DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260319001
引用格式: 赵艺琳, 赵一萌, 刘彩霞, 等. 响应面法优化酸枣仁肽-锌螯合物的制备工艺及结构表征研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(14): 124–134.
Zhao Yilin, Zhao Yimeng, Liu Caixia, et al. Optimization of preparation process and structural characterization of *Ziziphi Spinosae Semen* peptide-zinc chelates using response surface methodology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(14): 124–134. (in Chinese with English abstract).

响应面法优化酸枣仁肽-锌螯合物的制备工艺及结构表征研究

赵艺琳, 赵一萌, 刘彩霞, 董露露, 尚彩玲, 杜晨晖, 裴香萍*

(山西中医药大学中药与食品工程学院, 晋中 030619)

摘 要: 目的 优化酸枣仁肽-锌螯合物(*Ziziphi Spinosae Semen* peptide-zinc chelate, ZSSP-Zn)的制备工艺, 并对其进行结构表征。**方法** 采用单因素结合响应面试验优化 ZSSP-Zn 的制备方法; 通过紫外光谱、红外光谱、氨基酸分析、扫描电镜及粒度分布对 ZSSP-Zn 的结构和组成进行表征; 通过体外模拟胃肠道消化研究 ZSSP-Zn 的稳定性。**结果** ZSSP-Zn 的最佳螯合条件为: 肽锌比 3:1 (*m*:*m*), pH=6, 螯合时间 2 h, 螯合温度 60 ℃。在此条件下, 螯合率可达(41.97±0.82)%; 螯合后紫外吸收峰蓝移; 氨基氮原子、羧基氧原子、羰基氧原子、羟基氧原子是锌离子的重要结合位点; 螯合后呈疏松颗粒状, 粒度减小。体外模拟胃肠道消化分析结果表明, ZSSP-Zn 稳定性较好。**结论** 本研究优化得到的 ZSSP-Zn 制备工艺稳定可靠, 螯合物粒度分布更为均一, 研究结果将为中药类锌补充剂的开发提供技术参考。

关键词: 酸枣仁; 多肽; 肽-锌螯合物; 制备工艺; 结构表征

中图分类号: TS201.2 **文献识别码**: A **文章编号**: 2095–0381(2026)14–0124–11

Optimization of preparation process and structural characterization of *Ziziphi Spinosae Semen* peptide-zinc chelates using response surface methodology

ZHAO Yi-Lin, ZHAO Yi-Meng, LIU Cai-Xia, DONG Lu-Lu, SHANG Cai-Ling, DU Chen-Hui, PEI Xiang-Ping*

(*College of Chinese Medicine and Food Engineering*, *Shanxi University of Chinese Medicine*, *Jinzhong* 030619, *China*)

ABSTRACT: Objective To optimize the preparation process of *Ziziphi Spinosae Semen* peptide-zinc chelate (ZSSP-Zn) and characterize its structure. **Methods** This study optimized the preparation of ZSSP-Zn used a

收稿日期: 2026-03-19
基金项目: 国家自然基金青年科学基金项目(81603251); 山西省科技创新人才团队项目(202304051001020); 山西省科技厅基础研究项目(202403021221198); 中药资源开发与利用(2026XK38)
第一作者: 赵艺琳(2004—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为中药资源综合利用及品质评价研究。E-mail: 3472593327@qq.com
***通信作者:** 裴香萍(1969—), 女, 硕士, 教授,主要研究方向为中药资源综合利用及品质评价研究。E-mail: peixp69@163.com

combination of single-factor experiments and response surface methodology. The structures and compositions of ZSSP-Zn were characterized using ultraviolet spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, amino acid analysis, scanning electron microscopy and size distribution. The stability of the ZSSP-Zn was investigated through *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. **Results** The optimal chelation conditions for ZSSP-Zn included peptide-to-zinc ratio of 3:1 (*m*:*m*), pH 6, chelation time of 2 h and a chelation temperature of 60 ℃. Under these conditions, the chelation rate was (41.97±0.82)%. After chelation, the ultraviolet absorption peak shifts to the blue. Amino nitrogen atoms, carboxyl oxygen atoms, carbonyl oxygen atoms and hydroxyl oxygen atoms served as key binding sites for zinc ions. Chelation led to formation of loose granular structures with reduced particle size. The *in vitro* simulated gastrointestinal digestion analysis indicated that the ZSSP-Zn chelate exhibited good stability. **Conclusion** The optimized ZSSP-Zn preparation process in this study is stable and reliable, with a more uniform particle size distribution of the chelate complex. These results provide technical references for the development of traditional Chinese medicine-based zinc supplements.

KEY WORDS: *Ziziphi Spinosae Semen*; peptide; peptide-zinc chelate; preparation; structural characterization

0　引　言

酸枣仁来源于鼠李科植物酸枣[*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Huex H. F. Chou]的干燥成熟种子, 具有养心补肝、宁心安神、敛汗生津等功效。近年来随着失眠人数的逐渐增加, 酸枣仁药材作为临床治疗失眠的首选中药备受关注[1]。酸枣仁中含有丰富的蛋白质, 含量高达约 40%[2], 为进一步综合开发利用酸枣仁, 在对其黄酮、皂苷、生物碱等主要次生代谢产物开发利用的基础之上, 对酸枣仁中的蛋白质类成分开展研究与开发利用十分必要[3]。多肽作为蛋白经水解后的产物, 分子量相对较小, 生物活性较蛋白质更为显著, 已有研究报道澳洲坚果多肽[4]、红花籽多肽[5]具有免疫、抗氧化和抗疲劳等多种生物活性, 然而多肽尚存在稳定性低、研发生产成本高等问题, 近年来多肽金属螯合物的开发利用逐渐在食品及生物医药领域引起关注, 因其结合了多肽的生物相容性与金属离子的独特理化活性展现出一定优势。

锌作为人体必需的微量元素之一, 参与调节机体的生命活动, 影响着人体细胞的增殖、分裂和基因的表达; 然而, 机体本身并不能生成锌, 只能依靠外部锌的摄入, 第一代及第二代锌补充剂易与其他微量元素产生拮抗等不良影响[6]。近年来植物多肽-金属螯合物作为一种新型的营养强化剂, 因其良好的稳定性、高生物利用度及协同增效作用成为研究热点[7]。研究报道银杏肽-锌螯合物具有较好的生物利用率和抗氧化活性, 结果表明其锌离子的溶解率和渗透率均显著高于无机锌盐, 具有较好的清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基和 2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]阳离子自由基的能力[8]; 灰树花多肽-锌螯合物可改变仔鼠脑部海马区的代谢, 从而改善记忆功能, 表明丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径中的海马代谢产物可能在小鼠学习记忆中起到关键作用[9]。现有肽锌离子螯合相关研究多集中于动物源多肽[10–11]、普通植物[8,12]及真菌[9,13], 针对药食同源原料的研究相对较少。而药食同源原料安全性高、温和低刺激, 兼具食用与药用双重优势, 具备开发新型肽锌螯合补锌剂的巨大潜力。因此本研究以酸枣仁肽(*Ziziphi Spinosae Semen* peptide, ZSSP)为原料, 通过单因素试验结合响应面法优化酸枣仁肽-锌螯合物(*Ziziphi Spinosae Semen* peptide-zinc chelate, ZSSP-Zn)的制备工艺, 并进行结构表征研究, 为酸枣仁补锌剂的开发利用提供理论参考。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

酸枣仁药材(山西国泰中药股份有限公司), 由杜晨晖教授鉴定为鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子。

