

周莹, 石景, 邹烨, 等. 食源性肽铁螯合物研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(14): 418–425. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080273

ZHOU Ying, SHI Jing, ZOU Ye, et al. Research Progress on Iron Chelates of Foodborne Peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(14): 418–425. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080273

· 专题综述 ·

食源性肽铁螯合物研究进展

周莹^{1,2}, 石景², 邹烨², 王道营², 杨彪², 马晶晶², 杨静^{2,3,*}, 徐为民^{1,2,3,*}

(1. 西藏农牧学院食品科学学院, 西藏自治区林芝 860000;

2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014;

3. 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: 铁元素是人体维持红细胞代谢、辅助骨髓造血的必需营养素。铁元素的缺乏会引起多种疾病, 如贫血、发育不良、孕妇早产等。肽铁螯合物作为一种新兴的补铁产品, 因其具有吸收率高、安全无副作用等优点, 近年来逐渐被当成新型的理想补铁剂。本文主要综述了食源性肽及肽铁螯合物的制备及其螯合活性影响因素, 归纳肽铁结合机制, 对其结合位点和螯合模式进行了概括, 进一步分析其构象变化和分子间作用力, 并总结其促进铁生物利用度的方式, 旨在为肽铁螯合物在功能性食品、新型补铁剂上的开发应用提供参考。

关键词: 食源性肽, 肽铁螯合物, 螯合机理, 构象分析, 生物利用度

中图分类号: TS251

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)14-0418-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080273



本文网刊:

Research Progress on Iron Chelates of Foodborne Peptides

ZHOU Ying^{1,2}, SHI Jing², ZOU Ye², WANG Daoying², YANG Biao², MA Jingjing²,
YANG Jing^{2,3,*}, XU Weimin^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science, Tibet Agriculture and Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, China;

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

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

Abstract: Iron is an essential nutrient for maintaining red blood cell metabolism and assisting bone marrow hematopoiesis. Iron deficiency can cause various diseases, such as anemia, stunted growth, and premature birth in pregnant women. As a new iron supplement product, peptide iron chelate has been used as a new ideal iron supplement in recent years because of its advantages of high absorption rate, safety, and no side effects. This paper mainly reviews the preparation of foodborne peptides and peptide iron chelates and the factors affecting their chelation activity, explored the iron-binding mechanism of peptides, summarizes their binding sites and chelation patterns, further analyzes their conformational changes and intermolecular forces, and summarizes how they promote iron bioavailability. The aim is to provide a reference for developing and applying iron peptide chelates in functional foods and new iron supplements.

Key words: food derived peptides; iron chelated peptide; chelating mechanism; conformational analysis; bioavailability

铁是生物体维持正常生命活动所必需的微量元素, 具有多种生物功能, 是细胞色素、血红蛋白以及酶的重要组成部分, 承担运输氧和电子的作用^[1]。缺

铁会引起缺铁性贫血、能量代谢功能障碍、免疫损伤等疾病^[2]。2010 年, 一项全球铁缺乏调查显示, 世界上 1/3 的人口患有贫血^[3], 2020 年《中国居民营养

收稿日期: 2023-08-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32301991); 江苏省自然科学基金青年科学基金项目 (BK20210160); 江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX (23) 3054); 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-41)。

作者简介: 周莹 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肉品及其副产物加工, E-mail: 1334001953@qq.com。

* 通信作者: 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。

徐为民 (1969-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 肉品加工与质量控制, E-mail: weiminxu2002@aliyun.com。

与慢性病状况调查报告》显示,中国成年人贫血率为 8.7%,婴幼儿和孕妇中铁缺乏现象更为普遍^[4],补充铁剂可以有效改善铁缺乏现象。虽然目前常见的硫酸亚铁、葡萄糖酸亚铁、乳酸亚铁等补铁剂铁含量高,但是在体内的利用率较低,且有金属铁锈味,存在胃肠刺激,难以长期食用^[5]。针对这一现象,氨基酸铁及肽铁螯合物等新型补铁剂已成为目前关注及研究的热点,其中肽铁螯合物在机体内有着特殊的螯合机制和转运模式,能够通过多肽的转运系统直接被人体肠道吸收,与无机盐补铁剂相比,对人体刺激较小,具有生物利用率高、稳定性好以及低生物毒性等优点^[6],与氨基酸铁螯合物相比,多肽来源范围广,更具有发展空间。

多肽安全性较高、成本较低,且吸收速度快、能量消耗低^[7-8],不仅具有抗氧化^[9]、预防机体衰老^[10]、降血脂^[11]等功能,还能与亚铁离子结合,形成肽铁螯合物,牛血红蛋白肽亚铁螯合物和燕麦多肽亚铁螯合物都通过体外消化实验、细胞实验、动物实验等方法表明两者均具有良好的消化稳定性及更高的生物利用度^[12-13]。因此,由于食源性肽铁螯合物兼具功能性和营养性,研究普遍认为肽铁螯合物是当前较为理想的新型补铁剂,极具发展潜力^[14]。现有大量的关于食源性肽铁螯合物的研究,已从各种食源性蛋白中制备和鉴定了铁螯合肽,在生物利用度和构效关系方面研究也取得了新的进展,因此本文就食源性肽铁螯合物的制备、螯合机理、构效关系和生物利用度进行综述,从而为肽铁螯合物的未来研究方向的发展提供参考。

1 肽铁螯合物的制备

目前,以二价铁为铁源制备肽铁螯合物的方法较多,先制备螯合所需的多肽,再与氯化亚铁等铁源在适当的肽铁比、螯合温度、反应时间、pH 等条件下反应而得到肽铁螯合物。螯合反应受反应条件、多肽分子量及氨基酸组成等因素的影响。

