang, CHEN Wei, QIAN Chen, et al. Interaction between dissolved organic matter and long-chain ionic liquids: A microstructural and spectroscopic correlation study[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(9): 4812−4820.
[34] CHEN W, HABIBUL N, LIU X Y, et al. FTIR and synchronous fluorescence heterospectral two-dimensional correlation analyses on the binding characteristics of copper onto dissolved organic matter[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(4): 2052−2058.

[35] VYAS N, SAMMONS R L, ADDISON O, et al. A quantitative method to measure biofilm removal efficiency from complex biomaterial surfaces using SEM and image analysis[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 32694.

[36] MANNINI B, HABCHI J, CHIA S, et al. Stabilization and characterization of cytotoxic Aβ_{40} oligomers isolated from an aggregation reaction in the presence of zinc ions[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2018, 9(12): 2959−2971.

[37] WANG Xu, GAO Ang, CHEN Yue, et al. Preparation of cucumber seed peptide-calcium chelate by liquid state fermentation and its characterization[J]. Food Chemistry, 2017, 229: 487−494.

[38] CASTRO-ROSAS J, CRUZ-GALVEZ A M, GOMEZ-ALDAPA C A, et al. Biopolymer films and the effects of added lipids, nanoparticles and antimicrobials on their mechanical and barrier properties: A review[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2016, 51(9): 1967−1978.

[39] ZHANG Lingtuo, LIN Yanlan, WANG Shaoyun. Purification of algal calcium-chelating peptide and its physical chemical properties[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2018, 27(4): 518−530.

[40] ZHAI Wenliang, LIN Dong, MO Ruoshuang, et al. Process optimization, structural characterization, and calcium release rate evaluation of mung bean peptides-calcium chelate[J]. Foods, 2023, 12(5): 1058.

[41] SUN Runan, LIU Xiaofang, YU Yuan, et al. Preparation process optimization, structural characterization and *in vitro* digestion stability analysis of Antarctic krill (*Euphausia superba*) peptides-zinc chelate[J]. Food Chemistry, 2021, 340: 128056.

[42] KAMSHAD M, JAHANSHAH TALAB M, BEIGOLI S, et al. Use of spectroscopic and Zeta potential techniques to study the interaction between lysozyme and curcumin in the presence of silver nanoparticles at different sizes[J]. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2019, 37(8): 2030−2040.

[43] ATHIRA S, MANN B, SHARMA R, et al. Preparation and characterization of iron-chelating peptides from whey protein: An alternative approach for chemical iron fortification[J]. Food Research International, 2021, 141: 110133.

[44] WANG Bo, XIAO Shan, CHEN Xiangyu, et al. Structural characterisation, gastrointestinal digestion stability and transepithelial transport study of casein peptide-zinc chelate[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2022, 57(5): 2770−2778.

[45] 肖怀秋, 李玉珍, 刘军, 等. 花生肽亚铁金属配位螯合物结构解析及稳态性研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(5): 119−122. [XIAO Huaiqiu, LI Yuzhen, LIU Jun, et al. Structural analysis and stability of peanut peptide-ferrous metal coordination chelator[J]. China Brewing, 2019, 38(5): 119−122.]