硫酸锌(纯度 99.0%, 上海易恩化学技术有限公司); 乙醇、氨水(优级纯, 天津市北辰方正试剂厂); 溴化钾(光谱纯, 上海泰坦科技股份有限公司); 氢氧化钠(NaOH)、盐酸(HCl)(分析纯, 上海国药集团化学试剂有限公司); 模拟胃液、模拟肠液(北京雷根生物技术有限公司); 葡萄糖酸锌(纯度 98.0%, 上海麦克林生化科技有限公司)。

1.2　仪器与设备

UV-6100S 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司); Multiskan FC 酶标仪、Heraeus Fresco 21 高速冷冻离心机、ICAP-PRO 电感耦合等离子体发射光谱仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司]; Multiskan FC 红外光谱仪(美国热电公司); Biochrom 30^{+}氨基酸分析仪(英国 Biochrom 公司); HITACHI SU8010 扫描电子显微镜(日本株式会社日立制作所); Nano ZS90 激光粒度分布仪(英国马尔文仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 ZSSP 的制备

根据课题组前期研究基础[14]。将酸枣仁药材粉碎, 过二号筛, 置于萃取釜中。工艺条件为: 50 ℃, 25 MPa, 90 min。超临界萃取结束后, 将萃取釜中的酸枣仁粉末取出得到酸枣仁脱脂粉。随后采用碱溶酸沉法提取酸枣仁蛋白, 工艺条件为: pH 为 9、料液比 1:20 (g:mL)、时间 1 h、温度 60 ℃。冷却后 6000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 调 pH 至 4。静置, 离心收集沉淀, 透析, 冷冻干燥即得。进一步利用酶水解法制备 ZSSP, 工艺条件为: 底物浓度 5%、碱性蛋白酶添加量 2%、pH 为 9、水解时间 3 h、水解温度 60 ℃。沸水浴灭酶, 冷却至室温, 调节 pH 至中性, 6000 r/min 离心 10 min 收集上清液, 冷冻干燥, 即得 ZSSP[15]。经纯化后纯度达到 72%, 得到不同分子量的多肽组分, 其中 ZSSP-IV (<3 kDa)为 44.73%, ZSSP-I (>10 kDa)为 19.54%、ZSSP-II (5~10 kDa)为 16.31%、ZSSP-III (3~5 kDa)为 19.42%。

1.3.2 ZSSP-Zn 的制备

取 ZSSP 0.9 g, 以蒸馏水溶解, 加入硫酸锌(纯度 99.0%) 0.3 g, 超声混匀(功率 100 W, 时间 3 min), 调节温度和 pH 进行螯合反应。冷却, 4500 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 与 5 倍预冷的乙醇溶液混匀, 2~8 ℃静置 12 h, 4500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥, 即得[16]。

1.3.3 螯合率和螯合物得率的测定

根据 GB 5009.14—2017《食品安全国家标准 食品中锌的测定》的二硫腙比色法, 对样品中锌含量进行测定, 根据公式(1)、(2)计算螯合率(%)和螯合物得率(%)[15]。

$$螯合率/\%=\frac{m_1-m_2}{m_3}\times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为 ZSSP-Zn 中锌的质量, mg; m_2 为 ZSSP 中锌的质量, mg; m_3 为反应体系中锌的总质量, mg。

$$螯合物得率/\%=\frac{m_4}{m_5}\times 100\% \quad (2)$$

式中: m_4 为所得 ZSSP-Zn 的质量, mg; m_5 为反应物的质量, mg。

1.3.4 单因素实验

(1)肽锌比对螯合率及螯合物得率的影响

取适量 ZSSP 与蒸馏水混匀, 加入适量硫酸锌, 使肽锌比(*m*:*m*, 下同)分别为: 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1, 超声混匀, 调节 pH 至 6、螯合温度 50 ℃、螯合时间 1.0 h 进行螯合反应。结束后冷却至室温, 4500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 加入 5 倍体积预冷的乙醇溶液, 2~8 ℃静置 12 h, 4500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥, 即得 ZSSP-Zn[15]。

(2) pH 对螯合率及螯合物得率的影响

取适量 ZSSP 与蒸馏水混匀, 加入适量硫酸锌, 使得肽锌比为 3:1, 超声混匀, 调节 pH 分别为 4、5、6、7、8, 调节螯合温度为 50 ℃、螯合时间 1.0 h 进行螯合反应。结束后冷却至室温, 4500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 加入 5 倍体积预冷的乙醇溶液, 2~8 ℃静置 12 h, 4500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥, 即得 ZSSP-Zn[15]。

(3)螯合时间对螯合率及螯合物得率的影响

取适量 ZSSP 与蒸馏水混匀, 加入适量硫酸锌, 使得肽锌比为 3:1, 超声混匀, 调节 pH 为 6.0、螯合温度 50 ℃, 螯合时间分别为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 进行螯合反应。结束后冷却至室温, 4500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 加入 5 倍体积预冷的乙醇溶液, 2~8 ℃静置 12 h, 4500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥, 即得 ZSSP-Zn[15]。

(4)螯合温度对螯合率及螯合物得率的影响

取适量 ZSSP 与蒸馏水混匀, 加入适量硫酸锌, 使得肽锌比为 3:1, 超声混匀, 调节 pH 为 6.0、螯合时间 2.0 h, 螯合温度分别调节为 40、50、60、70、80 ℃进行螯合反应。结束后冷却至室温, 4500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 加入 5 倍体积预冷的乙醇溶液, 2~8 ℃静置 12 h, 4500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 冷冻干燥, 即得 ZSSP-Zn[15]。

1.3.5 响应面试验

在单因素实验基础上, 以螯合率为指标, 用 Box-Behnken 响应面法进行 4 因素 3 水平的实验设计, 因素水平表如表 1 所示。

表 1 Box-Behnken 试验因素水平表

Table 1 Factors and levels table of Box-Behnken test

水平	因素			
	A(肽锌比)	*B* (pH)	*C*(螯合时间)/h	*D*(螯合温度)/℃
–1	2:1	5	1.0	50
0	3:1	6	2.0	60
1	4:1	7	3.0	70

1.3.6 肽锌螯合物中锌的测定

取最佳制备方法制备所得的 ZSSP-Zn, 采用电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)测定其锌含量。仪器条件及测定方法: 等离子体功率: 1350 W; 雾化气流量: 1.035 L/min; 辅助气流量: 0.8 L/min; 冷却气流量: 14 L/min; 重复 3 次。

1.3.7 ZSSP-Zn 的结构表征

(1)紫外光谱

取一定质量的 ZSSP 和 ZSSP-Zn 溶解于去离子水(0.5 mg/mL)。测量前, 先用去离子水校正紫外分光光度计的基线, 再测定样品溶液在 190~600 nm 的吸光值[17]。

(2)红外光谱

分别称取 2 mg ZSSP 和 ZSSP-Zn 与 200 mg 光谱纯溴化钾置于玛瑙研钵中充分研磨均匀, 放入压片模具, 抽气加压获得透明样品片。以 4 cm^{-1} 的分辨率记录样品在 4000~400 cm^{-1} 的光谱[18]。

(3)氨基酸分析

准确称取 ZSSP 和 ZSSP-Zn 20 mg, 加入水解管中, 并加入 6 mol/L 的盐酸溶液 10 mL。持续 30 s 吹入氮气, 随后立即进行密封处理。置于油浴锅内, 调节温度为 110 ℃, 水解 24 h。冷却后, 用 0.45 μm 微孔滤膜对样品进行过滤处理, 定容至 50 mL。吸取 2 mL 定容后的样品液, 置于旋转蒸发仪脱酸, 在温度 45 ℃至干燥, 瓶底部有少许固体或渍痕。随后用 2 mL 柠檬酸钠缓冲液溶解样品, 再用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 用氨基酸分析仪分析, 并计算氨基酸含量[19]。