1.1 肽及亚铁螯合肽的制备

通常蛋白水解后用固定金属亲和层析色谱、凝胶过滤色谱、反相高效液相色谱等方法,将与亚铁离子螯合活性强的多肽分离纯化出来,再制备亚铁螯合肽。肽的制备方法有酶水解法、发酵法和化学合成法等,其中酶水解法因反应条件温和可控、可行性高、安全性高被广泛用于实验室生产^[15]。

酶水解法利用单一酶或者复合酶在最适条件下对大豆蛋白^[16]、虾蛋白^[17]、鲢鱼蛋白^[18]等食物蛋白质进行水解,最终制得多肽。相较于单酶水解法,复合酶水解法在制备多肽时既可以提高水解度,又能在短时间内降低酶解产物的分子量^[19],因此当前多用复合酶水解的方法制备多肽,常用于制备亚铁螯合肽的酶有中性蛋白酶、胰蛋白酶、碱性蛋白酶等。高雅鑫等^[20]采用添加量为 1:1 的中性蛋白酶和风味蛋白酶协同水解牡蛎蛋白,酶解液的氨基态氮的含量与理

论值接近,说明优化结果良好。为了获得更好的金属离子螯合率,研究中多对酶解条件进行优化,例如酶的筛选、酶添加量、酶反应 pH、反应时间、反应温度等^[21]。然而,生物酶价格昂贵,为达到最佳水解结果在工艺上要严格控制反应条件,同时避免与具有复杂基质食物蛋白质的相互作用^[22]。目前关于这方面的相关研究较少,还有待进一步探索。

微生物发酵法是利用微生物菌种代谢产生的蛋白酶水解底物蛋白,继而从发酵液中制备多肽产物的方法^[23]。虽然发酵法生产金属离子螯合肽仍处于起步阶段,但因其安全、经济、环保的优势受到越来越多的关注。肖连冬等^[24]通过米曲霉固态发酵麦糟生产活性麦糟蛋白肽,通过单因素实验和正交试验对工艺条件优化,蛋白肽的转化率可达 85% 以上,有效提高了麦糟蛋白应用价值。发酵菌株具有安全性高、产酶丰富、生长迅速的优点,与酶水解法相比,微生物发酵生产多肽的成本相对较低^[25]。然而,微生物发酵法应用范围较窄,使生产多肽的发酵工业受到阻碍^[26]。因此,在工业生产中常将微生物发酵法与酶水解法相结合以提高生产效率,从而达到高效制备金属离子螯合肽的目的。Wang 等^[16]采用酶水解法和乳酸杆菌发酵法相结合,成功制备了高钙含量的胶原肽。单因素实验结果表明,微生物发酵辅助双酶酶解的豆渣蛋白水解度要大于单一双酶酶解,能够有效减少酶解时间、增加酶解效果^[27]。

化学合成法利用氨基酸之间缩合反应进行,通常将多肽的氨基酸序列从分子的 C 端向 N 端反复添加,常见的有液相合成法、固相合成法等。液相合成法可以让短链和中链多肽分离,其产物的纯度和产率也较高,可以在生物工业技术中大量应用,又因其具有成本相对较低、中间产物可以优化等优点,也可用于合成长肽链^[28]。化学合成法操作简单,然而有许多局限性,例如难以控制化学成分变化的过程,在极端温度和 pH 条件下用强化学品和溶剂水解会导致营养质量差和功能低下^[29];固相合成法将氨基酸的 C 端连接在不溶性固相载体上,通过固相载体对氨基酸进行缩合反应,向 N 端延长肽链,最后将肽链从固相载体上裂解下来,得到合成肽^[30]。通过与液相合成法比较,固相合成法具有操作简单、工艺成熟、所合成多肽纯度高等特点,因此适用范围更广。当前合成肽已成为药物研究和开发的主流,然而在食品领域,更多地是将目标活性肽从食物基质中分离得到。

亚铁螯合肽是由亚铁离子和多肽按定量摩尔比连系形成的一种具有环状布局有机化合物^[31]。亚铁螯合肽常用的螯合方法有水体系合成法和干粉体系合成法。水体系合成法是指将多肽与亚铁盐按一定比例泡合,水浴加热一定时间,加入有机溶剂使螯合物沉淀,干燥得到亚铁螯合肽。在制备花生肽亚铁螯合物的研究中,通过响应面试验优化得到肽铁质量比 3.2:1、反应温度 38 ℃、pH8.0、时间 30 min 的最

佳螯合工艺条件^[32]。干粉体系合成法是指将多肽与亚铁盐混合,在水浴中加热成糊状,蒸发干燥制得亚铁离子螯合肽。熊喆等^[18]通过单因素实验结合响应面试验优化了鲢鱼鳞胶原肽铁螯合物的制备工艺,即肽液浓度为 2.5%、肽铁质量 5:1、并在最佳螯合反应条件下,测得肽铁螯合率为 92.04%。

1.2 多肽亚铁螯合能力影响因素

研究表明多肽的氨基酸组成、排列、分子量等因素,均会影响其亚铁螯合能力,其中氨基酸组成和排列是最重要的影响因素^[33]。

一般来说,具有亚铁离子螯合活性的多肽大都含有半胱氨酸、组氨酸、丝氨酸、天冬氨酸和谷氨酸等氨基酸。Torres-Fuentes 等^[34]对鹰嘴豆肽与亚铁离子的螯合过程进行分析,结果表明,组氨酸含量超过 20% 时螯合活性最强。用液相色谱串联质谱仪分析与亚铁离子螯合的乳清肽的序列,80% 以上的肽序列含有 2~5 个天冬氨酸残基,这证实了天冬氨酸可能与亚铁离子有较高的结合力^[35]。不同的氨基酸排列顺序对于螯合能力也有重要影响。研究发现,芝麻肽的序列为天冬酰胺-半胱氨酸-丝氨酸时表现出最高的铁螯合能力^[36],阿拉斯加鳕鱼皮肤的氨基酸序列为丝氨酸-半胱氨酸-组氨酸时,能得到最高的铁螯合率^[29]。