(4)扫描电子显微镜测定

将 ZSSP 和 ZSSP-Zn 均匀分散固定于样品台上, 喷金镀膜, 在扫描电子显微镜下拍摄样品, 设置加速电压为 5.0 kV, 放大倍数 100~2000 倍, 使用内置软件捕获图像[20]。

(5)粒度分布测定

将 ZSSP 和 ZSSP 锌螯合物配制成 1 mg/mL 的溶液, 采用激光粒度分布仪测定[21]。

1.3.8　稳定性研究

配制相同浓度的硫酸锌溶液、葡萄糖酸锌溶液和 ZSSP 锌螯合物溶液。将模拟胃液分别于上述 3 种样品 1:1 混合, 用 1 mol/L HCl 溶液将 pH 调至 3 后, 将样品置于 37 ℃恒温环境中进行振荡处理, 总共持续 2 h, 期间每隔 0.5 h取一次样, 5000 r/min 离心 5 min取上清液, 进行后续的检测。将模拟肠液与消化后的样品 1:1 混合, 并用 1 mol/L NaOH 溶液将 pH 调至 7, 将样品置于 37 ℃恒温环境中进行振荡处理, 总共持续 2 h, 期间每隔 0.5 h取一次样, 离心取上清液, 进行后续的检测。利用二硫腙比色法测定锌含量, 根据公式(3)计算溶解率[22]。

$$\text{溶解率}/\% = \frac{m_6}{m_7} \times 100\% \quad (3)$$

式中: m_6 为上清液中锌离子的质量, mg; m_7 为消化液中总锌质量, mg。

1.4　数据处理

所有实验重复 3 次, 结果以平均值±标准偏差表示, 采用 GraphPad Prism 8 软件处理实验数据并绘图。采用 IBM SPSS Statistics 27 软件, 方差分析(analysis of variance, ANOVA)对实验数据进行显著性分析, $P<0.05$ 表示统计学差异显著, $P<0.01$ 表示统计学差异极显著。

2　结果与分析

2.1　单因素实验

肽锌比对螯合反应的影响如图 1a 所示, 随着肽锌比的增加, 螯合率及螯合物得率呈先逐渐上升后逐渐下降的趋势。当肽锌比为 3:1 时, 螯合率及螯合物得率均达到最大, 分别为 37.47%和 41.67%。肽锌比较小时, 锌与多肽结合不充分, 导致大多数锌以离子形式存在, 在纯化过程被除去, 不利于螯合反应。随着肽锌比的增加, 螯合物的锌含量逐渐升高, 达到稳定值。而肽锌比较大时, 多肽在溶液中易发生聚集, 有效利用率下降, 反而不利于与锌离子结合[23]。因此, 优选肽锌比为 3:1, 并以 3:1 作为响应面设计的中心值。

pH 对螯合反应的影响如图 1b 所示, 随着 pH 的提高, 螯合率及螯合物得率呈现先上升后下降的发展趋势。当 pH=6 时, 螯合率和螯合物得率均达到最大, 分别为 37.82%、40.17%。在偏酸性条件下, H^+会争夺给电子基团, 导致螯合反应被抑制。而当 pH 升高, 反应体系过碱性, 存在较多的 OH^-, 游离的锌离子生成氢氧化锌沉淀, 导致溶液中 Zn^{2+}缺乏, 从而抑制螯合反应, 导致螯合率和螯合物得率偏低[24–25]。因此, 优选 pH 为 6, 并以 pH=6 作为响应面设计的中心值。

螯合时间对螯合反应的影响如图 1c 所示, 随着螯合时间的增长, 螯合率及螯合物得率呈先上升后略有下降的趋势。当螯合时间为 2.0 h 时, 螯合率和螯合物得率均达到最大, 分别为 38.53%、42.19%。反应时间过长, 影响 ZSSP-Zn 的稳定性, 导致螯合率和螯合物得率下降[26]。因此, 优选螯合时间为 2.0 h, 并以 2.0 h 作为响应面设计的中心值。

螯合温度对螯合反应的影响如图 1d 所示, 随着螯合温度的提高, 螯合率及螯合物得率呈先上升后下降的趋势。当螯合温度为 60 ℃时, 螯合率和螯合物得率均达到最大, 分别为 42.61%、48.01%。温度逐渐升高, 会加速锌离子的溶出, 增加锌离子与肽的碰撞频率, 导致螯合率和螯合物得率升高。但温度过高则会导致螯合物结构被破坏, 导致螯合率和螯合物得率降低[27]。因此, 优选螯合温度为 60 ℃, 并以 60 ℃作为响应面设计的中心值。

2.2　ZSSP-Zn 制备的响应面试验

基于单因素实验结果, 以螯合率为响应值, 采用 Box-Behnken 试验设计, 优化 ZSSP-Zn 的制备工艺, 结果如表 2 所示。

2.2.1　回归模型建立及方差分析

得到螯合率(Y, %)与肽锌比(A)、pH(B)、螯合时间(C)、螯合温度(D)之间的二次多项回归方程: $Y=42.296–1.2083A–3.5841B–0.9533C–0.5208–3.86AB+3.805AC+1.46AD–1.3975BC–4.07BD+0.9375CD–3.6221A^2–10.7784B^2–7.0346C^2–6.7484D^2$, 回归方程的方差分析如表 3 所示。肽锌比($A$)、pH($B$)、螯合时间($C$)、螯合温度($D$)均对螯合率具有显著影响, 影响因素主次顺序为: $B>A>C>D$。该模型 $P<0.0001$, 表明具有显著性; 失拟值为 0.5923 (>0.05), 失拟不显著, 因此可认为该回归模型拟合程度较好, 可以分析和预测实验方案。

2.2.2　交互效应分析

如图 2~4 所示, 响应面的坡度越陡, 等高线图中椭圆分布越集中, 说明两因素的交互作用对螯合率的影响越大。

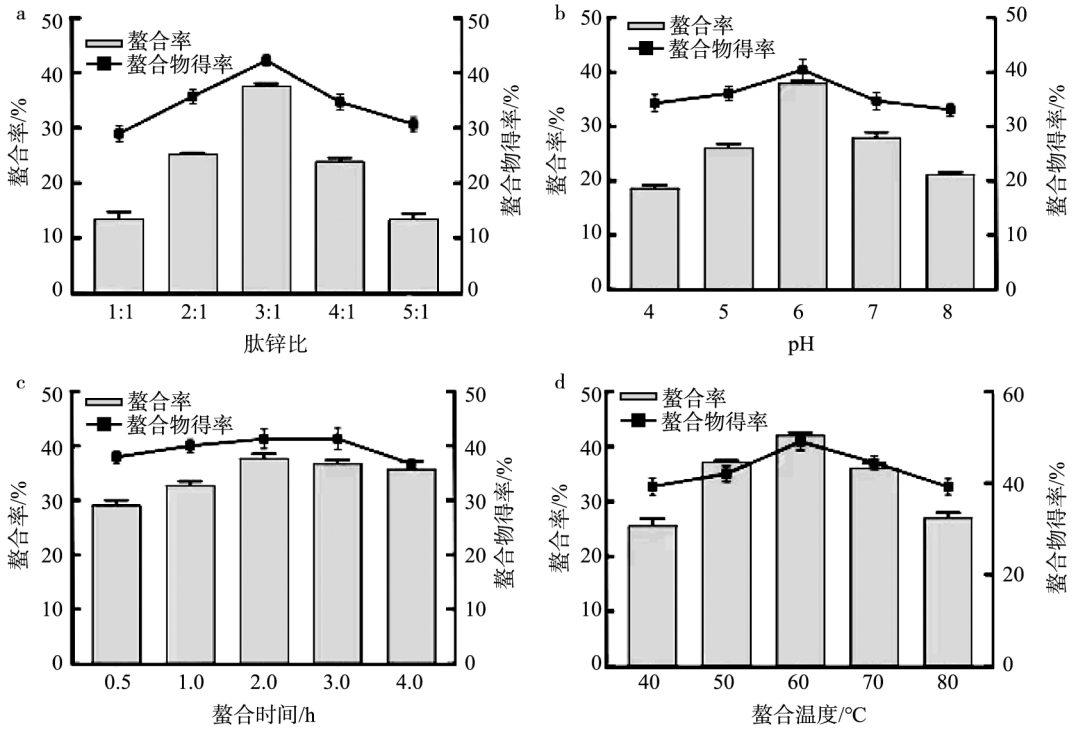


图 1 单因素实验结果

Fig.1 Results of the single-factor experiment

图 2 表明, 肽锌比及 pH 响应面图的坡度陡峭, 等高线分布集中, 故肽锌比及 pH 存在显著的交互作用, 且可以看出 pH 对螯合率的影响比肽锌比大。图 3 表明, 当肽锌比一定时, 随着螯合时间不断增大, 螯合率呈由高到低的变化趋势, 且可以看出螯合率的影响中螯合时间大于肽锌比。由图 4 可知, pH 及螯合温度响应面图坡度陡峭, 等高线分布密集, 表明 pH 与螯合温度存在显著交互作用, 且 pH 对螯合率的影响大于螯合温度。

表 2 响应面优化结果

Table 2 Results of response surface optimization

实验号	因素水平				螯合率/%	实验号	因素水平				螯合率/%
	A(肽锌比)	*B* (pH)	*C*(螯合时间)/h	*D*(螯合温度)/℃			*A*(肽锌比)	*B* (pH)	*C*(螯合时间)/h	*D*(螯合温度)/℃	
1	4:1	6	3	60	33.16±0.75	16	3:1	6	1	70	27.34±1.29
2	2:1	6	2	50	35.52±0.82	17	3:1	6	2	60	42.15±0.56
3	3:1	5	3	60	27.69±0.78	18	3:1	6	2	60	42.02±0.78
4	2:1	6	3	60	28.51±1.19	19	4:1	6	2	70	31.34±0.97
5	2:1	6	2	70	31.37±0.85	20	3:1	6	2	60	41.87±0.75
6	3:1	7	3	60	18.49±1.33	21	3:1	7	1	60	24.16±1.58
7	4:1	6	1	60	27.13±1.02	22	2:1	5	2	60	28.86±1.06
8	2:1	6	1	60	37.70±0.82	23	3:1	7	2	70	17.21±1.48
9	3:1	5	1	60	27.77±0.94	24	3:1	7	2	50	25.57±1.24
10	4:1	7	2	60	19.15±1.24	25	3:1	6	2	60	43.78±1.24
11	3:1	6	3	70	27.95±0.93	26	3:1	5	2	50	24.16±0.80
12	3:1	5	2	70	32.08±0.85	27	4:1	6	2	50	29.65±1.29
13	2:1	7	2	60	28.21±0.92	28	3:1	6	3	50	27.75±1.08
14	3:1	6	2	60	41.66±0.55	29	4:1	5	2	60	35.24±1.14
15	3:1	6	1	50	30.89±1.01						

表 3　回归方程方差分析

Table 3　Analysis of variance of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*
模型	1417.11	14	101.2200	150.180	<0.0001
A(肽锌比)	17.52	1	17.5200	25.990	0.0002
B (pH)	154.16	1	154.1600	228.710	<0.0001
C(螯合时间)/h	10.91	1	10.9100	16.180	0.0013
D(螯合温度)/℃	3.26	1	3.2600	4.830	0.0453
AB	59.6	1	59.6000	88.420	<0.0001
AC	57.91	1	57.9100	85.920	<0.0001
AD	8.53	1	8.5300	12.650	0.0032
BC	7.81	1	7.8100	11.590	0.0043
BD	66.26	1	66.2600	98.310	<0.0001
CD	3.52	1	3.5200	5.220	0.0385
A^2	85.1	1	85.1000	126.26	<0.0001
B^2	753.56	1	753.5600	1118.030	<0.0001
C^2	320.99	1	320.9900	476.240	<0.0001
D^2	295.4	1	295.4000	438.280	<0.0001
残差	9.44	14	0.6740		
失拟值	6.55	10	0.6550	0.908	0.5923
纯误差	2.89	4	0.7214		
总离差	1426.54	28			

2.2.3　ZSSP-Zn 制备的最佳条件和模型验证

该模型最佳提取条件: 肽锌比 2.844:1, pH 为 5.872, 螯合时间 1.901 h, 螯合温度 59.767 ℃。结合实际情况适当修正, 确定酸枣仁蛋白提取工艺为: 肽锌比 3:1、pH 为 6、螯合时间 2 h、螯合温度 60 ℃。在此条件下进行 3 次重复实验, 测得螯合率为(41.97±0.82)%, 与预估值 42.672%相差不大(验证实验中, 由于其中一份干燥后稍有损失, 故均值略低于工艺优化中的最高螯合率)。以上结果表明, 采用响应面法优化得出的工艺条件是可行的, 达到了参数优化的目的。

2.2.4　肽锌螯合物中锌含量测定结果

经 ICP-MS 测定结果表明, 本实验制备的 ZSSP-Zn 的三批锌螯合物中锌含量约为 0.081、0.083、0.081g/g, 平均值为 0.082 g/g。

2.3　ZSSP-Zn 结构表征结果

2.3.1　紫外全波长扫描结果

如图 5 所示, ZSSP 和 ZSSP-Zn 的紫外吸收最大波长明显不同。ZSSP 和 ZSSP-Zn 的最大吸收峰分别出现在 288 nm、277 nm 处, 紫外吸收光谱发生变化。可能由于酸枣仁肽上的氨基、羧基等官能团与锌离子形成配位键后, 电子云向金属离子偏移, 基团中 O-H、N-H、C=O 等化学键的键长缩短、键能增大、力常数提高, 振动频率升高, 对应吸收峰发生蓝移[28]。

2.3.2　傅里叶红外吸收光谱结果

ZSSP 和 ZSSP-Zn 在 400~4000cm^{-1} 的红外光谱图如图 6 所示。ZSSP 在 3327.21、1660.71 和 1112.93 cm^{-1} 处均出现了明显的特征吸收峰[29]。ZSSP-Zn 位于 3327.21 cm^{-1} 的吸收峰移至 3294.42 cm^{-1}, 推测是因为锌离子与氨基发生配位结合, N-Zn 配位键取代原有氢键结构, 导致吸收峰向低频方向移动[30]。螯合后位于 2964.09 cm^{-1} 的吸收峰蓝移至 2926.01 cm^{-1}, 可能是由于 CH_2 上的氢离子被锌离子取代[31]。N-H 变形振动和 C-H 的拉伸形成了 ZSSP 在 1546.91 cm^{-1} 的吸收峰, 与锌离子螯合后, 吸收峰移至 1552.7 cm^{-1} [32]。ZSSP 在 1408.04 cm^{-1} 处的吸收峰代表了-COOH 的对称运动和反对称运动[33], 与锌离子发生螯合作用后, 该峰移至 1398.39 cm^{-1}, 可能是 ZSSP 分子中羧基氧原子与 Zn^{2+}形成配位键, 改变了-COOH 基团的电子云分布与键力常数, 分子振动环境发生变化, 导致吸收峰发生红移。O-H 的变形振动引起 ZSSP 在 1315.45 cm^{-1} 处产生吸收峰[34–35], 螯合后移至 1246.02 cm^{-1} 处, 可能是因为 ZSSP 分子中羟基