多肽的分子量是影响螯合性能和稳定性的重要因素。越来越多的研究显示低分子量的多肽与亚铁离子具有更高的螯合能力。Guo 等^[37]发现从阿拉斯加鳕鱼皮中提取出的分子量为 345 Da 的肽与亚铁离子有最佳螯合能力。从鹰嘴豆蛋白中提取的小分子多肽(500 Da 以下)显示出比分子量大的组分(500 Da 以上)更高的铁结合活性^[34]。多肽分子量的大小并没有固定值界限,大部分都是在一定区间内。200~1000 Da 小分子海参卵肽与铁螯合能力呈正相关,大于 3000 Da 的肽则呈负相关^[38],这与小于 3000 Da 的蓝斑黄貂鱼肽具有最高的铁螯合能力的结果一致^[39]。经过胰蛋白酶水解制备的分子量小于

1000 Da 的大黄鱼鱼卵肽与亚铁离子有较强的螯合能力^[40]。

研究发现,一些氨基酸与亚铁离子的螯合能力是氨基酸上的特殊基团决定的^[41]。当某些氨基酸残基位于 N-末端或 C-末端时,多肽的亚铁螯合活性被增强,位于 N-末端的组氨酸残基多肽的金属螯合能力比位于 C-末端的强。酸性氨基酸、碱性氨基酸和一些特殊氨基酸对亚铁离子有很强的螯合能力。例如,组氨酸和谷氨酸分别以咪唑环、 γ -COO-提供了更多的铁结合位点,从而具有较好的螯合能力^[42]。

2 肽铁螯合物的螯合机制

多肽与金属离子发生螯合的先决条件是多肽能够为金属离子提供电子对^[43],肽的末端羧基或氨基中含有比较多的氮原子、氧原子和硫原子,铁离子可与多肽在氨基、羧基等位点发生配位,以共价键形式结合。

2.1 多肽与亚铁离子的结合位点

在肽铁螯合机理的表征中,肽铁结合的本质是亚铁离子与多肽中特定的化学基团发生反应。通过傅里叶变换红外光谱、质谱、核磁共振光谱等,比较金属离子结合前后红外吸收峰和波长的变化来识别肽的结合基团^[44]。对肽铁螯合物的光谱研究表明,天冬氨酸和谷氨酸残基的羧酸阴离子、半胱氨酸残基的巯基、丝氨酸残基的羟基、氨基酸残基的羟基、多肽键和天冬酰胺的羰基、亚氨基可能是亚铁离子的配位部位^[45-47],如表 1 所示。

多肽侧链中的氮原子、氧原子、硫原子,可以提供孤对电子与亚铁离子结合,氮原子是亚铁离子的主要结合位点^[41]。通过红外光谱研究黄皮种子抗氧化肽铁螯合物的结合位点,发现主要通过羧基氧、氨基氮原子与亚铁离子结合^[48]。Zhang 等^[49]通过红外光谱实验,证实绿豆肽与亚铁离子螯合位点主要为有机化合物中的一些特征官能团,例如氨基,羧基和咪唑基氮等。精氨酸侧链上的氨基和亚胺也可以与亚铁

表 1 来自不同食物来源的铁螯合肽的结合位点

Table 1 Binding sites of iron-chelating peptides from different food sources

蛋白质来源	结合位点	铁螯合活力	分子量(Da)	文献
绿豆	氨基、羧基、咪唑基团	61.25±1.02 μ g/mg	—	[49]
罗非鱼皮	羧基、胍氮	—	<5000	[52]
花生	氨基、羧基	—	—	[32]
鲢鱼	羧基、氨基、氮原子	—	—	[18]
花生	羧基、氮原子	51.75%±2.10%	—	[53]
太平洋鳕鱼皮	氨基、羧酸端基、肽键、亚胺	58.1%±0.4%	500~2000	[50]
核桃	羧基、羰基、氨基	—	—	[51]
大黄鱼	羧基、羰基、N-H、C-O	0.14 mg/mL	<1000	[40]
乳清	羧基、酰胺基	36.42 μ g/mg	275~1916	[54]
海参	羧基、氨基、羰基	117.17±2.62 mg/g	1000~2000	[55]
羊骨	氨基、羟基	—	0~3000	[56]
黄皮籽	羧基氧、氨基氮	0.497 mg/mL	—	[48]
海参卵	羧基、氨基	92.1%	200~100	[38]

离子结合。利用傅里叶变换红外光谱发现太平洋鳕鱼皮中 GPAGPHGPPGKDGR、AGPHGPPGKDGR 和 AGPAGPAGAR 三条肽序列都能通过氨基、羧基、肽键、亚胺基与亚铁离子结合^[50]。将鲢鱼鳞胶原肽与亚铁离子进行螯合,紫外和红外光谱结果表明,胶原肽中的羧基、氨基和酰胺基等基团参与了螯合反应^[18]。Fan 等^[51]用傅里叶变换红外光谱、Zeta 电位、氨基酸组成等分析,结果表明,新型核桃肽铁螯合物由羧基、氨基和羰基与亚铁离子结合形成。虽然已经有很多关于肽铁螯合位点的相关研究,但对肽铁螯合的结构关系和动力学过程还需要更深入的探索。

2.2 多肽与亚铁离子螯合模式

多肽与亚铁离子的主要螯合模式有单齿螯合模式、双齿螯合模式、三齿螯合模式和 α 螯合模式等。单齿螯合模式是亚铁离子仅与 COO⁻ 上的一个氧原子螯合;双齿螯合模式是 COO⁻ 上的两个氧均可与亚铁离子结合; α 螯合模式是亚铁离子与羧酸盐中的一个氧和来自其它结合基团的一个合适的有机原子(O、N、S 等)螯合^[57]。Lin 等^[58]通过分子动力学模拟发现,亚铁离子以单齿和双齿螯合方式与羧基氧原子进行螯合,其螯合模式如图 1 所示。通过等温滴定量热法发现蛋清肽与亚铁离子是双齿螯合模式和 α 螯合模式^[59];南极磷虾新型七肽^[60]、大麦肽^[61]与亚铁离子均是双齿螯合模式。Fan 等^[51]通过分子对接分析核桃肽与铁离子的相互作用,如图 2 所示,酸性氨基酸提供的羧基在结合过程中起着重要作用,为 α 螯合模式。目前,国内外研究对肽铁螯合物的结构表征仅能确定肽与铁离子之间的螯合,大多局限于螯合基团和特殊氨基酸的分析,因此对其螯合机理需要进行更深入的研究。

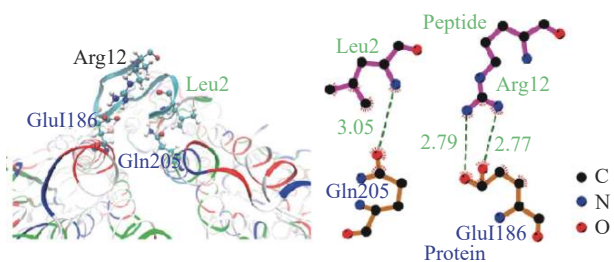


图 1 分子动力学模拟 GLPGPSGEEGKR 与 Fe²⁺螯合相互作用 Gln、Glu 残基^[58]

Fig.1 Molecular dynamics simulation of GLPGPSGEEGKR and Fe²⁺ chelation interaction Gln and Glu residues^[58]

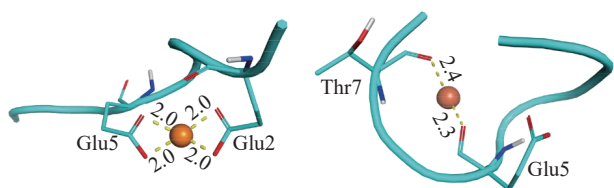


图 2 核桃肽 Glu、Thr 残基与 Fe²⁺螯合分子对接模型^[51]

Fig.2 Docking model of Glu and Thr residues of walnut peptide with Fe²⁺ chelate molecule^[51]

3 肽铁螯合物的构效分析

多肽的生物学活性及理化性质在很大程度上是由空间结构决定的,所以只确定氨基酸的组成及其排列顺序无法全面认识多肽生物学活性及理化性能。铁螯合肽的结构特征对肽与铁的螯合活性和结合方式有重要影响。因此,为了阐明铁螯合肽的构效关系,进一步利用现代仪器分析其构效关系,能更好的理解螯合肽与铁离子之间的相互作用。

3.1 肽铁螯合物构象分析

多肽链的结构与氨基酸组成及排列顺序有关,但并非呈线形伸展,而是折叠和盘曲构成特有的比较稳定的空间结构。金属离子可以使多肽的构象变得更加稳定。有研究表明,多肽与亚铁离子螯合后导致多肽的二级结构无规则卷曲含量降低, α -螺旋和 β -折叠增加,使螯合物的空间结构变得稳定^[62]。Liu 等^[48]研究了黄皮种子蛋白肽铁螯合物螯合前后的二级结构变化,发现黄皮种子蛋白肽螯合前后的二级结构发生了显著变化,螯合后 α -螺旋和无规卷曲的含量显著下降了 17.12%、 β -折叠和 β -转角含量则明显增加了 17.12%。Lin 等^[58]研究发现罗非鱼皮胶原铁螯合肽(TSCICP)的二级结构由 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲组成,以无规卷曲为主,铁离子与 TSCICP 螯合后,诱导 TSCICP 从 β -转角和无规卷曲到 β -折叠的结构转变,形成了更紧密的二级结构。Hu 等^[60]研究了南极磷虾新型七肽与亚铁离子螯合前后的结构变化,发现螯合后 β -折叠和 β -转角含量显著增加,无规卷曲含量显著下降,这表明相互作用导致新型七肽的无规卷曲向 β -折叠和 β -转角转变。这些研究表明肽与金属离子的构象多样,螯合后的结构相较于多肽变得更加紧密、稳定,但目前关于亚铁离子与多肽构象分析的研究较少,有必要深入探索其构象变化机制。

3.2 肽铁螯合物分子间作用力

小分子与蛋白质主要有四种类型的非共价相互作用,包括氢键、范德华力以及静电和疏水相互作用^[63]。氢键是一种特殊的共价键,其中电子对由一个原子提供,另一个原子提供空轨道,在肽铁螯合物中,氧原子和氮原子主要用作电子供体,金属离子用作电子受体^[41]。疏水或静电相互作用可能有助于多肽与铁的结合,根据熵和焓的变化,从而维持一定的构象。亚铁离子螯合肽构象的形成和维持需要非共价键作用力的参与^[64]。带有羟基和羧基功能侧链的氨基酸可以通过电子转移、静电相互作用与铁离子结合,此时复杂的结合条件也有利于其他相互作用,例如范德华力、疏水力和氢键^[65]。亚铁离子的配位作用导致多肽的构象变化和自组装,最终形成具有晶体结构的纳米颗粒。纳米粒子的稳定性大多取决于纳米粒子相互接近时排斥力和吸引力之间的平衡性,这可用于预测纳米分散体的长期稳定性。Zhang 等^[66]通过大豆蛋白质构象研究和纳米颗粒解离,发现纳