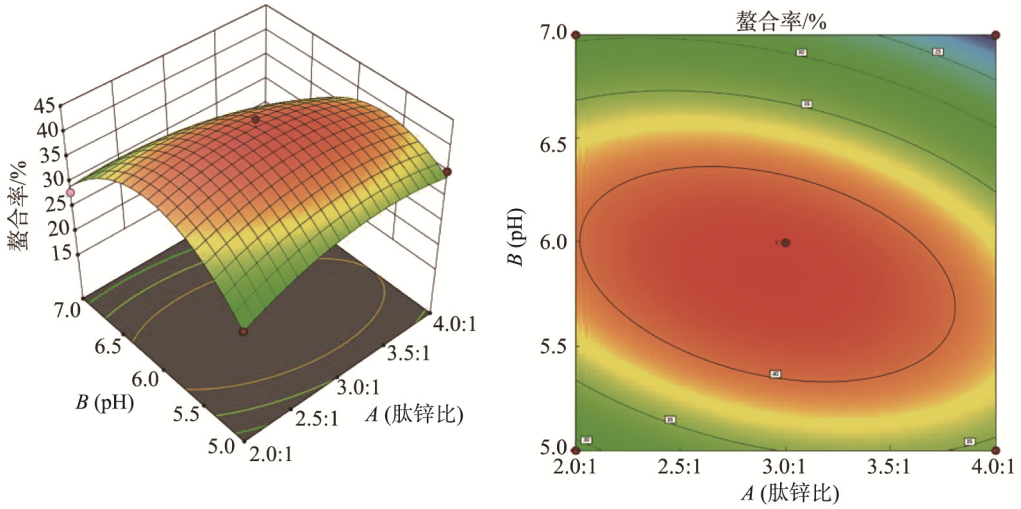


图 2　肽锌比及 pH 对螯合率的响应面图

Fig.2　Response surface of zinc ratio of peptide and pH to chelation rate

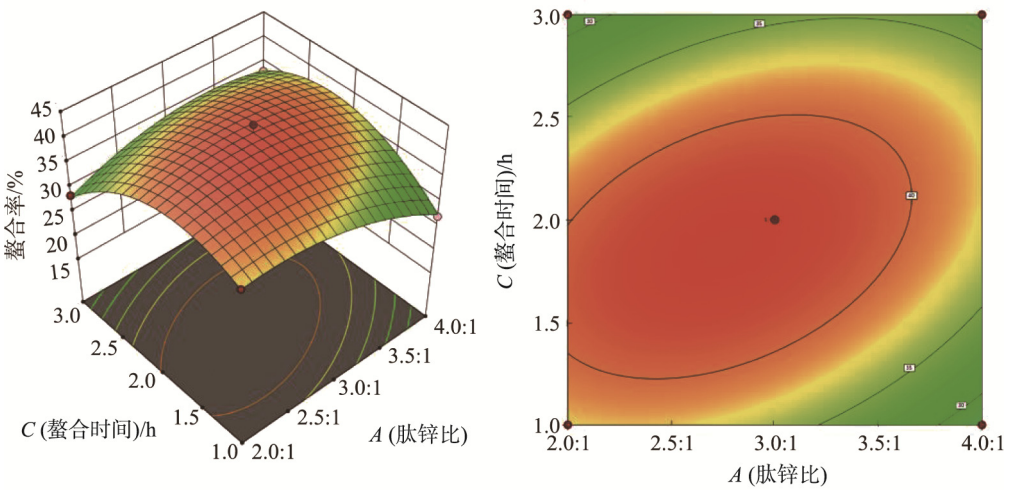


图 3 肽锌比及螯合时间对螯合率的响应面图

Fig.3 Response surface of zinc ratio of peptide and time to chelation rate

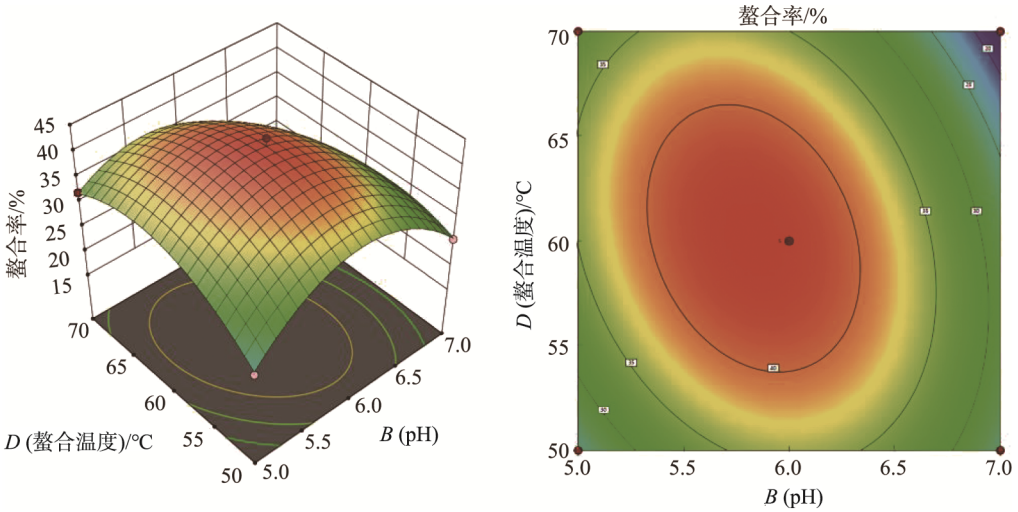


图 4 pH 及螯合温度对螯合率的响应面图

Fig.4 Response surface of temperature and pH to chelation rate

的氧原子含孤对电子，可作为电子供体与 Zn^{2+}形成配位键，O-H 的力常数降低，使得基团振动频率减弱，吸收峰发生红移。COO-的振动引起 ZSSP 在 1112.93 cm^{-1} 处形成吸收

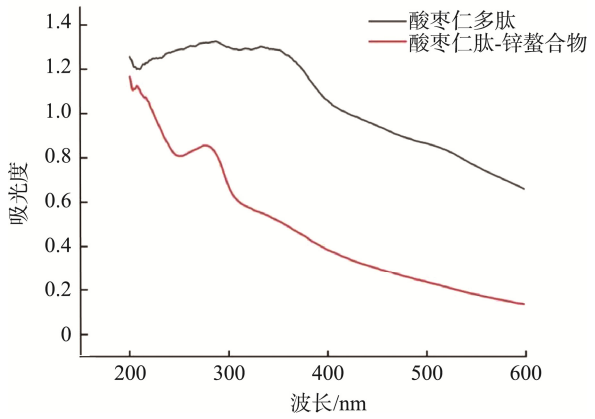


图 5 ZSSP 与 ZSSP-Zn 的紫外扫描光谱图

Fig.5 Ultraviolet scanning spectra ofZSSP and ZSSP-Zn

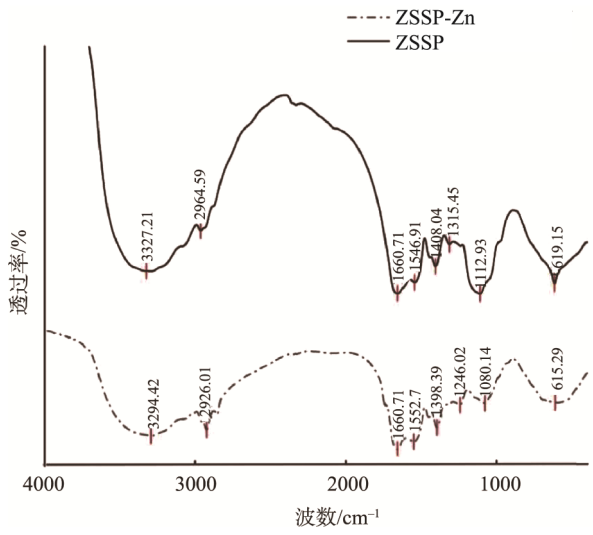


图 6 ZSSP 和 ZSSP-Zn 的傅里叶红外光谱图

Fig.6 Fourier infrared spectra of ZSSP and ZSSP-Zn

峰[36], 经过螯合后移至 1080.14 cm^{-1}, 原因可能是 C=O 参与配位结合, 改变了官能团的键力常数与分子振动环境, 使化学键振动频率降低, 吸收峰发生偏移。因此肽链中的氨基氮原子、羧基氧原子、羰基氧原子及羟基氧原子是锌离子的重要结合位点。