米粒子形成和稳定的主要驱动力是氢键和疏水相互作用,而不是二硫键;铁离子屏蔽了多肽链上的负电荷,并作为盐桥促进了大豆分离蛋白肽的聚集,这些聚集体通过疏水相互作用形成大豆分离蛋白肽纳米网络。目前关于铁离子与多肽螯合后分子间作用力的具体机制还有待对其进行深入探索和讨论。

4 肽铁螯合物的生物利用度

4.1 体外模拟胃肠道消化

铁的生物利用度是指被人体吸收利用后的铁,能用于调控机体正常生理代谢,通常包括摄入、吸收以及转运等过程^[67]。人体胃肠道环境是影响各种物质生物利用度的重要因素。消化过程中胃蛋白酶和胰蛋白酶的降解及 pH 的变化,可能导致摄入物质的结构发生变化,因此,肽铁螯合物在模拟胃肠道消化过程中的稳定性对其生物利用度有重要作用。体外模拟胃肠道消化实验中,新型七肽铁螯合物在肠道消化中的铁溶解度显著高于硫酸亚铁,可以有效提高铁元素的生物利用度^[60],玉米 ACE 抑制肽铁螯合物及鸭蛋清肽铁螯合物均具有较好的整体稳定性^[68-69],南极磷虾肽铁螯合物具有良好的铁保留率^[70]。这些研究都表明肽铁螯合物在体外模拟胃肠道消化过程中大都具有良好的稳定性,并且铁离子的溶解度高于硫酸亚铁。

4.2 Caco-2 细胞模型

Caco-2 细胞广泛用于研究各种功能成分,可用于分析铁的生物利用度^[71],模拟胃肠道消化的铁离子经过肠道细胞最终被机体吸收利用。Filiponi 等^[43]通过 Caco-2 细胞模型研究,发现肽铁螯合物中铁的生物利用度比 FeSO_4 提高了 3 倍以上,红罗非鱼内脏蛋白肽铁螯合物 Caco-2 细胞的铁摄取量是铁盐处理的 4 倍^[72],大大提高了铁元素的生物利用度。Wang 等^[67]采用 Caco-2 细胞模型检测酪蛋白多肽铁螯合物,发现细胞毒性远远小于硫酸亚铁,当浓度较高时,吸收明显高于硫酸亚铁。Foong 等^[73]采用模拟胃肠道消化和 Caco-2 细胞模型,发现牛奶和脱脂米糠水解肽铁螯合物可以增强铁离子在肠道的吸收,能够提高铁元素的生物利用度。

4.3 动物模型试验

体内研究也是验证生物利用度的重要方法,动物模型试验是最为常用的方法。动物模型一般包括大鼠、仔猪和鸡,在影响铁吸收的多肽和氨基酸的研究中发挥了关键作用^[74-75]。有研究通过对肽铁螯合物在 SD 大鼠体内的吸收研究,证明了与硫酸亚铁相比,肽铁螯合物具有相同的吸收机制和不同的吸收利用过程^[76]。Kibangou 等^[77]基于大鼠在体肠灌流模型研究了酪蛋白磷酸肽铁螯合物的铁生物利用度,结果表明,酪蛋白磷酸肽铁螯合物比葡萄糖酸铁吸收得更好。Li 等^[69]研究表明脱盐鸭蛋清肽铁螯合物(DPs-Fe)可以改善缺铁性贫血大鼠的健康状况并增加其体重,补充 DPs-Fe 的大鼠的肾脏和肝脏系数接近正常

水平,这表明 DPs-Fe 对大鼠的健康状态没有副作用。Yu 等^[78]以断奶仔猪为模型,研究多肽对铁生物利用率的影响,结果证实,来自肽铁螯合物的铁离子的生物利用率显著优于补充硫酸亚铁。

活性肽和铁离子形成稳定的螯合物之后,铁元素受到配体的保护,稳定性常数高。肽铁螯合物进入小肠细胞后,肽可以作为铁离子的运输载体直接透过肠壁,快速被小肠膜吸收^[79],但是考虑到目前的铁补充剂对铁的生物利用度的有效性在人体内还没有具体确定,肽铁螯合物的效果需要在人体临床试验中进一步评估,以确定其营养的临床相关性。同时考虑到过量铁对免疫系统的负面影响,还应做避免超负荷使用的铁螯合肽的相关研究。

5 结论与展望

膳食铁在人类健康中发挥着重要作用,因此对肽铁螯合物的研究日益增多,关于新发现的肽铁螯合物的详细信息也逐渐清晰。本文综述了近年来肽铁螯合物的研究进展,主要介绍了肽及肽铁螯合物的制备方法,与亚铁离子螯合活性的影响因素,以及结合位点和螯合模式,分析了肽铁螯合物的构效关系和对铁的生物利用度的影响。虽然肽铁螯合物的研究已有一定的成果,但是关于氨基酸序列变化对螯合活性的影响、肽铁螯合物在肠道内的吸收转运机制、及其多肽促铁吸收的机理等,还需要采用分子对接、分子动力学模拟等方法研究肽链上结合位点的具体位置、立体化学结构和动态过程,进一步加强铁螯合肽的构效关系研究。未来应以这些方面为主做更多的研究,通过动物实验等方法进一步研究不同肽铁螯合物在体内和体外对铁元素的吸收和转运机制,对利用肽作为铁螯合成分治疗缺铁也具有特殊的价值。