2.3.3　氨基酸测定

通过氨基酸分析仪对 ZSSP、ZSSP-Zn 进行氨基酸组成分析。结果如表 4 所示, ZSSP 与 ZSSP-Zn 的氨基酸组成相似, 共检测出 16 种氨基酸, 包括 8 种必需氨基酸[15]。ZSSP-Zn 的谷氨酸、天冬氨酸、精氨酸及赖氨酸的含量与 ZSSP 相比有所提高, 其中谷氨酸和精氨酸含量增加较多, 分别增加了 1714.4 mg/100 g 和 1083.5 mg/100 g, 天冬氨酸和赖氨酸含量分别提高了 210.2 mg/100 g 和 140.3 mg/100 g。这 4 种氨基酸侧链带有羧基、氨基等强配位官能团, 对锌离子络合配位能力更强; 其余氨基酸虽也含有同类官能团, 但配位亲和力与空间匹配度较弱, 螯合率相对较低, 基于以上结果初步推测, 以上 4 种氨基酸在肽锌螯合反应中起主要参与作用[37–38]。

表 4　ZSSP 及 ZSSP-Zn 的氨基酸组成

Table 4　Amino acid composition of ZSSP and ZSSP-Zn

氨基酸种类	ZSSP/(mg/100 g)	含量百分比/%	ZSSP-Zn/(mg/100 g)	含量/%	螯合后含量变化
天冬氨酸	8573.30±34.64	13.32±0.19	8783.50±23.35	14.80±0.12	↑
苏氨酸*	1724.90±14.42	2.68±0.08	1179.10±10.54	1.99±0.05	↓
丝氨酸	3153.20±15.28	4.90±0.08	3067.50±17.47	5.17±0.09	↓
谷氨酸	18134.40±109.21	28.17±0.60	19848.80±80.83	33.45±0.41	↑
甘氨酸	3534.10±25.17	5.49±0.14	3498.20±18.52	5.89±0.09	↓
丙氨酸	2732.40±14.01	4.25±0.08	1808.00±16.01	3.05±0.08	↓
胱氨酸	799.40±11.21	1.24±0.06	771.40±9.02	1.30±0.05	↓
缬氨酸*	3793.70±19.65	5.89±0.11	2536.20±10.82	4.27±0.05	↓
蛋氨酸*	416.80±5.13	0.65±0.03	285.40±4.73	0.48±0.02	↓
异亮氨酸*	1822.70±16.37	2.83±0.09	1224.80±7.64	2.06±0.04	↓
亮氨酸*	4499.80±19.05	6.99±0.11	2271.80±8.02	3.83±0.04	↓
酪氨酸	2154.10±17.32	3.35±0.10	1250.80±8.50	2.11±0.04	↓
苯丙氨酸*	2706.40±18.93	4.20±0.10	1496.90±14.43	2.52±0.07	↓
组氨酸*	1671.70±14.42	2.60±0.08	1446.20±18.58	2.44±0.09	↓
赖氨酸*	1884.30±11.53	2.93±0.06	2024.60±14.84	3.41±0.07	↑
精氨酸	6765.90±36.06	10.51±0.20	7849.40±20.95	13.23±0.11	↑

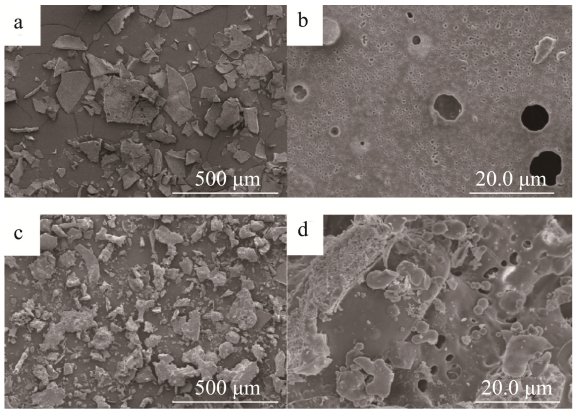
注: *为必需氨基酸; ↑为螯合后该氨基酸含量增加; ↓为螯合后该氨基酸含量降低。

2.3.4　扫描电子显微镜测定结果

结果如图 7 所示, ZSSP 的呈片块状的颗粒。ZSSP-Zn 呈均匀疏松的颗粒状, 排布相对较密集; 可能是由于发生螯合反应后, 肽链上的氨基、羧基等活性基团与 Zn^{2+}形成配位键, 同时分子间产生静电相互作用与氢键作用力; 这种分子层面的交联与空间构象重构, 破坏了原有肽分子堆叠成片块状的聚集方式, 促使肽链发生折叠、重组并形成分散的微小颗粒, 堆积后导致形成结构疏松、分布均匀的颗粒形貌[15]。

2.3.5　粒度分布结果

ZSSP-Zn 及 ZSSP 的粒度分布如图 8 所示。ZSSP-Zn 的主要粒度分布在 0.20~0.30 μm, 占 92.78%, 平均粒度为 0.2498 μm。ZSSP 的主要粒度分布在 0.20~0.30 μm, 占 85.85%, 平均粒度为 0.2588 μm。相比 ZSSP, ZSSP-Zn 的平均粒度较小, 粒度分布范围更集中均一, 表明 ZSSP 与锌螯合可能促使多肽分子链发生空间构象折叠、减少了分子无序聚集现象, 更容易形成尺寸均一、粒径略小的稳定微颗粒结构[39]。



注: a. ZSSP (×100); b. ZSSP (×2000); c. ZSSP–Zn (×100); d. ZSSP–Zn (×2000)。

图 7　ZSSP 及 ZSSP-Zn 的微观形态

Fig.7　Micromorphology of ZSSP and ZSSP-Zn

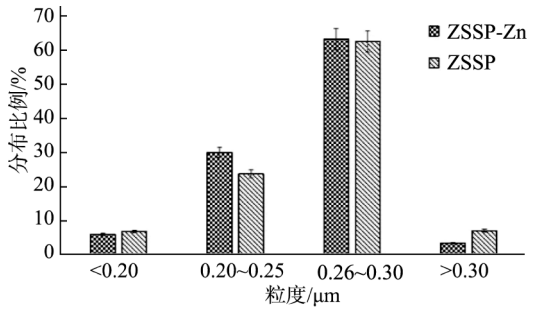


图 8 ZSSP 及 ZSSP-Zn 的粒度分布
Fig.8 Particle size distribution of ZSSP and ZSSP-Zn

2.3.6 ZSSP-Zn 稳定性研究

由图 9 可知，在模拟胃消化阶段，ZSSP-Zn 的溶解率明显低于硫酸锌和葡萄糖酸锌，在 120 min 时溶解率分别为 85.07%、94.11%、94.98%。经模拟肠液消化后，ZSSP-Zn 的溶解率明显高于硫酸锌和葡萄糖酸锌，在 240 min 时，ZSSP-Zn 溶解率为 56.42%(硫酸锌 17.52%、葡萄糖酸锌 31.77%)。结果表明，与硫酸锌、葡萄糖酸锌相比，ZSSP-Zn 经体外胃肠道消化后锌离子溶出率更高；且随消化时间延长，ZSSP-Zn 在胃肠道模拟环境中仍保持良好稳定性。