© The Author(s) 2024. 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] SCOTT C, ARORA G, DICKSON K, et al. Iron chelation in local infection[J]. *Molecules*, 2021, 26(1): 189.
- [2] PASRICHA S R, TYE-DIN J, MUCKENTHALER M U, et al. Iron deficiency[J]. *The Lancet*, 2021, 397(10270): 233-248.
- [3] KASSEBAUM N J, JASRASARIA R, NAGHAVI M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010[J]. *Blood*, 2014, 123(5): 615-624.
- [4] 刘月姣.《中国居民营养与慢性病状况报告(2020 年)》发布[J]. *中国食物与营养*, 2020, 26(12): 2. [LIU Y J. The Report on Nutrition and Chronic Diseases in China (2020) was released[J]. *Chinese Food and Nutrition*, 2020, 26(12): 2.]
- [5] 毛宇, 陈博, 顾宁. 口服补铁剂的研发现状与发展趋势[J]. *药学研究*, 2017, 36(11): 621-626. [MAO Y, CHEN B, GU N. Research status and development trend of the oral iron supplement[J]. *Pharmaceutical Research*, 2017, 36(11): 621-626.]
- [6] 王孟丽, 布冠好. 肽与金属离子螯合物的研究进展[J]. *食品工业*, 2021, 42(5): 323-326. [WANG M L, BU G H. Research

- progress of chelates of peptides and metal ions[J]. Food Industry, 2021, 42(5): 323–326.]
- [7] CHAKRABARTI S, GUHA S, MAJUMDER K. Food-derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities[J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1738.
- [8] 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.
- [9] 王艳红, 张丽娜, 牛思思, 等. 亚麻籽多肽制备工艺优化及生物活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(13): 66–76. [WANG Y H, ZHANG L N, NIU S S, et al. Optimization of the preparation process and bioactivity of flaxseed polypeptides[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(13): 66–76.]
- [10] 马俊, 王婷, 刘海霞, 等. 大米多肽的功能及应用研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(2): 208–213. [MA J, WANG T, LIU H X, et al. Research progress on the function and application of rice polypeptides[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(2): 208–213.]
- [11] 吴淑娟, 王锐, 董兆斌, 等. 红仁核桃多肽的制备工艺优化及降血脂功能研究[J]. *中国油脂*, 2023, 48(6): 54–60. [WU S J, WANG R, DONG Z B, et al. Optimization of preparation technology of red kernel walnut polypeptide and its function of lowering blood lipid[J]. *Chinese Grease*, 2023, 48(6): 54–60.]
- [12] 温耀涵. 牛血红蛋白肽亚铁螯合物的制备及其稳定性研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2023. [WEN Y H. Preparation and stability of bovine hemoglobin peptide ferrous chelate[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2023.]
- [13] 杨鹏瑶. 燕麦多肽亚铁螯合物的制备及其生物活性的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2021. [YANG P Y. Preparation and bioactivity of ferrous polypeptide chelate from Oat[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2021.]
- [14] 王梦莹. 食源性低聚肽铁改善大鼠缺铁性贫血的效果研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2020. [WANG M Y. Effect of foodborne oligopeptide iron on iron deficiency anemia in rats[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.]
- [15] 王子怀, 胡晓, 李来好, 等. 肽-金属离子螯合物的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(8): 359–362. [WANG Z H, HU X, LI L H, et al. Research progress of peptide-metal ion chelates[J]. Food Industry, 2014, 35(8): 359–362.]
- [16] WANG X Q, ZHANG Z, XU H Y, 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.
- [17] 林海燕, 王珊珊, 马玉洁, 等. 南极磷虾肽-亚铁螯合物的制备及理化性质分析[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(19): 87–93. [LIN H Y, WANG S S, MA Y J, et al. Preparation and analysis of physicochemical properties of peptide-ferrous chelates of Antarctic Krill[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(19): 87–93.]
- [18] 熊喆, 秦子波, 赵钰, 等. 鲢鱼鳞胶原肽-铁螯合物的制备及其特性表征[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(4): 187–195. [XIONG Z, QIN Z B, ZHAO Y, et al. Preparation and characterization of silver carp collagen peptide-iron chelate[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2023, 39(4): 187–195.]
- [19] 遑光慧, 布冠好. 多肽螯合金属离子产物的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(5): 1575–1581. [DI G H, BU G H. Research progress of polypeptide chelated metal ion products[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2022, 13(5): 1575–1581.]
- [20] 高雅鑫, 杨森, 李雨恬, 等. Box-Behnken 法优化双酶协同水解牡蛎蛋白工艺[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(10): 117–121, 127. [GAO Y X, YANG S, LI Y T, et al. The Box-Behnken method was used to optimize the process of co-enzymatic hydrolysis of oyster protein[J]. Food Industry Science and Technology, 2018, 39(10): 117–121, 127.]
- [21] 张天伟, 张志军, 张芷瑜, 等. 低苯丙氨酸紫苏肽制备工艺研究[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2023, 49(4): 547–556. [ZHANG T W, ZHANG Z J, ZHANG Z Y, et al. Study on preparation technology of low phenylalanine *Perilla peptide*[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences Edition), 2023, 49(4): 547–556.]
- [22] ULUG S K, JAHANDIDEH F, WU J P. Novel technologies for the production of bioactive peptides[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 108: 27–39.
- [23] GUO L D, HARNEDY P A, LI B F, 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.
- [24] 肖连冬, 于海彦, 李慧星. 麦糟蛋白肽发酵制备工艺优化及其生理活性评价[J]. *粮食与油脂*, 2023, 36(7): 25–28, 38. [XIAO L D, YU H Y, LI H X. Optimization of the fermentation process and physiological activity evaluation of wheat grains protein peptide[J]. *Grain and Oil*, 2023, 36(7): 25–28, 38.]
- [25] 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. [SHI J, ZOU Y, MA J J, et al. Research progress of peptide-chelated calcium from food source[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(11): 460–467.]
- [26] RAVESCHOT C, CUDENNEC B, COUTTE F, et al. Production of bioactive peptides by lactobacillus species: From gene to application[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2354.
- [27] 刘帅, 聂乾忠, 方媛媛. 双酶法水解发酵豆渣制备大豆多肽的研究[J]. *食品科技*, 2016, 41(2): 108–112. [LIU S, NIE Q Z, FANG Y Y. Preparation of soybean polypeptide from fermented soybean residue by double enzymatic hydrolysis[J]. Food Science and Technology, 2016, 41(2): 108–112.]
- [28] 杨明哲, 赵子莹, 汤华成, 等. 植物源咸味肽制备与应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(20): 467–474. [YANG M Z, ZHAO Z Y, TANG H C, et al. Research progress on preparation and application of plant-derived salty peptides[J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(20): 467–474.]
- [29] 乔虹, 黎松松, 周南希, 等. 海洋来源金属离子螯合肽研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(1): 368–377. [QIAO H, LI S S, ZHOU N X, et al. Research progress on chelating peptides of metal ions from ocean[J]. Food Industry Science and Technology, 2024, 45(1): 368–377.]
- [30] KRISTINSSON H G, RASCO B A. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2000, 40(1): 43–81.
- [31] H Y Q, YUAN P Y, DING Y Y, et al. The preparation, antioxidant activity evaluation, and iron-deficient anemic improvement of oat (*Avena sativa* L.) peptides-ferrous chelate[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 687133.
- [32] 遑光慧, 布冠好, 王美月, 等. 花生肽亚铁螯合物的制备工艺优化及结构特性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(12): 3754–3761. [DI G H, BU G H, WANG M Y, et al. Optimization of the preparation process and structural properties of ferrous peptide chelate of peanut[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2022, 13(12): 3754–3761.]

- [33] FENG Y X, WANG Z C, CHEN J X, et al. Separation, identification, and molecular docking of tyrosinase inhibitory peptides from the hydrolysates of defatted walnut (*Juglans regia* L.) meal[J]. *Food Chemistry*, 2021, 353: 129471.
- [34] TORRES-FUENTES C. Iron-chelating activity of chickpea protein hydrolysate peptides[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(3): 1585–1588.
- [35] CAETANO-SILVA M E, CILLA A, BERTOLDO-PACHECO M T, et al. Evaluation of *in vitro* iron bioavailability in free form and as whey peptide-iron complexes[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, 68: 95–100.
- [36] WANG C, LI B, AO J. Separation and identification of zinc-chelating peptides from sesame protein hydrolysate using IMAC- Zn^{2+} and LC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 1231–1238.
- [37] GUO L D, HOU H, LI B F, et al. Preparation, isolation and identification of iron-chelating peptides derived from *Alaska pollock* skin[J]. *Process Biochemistry*, 2013, 48(5-6): 988–993.
- [38] SUN N, CUI P B, JIN Z Q, 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.
- [39] CHAI T T, TONG S R, LAW Y C, et al. Anti-oxidative, metal chelating and radical scavenging effects of protein hydrolysates from blue-spotted stingray[J]. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2015, 14(8): 1349.
- [40] DU Y N, HONG J N, XU S Q, et al. Iron-chelating activity of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) roe hydrolysates[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(11): e17080.
- [41] WU W F, YANG Y Y, SUN N, et al. Food protein-derived iron-chelating peptides: The binding mode and promotive effects of iron bioavailability[J]. *Food Research International*, 2020, 131: 108976.
- [42] 王晓萍, 郭晓娜, 朱科学, 等. 固定化金属亲和层析富集麦胚蛋白金属螯合肽的研究[J]. *中国粮油学报*, 2015, 30(3): 101–105.
- [WANG X P, GUO X N, ZHU K X, et al. Enrichment of metal chelating peptides in wheat germ protein by immobilized metal affinity chromatography[J]. *Chinese Journal of Grain and Oil*, 2015, 30(3): 101–105.]
- [43] FILIPONI M P, GAIGHER B, CAETANO-SILVA M E, et al. Microencapsulation performance of Fe-peptide complexes and stability monitoring[J]. *Food Research International*, 2019, 125: 108505.
- [44] CHEN M, JI H W, ZHANG Z W, et al. A novel calcium-chelating peptide purified from *Auxis thazard* protien hydrolysate and its binding properties with calcium[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 60: 103447.
- [45] NAGAOKA S, FUTAMURA Y, MIWA K, et al. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk β -Lactoglobulin[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 281(1): 11–17.
- [46] TIAN Q J, FAN Y, HAO L, et al. A comprehensive review of calcium and ferrous ions chelating peptides: Preparation, structure and transport pathways[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(20): 4418–4430.
- [47] LIU W Y, REN J, QIN X Y, et al. Structural identification and combination mechanism of iron (II)-chelating Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) skin active peptides[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2024, 61(2): 340–352.
- [48] LIU Y J, XIE Y P, MA X Y, et al. Preparation and properties of antioxidant peptides from wampee seed protein[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2022, 16(1): 410–419.
- [49] ZHANG Y J, DING X J, LI M Q. Preparation, characterization and *in vitro* stability of iron-chelating peptides from mung beans[J]. *Food Chemistry*, 2021, 349: 129101.
- [50] WU W F, LI B F, HOU H, et al. Identification of iron-chelating peptides from Pacific cod skin gelatin and the possible binding mode[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 35: 418–427.
- [51] FAN C Z, WANG X T, SONG X W, et al. Identification of a novel walnut iron chelating peptide with potential high antioxidant activity and analysis of its possible binding sites[J]. *Foods*, 2023, 12(1): 226.
- [52] LIN S T, HU X, LI L H, et al. Preparation, purification and identification of iron-chelating peptides derived from tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin collagen and characterization of the peptide-iron complexes[J]. *LWT*, 2021, 149: 111796.
- [53] 张新雪, 卢知浩, 刘家生, 等. 玉米低聚肽螯合铁(II)的制备和结构表征[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(4): 243–251. [ZHANG X X, LU Z H, LIU J S, et al. Preparation and structural characterization of oligopeptide chelated iron (II) from maize[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2023, 44(4): 243–251.]
- [54] 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.
- [55] FAN C, GE X, HAO J, et al. Identification of high iron-chelating peptides with unusual antioxidant effect from sea cucumbers and the possible binding mode[J]. *Food Chemistry*, 2023, 399: 133912.
- [56] 陈嘉琪, 张珍, 费莹莹, 等. 羊骨多肽亚铁螯合物的制备工艺优化及结构表征[J]. *食品与发酵科技*, 2021, 57(5): 1–7, 21. [CHEN J Q, ZHANG Z, FEI Y Y, et al. Preparation process optimization and structural characterization of sheep bone polypeptide ferrous chelate[J]. *Food and Fermentation Technology*, 2021, 57(5): 1–7, 21.]
- [57] KAHLEN J, SALIMI L, SULPIZI M, et al. Interaction of charged amino-acid side chains with ions: An optimization strategy for classical force fields[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2014, 118(14): 3960–3972.
- [58] LIN S T, HU X, YANG X Q, et al. GLPGPSGEEGKR: Fe^{2+} chelating characterization and potential transport pathways for improving Fe^{2+} bioavailability in Caco-2 cells[J]. *Food Bioscience*, 2022, 48: 101806.
- [59] SUN N, CUI P B, LI D M, et al. Formation of crystalline nanoparticles by iron binding to pentapeptide (Asp-His-Thr-Lys-Glu) from egg white hydrolysates[J]. *Food & Function*, 2017, 8(9): 3297–3305.
- [60] HU S J, LIN S Y, LIU Y, et al. Exploration of iron-binding mode, digestion kinetics, and iron absorption behavior of Antarctic Krill-derived heptapeptide-iron complex[J]. *Food Research International*, 2022, 154: 110996.
- [61] ECKERT E, LU L, UNSWORTH L D, et al. Biophysical and *in vitro* absorption studies of iron chelating peptide from barley proteins[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 25: 291–301.
- [62] SUN N, WANG T T, WANG D, et al. Antarctic krill derived nonapeptide as an effective iron-binding ligand for facilitating iron absorption via the small intestine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(40): 11290–11300.
- [63] 汪婧瑜, 张业辉, 刘学铭, 等. 动物性短肽螯合物研究进展