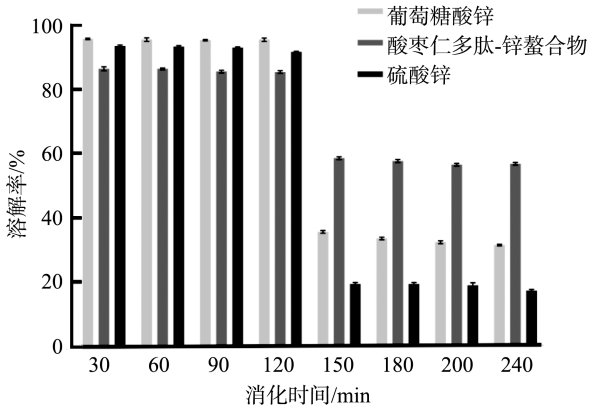


图 9 体外胃肠模拟消化分析
Fig.9 Analysis of simulated digestion of the gastrointestinal tract *in vitro*

3 结 论

本研究通过单因素试验结合响应面法系统优化 ZSSP-Zn 制备工艺，最佳螯合条件为肽锌比 3:1、pH=6、螯合时间 2 h、螯合温度 60 ℃，明确了肽锌比、pH、螯合时间与温度对螯合反应的影响。通过分析螯合物的键合方式及微观形貌，了解酸枣仁多肽与锌离子之间的相互作用机制，为螯合物的形成过程提供理论依据。肽锌螯合物颗粒疏松、粒径减小，利于提升溶解性与生物接触效率，与多数肽-锌螯合物结构演变规律相一致[40–41]。体外模拟胃肠道消化试验证实 ZSSP-Zn 具备良好胃肠环境稳定性。

本研究创新性聚焦酸枣仁活性多肽与锌的螯合效应，不仅优化得到稳定可行的制备工艺，还从光谱特征、官能团配位、微观形貌及粒度层面阐明螯合机制，补充了酸枣仁深加工及矿物元素螯合领域的研究。ZSSP-Zn 相较于无机锌制剂溶解性、胃肠稳定性及生物利用度更优，可开发为新型天然补锌功能食品、膳食营养补充剂，也可作为食品营养强化剂应用于功能性饮品、休闲食品等领域，在大健康食品开发与微量元素营养补给方面具备广阔产业化前景。

参考文献

[1] 黄丽娟. 逍遥散合酸枣仁汤治疗更年期失眠症的临床疗效研究[J]. 现代诊断与治疗, 2023, 34(14): 2081–2083.
Huang Lijuan. Clinical efficacy study of xiaoyao powder combined with suanzaoren decoction in treating menopausal insomnia [J]. Modern Diagnosis and Treatment, 2023, 34(14): 2081–2083.

[2] 张红印. 酸枣仁蛋白的提取及其生物活性研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2021: 38–49.
Zhang Hongyin. Extracting and bioactivity study of jujube seed protein [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2021: 38–49.

[3] 秦梦歌, 张金培. 酸枣仁及其复合制剂治疗失眠研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(3): 78–86.
Qin Mengge, Zhang Jinpei. Research progress on the treatment of insomnia with jujube seed and its compound preparations [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2025, 27(3): 78–86.

[4] 付镓榕, 胡小静, 马尚玄, 等. 不同分子量澳洲坚果多肽制备工艺与抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2023, 44(20): 414–421.
Fu Jiarong, Hu Xiaojing, Ma Shangxuan, et al. Preparation technology and antioxidant activity of different molecular weight macadamia nut peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(20): 414–421.

[5] 刘晓艺, 周玉岩, 过利敏, 等. 不同分子量红花籽抗氧化肽稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(13): 94–102.
Liu Xiaoyi, Zhou Yuyan, Guo Limin, et al. Stability study of antioxidant peptides from safflower seeds with different molecular weights [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(13): 94–102.

[6] 许光映. 火麻蛋白粉提取工艺研究[J]. 农产品加工, 2020(24): 20–23.
Xu Guangying. Research on the extraction process of hemp protein powder [J]. Agricultural Products Processing, 2020(24): 20–23.

[7] Nurkhodja M, Akmal A, Ansor Y, et al. Synthesis and characterisation of chickpea peptides-zinc chelates having ACE_2 inhibitory activity [J]. The Protein Journal, 2023, 42(5): 547–562.

[8] 郑义, 李诗颖, 李闯, 等. 银杏肽锌螯合物的制备、体外消化及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 420–427.
Zheng Yi, Li Shiying, Li Chuang, et al. Preparation, *in vitro* digestion and antioxidant activity analysis of ginkgolide zinc chelate [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(17): 420–427.

[9] 于志颖. 灰树花多肽-锌螯合物的制备及其改善记忆功能研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2020: 39–42.
Yu Zhiying. Preparation of gray tree flower polypeptide-zinc chelate and

its study on memory function improvement [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020: 39–42.

[10] 李敏晶, 李丹阳, 范梓伊. 响应面优化海星肽-锌螯合物的制备[J]. 农产品加工, 2025(4): 11–14, 19.
Li Minjing, Li Danyang, Fan Ziyi. Preparation of optimized star peptide-zinc chelate complex through response surface methodology [J]. Agricultural Products Processing, 2025(4): 11–14, 19.

[11] 黄磊, 孙纪录, 甘俊甜, 等. 红鳍东方鲀骨胶原蛋白肽锌螯合物制备、结构表征及消化特性[J]. 食品工业科技, 2025, 46(14): 256–266.
Huang Lei, Sun Jilu, Gan Juntian, et al. Preparation, structural characterization, and digestive properties of zinc chelate complex of collagen peptides from Redfin Tetrodon [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(14): 256–266.

[12] 陈晓钰, 许舜滢, 王思诺, 等. 豌豆蛋白巯基肽-锌螯合物的制备、结构表征与吸收机制[J]. 中国食品学报, 2025, 25(12): 141–150.
Chen Xiaoyu, Xu Shunying, Wang Sinuo, et al. Preparation, structural characterization and absorption mechanism of pod protein thiol peptide-zinc chelate [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(12): 141–150.

[13] 班芳芳. 海洋真菌来源天然产物 *Aspergillusidone* G 的多靶向抗帕金森病机制及其与食源性活性肽的协同抗炎研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2025: 10–14.
Ban Fangfang. The multi-target anti-Parkinson's disease mechanism of the marine fungal-derived natural product *Aspergillusidone* G and its synergistic anti-inflammatory effects with food-derived active peptides [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2025: 10–14.

[14] 赵一萌, 索晓雄, 刘彩霞, 等. 不同分子质量酸枣仁多肽制备及功能特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(24): 91–96.
Zhao Yimeng, Suo Xiaoxiong, Liu Caixia, et al. Preparation and functional characterization of molecular weight-dependent jujube seed peptides [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(24): 91–96.

[15] 山西中医药大学. 一种酸枣仁肽锌螯合物及其制备方法和应用: 中国, 202411599544. 4[P]. 2025-02-14: 3–9.
Shanxi University of Traditional Chinese Medicine. A zinc chelate of jujube seed peptide and its preparation method and application: China, 202411599544. 4 [P]. 2025-02-14: 3–9.

[16] Wang Chan, Li Bo, Li Haixia, et al. Zn (II) chelating with peptides found in sesame protein hydrolysates: identification of the binding sites of complexes [J]. Food Chemistry, 2014(165): 594–602.

[17] 邓叶俊, 黄立新, 张彩虹, 等. 木瓜籽肽-锌螯合物的制备、结构表征及稳定性研究[J]. 林产化学与工业, 2023, 43(5): 73–80.
Deng Yejun, Huang Lixin, Zhang Caihong, et al. Preparation, structural characterization and stability study of papaya seed peptide-zinc chelate [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2023, 43(5): 73–80.