- [J]. 食品科技, 2015, 40(10): 236–240. [WANG J Y, ZHANG Y H, LIU X M, et al. Research progress of animal short peptide chelates [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(10): 236–240.]
- [64] DUAY S S, SHARMA G, PRABHAKAR R, et al. Molecular dynamics investigation into the effect of zinc(II) on the structure and membrane interactions of the antimicrobial peptide clavanin A[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2019, 123(15): 3163–3176.
- [65] SUN X H, SARTESHNIZI R A, BOACHIE R T, et al. Peptide–Mineral complexes: Understanding their chemical interactions, bioavailability, and potential application in mitigating micronutrient deficiency[J]. *Foods*, 2020, 9(10): 1402.
- [66] 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.
- [67] WANG Y H, CAI M, ZENG H, et al. Preparation, characterization and iron absorption by Caco-2 cells of the casein peptides-iron chelate[J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2022, 28(4): 116.
- [68] QU W J, FENG Y T, XIONG T, 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.
- [69] LI B, HE H, SHI W, et al. Effect of duck egg white peptide-ferrous chelate on iron bioavailability *in vivo* and structure characterization; Effect of DPs-Fe on iron uptake and structure[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(4): 1834–1841.
- [70] HU G H, WANG D B, SU R N, et al. Calcium-binding capacity of peptides obtained from sheep bone and structural characterization and stability of the peptide-calcium chelate[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2022, 16(6): 4934–4946.
- [71] DIEGO Q K, BARBERÁ R, CILLA A. Iron bioavailability in iron-fortified cereal foods: The contribution of *in vitro* studies[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(10): 2028–2041.
- [72] GÓMEZ L J, GÓMEZ N A, ZAPATA J E, et al. Optimization of the red tilapia (*Oreochromis* spp.) viscera hydrolysis for obtaining iron-binding peptides and evaluation of *in vitro* iron bioavailability[J]. *Foods*, 2020, 9(7): 883.
- [73] FOONG L C, IMAM M U, ISMAIL M. Iron-binding capacity of defatted rice bran hydrolysate and bioavailability of iron in Caco-2 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(41): 9029–9036.
- [74] SHI R, LIU D, SUN J, et al. Effect of replacing dietary FeSO_4 with equal Fe-levelled iron glycine chelate on broiler chickens [J]. *Czech Journal of Animal Science*, 2015, 60(5): 233–239.
- [75] ZHUO Z, FANG S L, YUE M, et al. Kinetics absorption characteristics of ferrous glycinate in SD rats and its impact on the relevant transport protein[J]. *Biological Trace Element Research*, 2014, 158(2): 197–202.
- [76] FANG C L, ZHUO Z, FANG S L, et al. Iron sources on iron status and gene expression of iron related transporters in iron-deficient piglets[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2013, 182(1–4): 121–125.
- [77] KIBANGOU I B, BOUHALLAB S, HENRY G, et al. Milk proteins and iron absorption: Contrasting effects of different caseinophosphopeptides[J]. *Pediatric Research*, 2005, 58(4): 731–734.
- [78] YU B, HUANG W J, CHIOU P W S. Bioavailability of iron from amino acid complex in weanling pigs[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2000, 86(1–2): 39–52.
- [79] ZHANG Y Y, STOCKMANN R, NG K, et al. Opportunities for plant-derived enhancers for iron, zinc, and calcium bioavailability: A review[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 652–685.