[18] 张铭冉, 薛天睿, 吕彬斐, 等. 卵黄高磷蛋白磷酸肽-锌螯合物的制备及其结构表征[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(9): 230–238.
Zhang Mingran, Xue Tianrui, Lv Binfei, et al. Preparation and structural characterization of egg yolk high-phosphorus protein phosphopeptide-zinc chelate [J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(9): 230–238.

[19] 唐顺博, 涂宗财, 沙小梅, 等. 罗非鱼鳞胶原肽亚铁螯合物制备工艺优化及结构表征[J]. 食品与机械, 2020, 36(7): 155–160.
Tang Shunbo, Tu Zongcai, Sha Xiaomei, et al. Optimization of preparation process and structural characterization of iron chelate in tilapia scale collagen peptide [J]. Food & Machinery, 2020, 36(7): 155–160.

[20] 王彦芝, 刘伯业, 陈复生, 等. 菜籽肽亚铁螯合物的制备工艺优化及结构表征[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2024, 45(6): 1–9.
Wang Yanzhi, Liu Boye, Chen Fusheng, et al. Optimization of preparation process and structural characterization of canola peptide ferrous chelate [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2024, 45(6): 1–9.

[21] 楼钰航. 延边黄牛骨多肽矿物质螯合物结构表征及抗氧化作用[D]. 延吉: 延边大学, 2021: 21.
Lou Yuhang. Structural characterization and antioxidant activity of Yanbian yellow cattle bone peptide mineral chelate [D]. Yanji: Yanbian University, 2021: 21.

[22] 吴海霞, 孙元琳, 高颖, 等. 小米糠肽-锌螯合物的制备、结构表征及体外模拟消化分析[J]. 中国粮油学报, 2026, 41(1): 92–99.
Wu Haixia, Sun Yuanlin, Gao Ying, et al. Preparation, structural characterization, and *in vitro* simulated digestion analysis of millet bran peptide-zinc chelate [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2026, 41(1): 92–99.

[23] Zhu Kexue, Wang Xiaoping, Guo Xiaona. Isolation and characterization of zinc-chelating peptides from wheat germ protein hydrolysates [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 23–32.

[24] 胡香莲, 郦萍, 周柳莎, 等. 薏米多肽-钙、锌螯合物制备及结构表征[J]. 中国食品学报, 2024, 24(7): 229-240.
Hu Xianglian, Li Ping, Zhou Liusha, et al. Preparation and structural characterization of rice polypeptide-calcium and zinc chelates [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(7): 229–240.

[25] 黎松松, 周南希, 乔虹, 等. 谷朊粉钙离子螯合肽制备工艺优化及其结构表征[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(18): 74–83.
Li Songsong, Zhou Nanxi, Qiao Hong, et al. Optimization of preparation process and structural characterization of calcium ion chelated peptides from wheat gluten powder [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(18): 74–83.

[26] 吴晗硕, 任杰, 付少委, 等. 玉米肽钙螯合物的结构表征和螯合机制[J]. 中国食品学报, 2024, 24(10): 115–123.
Wu Hanshuo, Ren Jie, Fu Shaowei, et al. Structural characterization and chelation mechanism of corn peptide calcium chelate [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(10): 115–123.

[27] 张名义, 黄继红, 陈新阳, 等. 小麦蛋白多肽螯合钙制备工艺及其功能特性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2024, 45(2): 66–73, 82.
Zhang Mingyi, Huang Jihong, Chen Xinyang, et al. Preparation process and functional characteristics of wheat protein peptide chelated calcium [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2024, 45(2): 66–73, 82.

[28] Wu Wenfei, Li Bafang, Hou Hu, et al. Isolation and identification of calcium-chelating peptides from pacific cod skin gelatin and their binding properties with calcium [J]. Food & Function, 2017, 8(12): 4441–4448.

[29] Zhang Ziran, Zhou Feibai, Liu Xiaoling, et al. Particulate nanocomposite from oyster (*Crassostrea rivularis*) hydrolysates via zinc chelation

improves zinc solubility and peptide activity [J]. Food Chemistry, 2018, 258: 269–277.

[30] Fan Chaozhong, Ge Xiaofan, Hao Junyu, et al. Identification of high iron-chelating peptides with unusual antioxidant effect from sea cucumbers and the possible binding mode [J]. Food Chemistry, 2022, 399: 133912.

[31] Huang Guangrong, Ren Zhangyan, Jiang Jiaxin. Separation of iron-binding peptides from shrimp processing by-products hydrolysates [J]. Food and Bioprocess Technology, 2011, 4(8): 1527–1532.

[32] Ke Xiao, Hu Xiao, Li Laihao, et al. A novel zinc-binding peptide identified from tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin collagen and transport pathway across Caco-2 monolayers [J]. Food Bioscience, 2021, 42: 101127.

[33] Udechukwu M C, Downey B, Udenigwe C C. Influence of structural and surface properties of whey-derived peptides on zinc-chelating capacity, and *in vitro* gastric stability and bioaccessibility of the zinc-peptide complexes [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 1227–1232.

[34] 宋丽, 朱临娴, 宋璐杉, 等. 钙结合卵黄高磷蛋白磷酸肽的制备及其肽钙螯合物的结构表征[J]. 食品科学, 2023, 44(6): 125–133.
Song Li, Zhu Linxian, Song Lushan, et al. Preparation of calcium-binding high-phosphorus protein phosphopeptide from egg yolk and structural characterization of the peptide-calcium chelate [J]. Food Science, 2023, 44(6): 125–133.

[35] 郑英敏, 袁杨, 苏东晓, 等. 大豆多肽-锌螯合物的制备工艺优化及其结构表征[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 160–165.
Zheng Yingmin, Yuan Yang, Su Dongxiao, et al. Optimization of preparation process and structural characterization of soybean peptide-zinc chelate [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(14): 160–165.

[36] Pomastowski P, Sprynskyy M, Buszewski B. The study of zinc ions binding to casein [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014, 120: 21–27.

[37] 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 iron chelate [J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(4): 221–227, 235.

[38] 曾庆瑞, 钱文举, 王梦璠, 等. 宽体金线蛭多肽-锌螯合物的制备及其结构表征[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 11–15.
Zeng Qingrui, Qian Wenju, Wang Mengfan, et al. Preparation and structural characterization of broad-body golden thread leech polypeptide-zinc chelate [J]. Food & Machinery, 2016, 32(5): 11–15.

[39] 齐宝坤, 李杨, 王中江, 等. 不同品种大豆分离蛋白Zeta电位和粒径分布与表面疏水性的关系[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 114–118.
Qi Baokun, Li Yang, Wang Zhongjiang, et al. Relationship between zeta potential, particle size distribution, and surface hydrophobicity of soybean isolate proteins from different varieties [J]. Food Science, 2017, 38(3): 114–118.

[40] 梅洁. 核桃谷蛋白多肽及其肽锌螯合物的制备、分离纯化与代谢调控作用研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2024: 34–39.
Mei Jie. Preparation, isolation, purification, and metabolic regulatory effects of walnut gluten peptides and their peptide-zinc chelates [D]. Urumchi: Xinjiang Agricultural University, 2024: 34–39.

[41] 冷雨佳, 段晓杰, 陈复生. 大豆肽锌螯合物的制备、结构表征及其体外消化分析[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2022, 43(4): 29–37.
Leng Yujia, Duan Xiaojie, Chen Fusheng. Preparation, structural characterization, and *in vitro* digestion analysis of soybean peptide-zinc chelate [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2022, 43(4): 29–37.

(责任编辑: 曹岱琳 安香玉)