

小米糠肽 - 锌螯合物的制备、 结构表征及体外模拟消化分析

吴海霞¹, 孙元琳¹, 高颖², 王娇³

(运城学院生命科学系¹, 运城 044000)

(山西农业大学食品科学与工程学院², 晋中 030801)

(山西沁州黄小米(集团)有限公司³, 长治 046400)

摘要: 为寻求新型锌营养补充剂, 以小米糠蛋白肽为原料, 以锌离子螯合率为指标, 通过单因素实验结合响应面分析优化小米糠肽 - 锌螯合物的制备工艺, 并运用紫外光谱、荧光光谱、扫描电镜、傅里叶变换红外光谱对小米糠肽 - 锌螯合物的结构进行表征, 并通过体外模拟胃肠消化评价其生物利用度。结果表明, 小米糠肽 - 锌螯合物的最佳制备工艺条件为肽锌比 $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 为 3.5:1.0、pH 值 7.8、螯合温度 40 °C、螯合时间 60 min, 该条件下 Zn^{2+} 螯合率为 58.90%; 小米糠蛋白肽与锌离子结合后形成新产物小米糠肽 - 锌螯合物, 其以条状居多, 表面积较小, 表面粗糙, 且肽链中的羧基及羰基氧原子和氨基氮原子是小米糠蛋白肽和锌离子发生螯合反应的主要位点; 体外模拟胃肠消化结果表明, 小米糠肽 - 锌螯合物的胃肠溶解性较硫酸锌及葡萄糖酸锌 2 种补锌剂为优。

关键词: 小米糠蛋白肽; 肽 - 锌螯合物; 结构表征; 体外模拟消化

DOI:10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.001302

中图分类号: TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1003-0174(2026)01-0092-08

网络首发时间: 2026-01-04 14:18:29

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.2864.TS.20260104.1341.004>

Preparation, structural characterization, and *in vitro* simulated digestion analysis of a zinc chelate with millet bran peptides

Wu Haixia¹, Sun Yuanlin¹, Gao Ying², Wang Jiao³

(Department of Life Science, Yuncheng University¹, Yuncheng 044000)

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University², Jinzhong 030801)

(Shanxi Qinzhouhuang Millet (Group) Co., Ltd.³, Changzhi 046400)

Abstract: The preparation process conditions of millet bran peptide - zinc chelate were optimized by combining single-factor experiments with response surface methodology to develop a new type of zinc nutritional supplement. Millet bran protein peptide was used as the raw material, and the zinc ion chelation rate was employed as the index. The structure of millet bran peptide - zinc chelate was characterized by UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy, scanning electron microscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy, and its bioavailability was evaluated via *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. The results showed that the optimal preparation conditions for millet bran were obtained, including peptide - zinc mass ratio ($m(\text{peptide}):m(\text{zinc})$) of 3.5:1.0, pH 7.8, chelation temperature of 40 °C, and chelation time of 60 min. The Zn^{2+} chelation rate was reached 58.90% at optimal preparation

基金项目: 山西省技术创新中心基地项目(202404010920021)

收稿日期: 2025-08-22

第一作者: 吴海霞, 女, 1980 年出生, 副教授, 天然产物活性成分与构效关系, whxviolet@163.com

通信作者: 孙元琳, 女, 1971 年出生, 教授, 农产品加工与增值技术, sylwts@aliyun.com

conditions. A new product, millet bran peptide - zinc chelate was formed through chelation between millet bran protein peptides and zinc ions. The millet bran peptide - zinc chelate was mostly strip - shaped, with a small surface area and rough surface. The carboxyl and carbonyl oxygen atoms, and the amino nitrogen atoms in the peptide chain were the main sites for the chelation reaction between millet bran protein peptides and zinc ions. The results of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion indicated that the gastrointestinal solubility of millet bran peptide - zinc chelate were superior to that of two zinc supplements, namely zinc sulfate and zinc gluconate.

Key words: millet bran protein peptide; peptide - zinc chelate; structural characterization; *in vitro* simulated digestion

锌是人体必需的微量元素之一,由于饮食结构失衡以及传统膳食结构中锌吸收受限等因素,锌缺乏情况仍普遍存在^[1]。改善人体锌缺乏状况的有效途径是摄入各种新营养补充剂,目前以硫酸锌为代表的第二代无机盐补锌剂,和以葡萄糖酸锌为代表的第二代有机酸锌补锌剂存在胃肠道刺激、生物利用度低等缺点。因此,寻求安全性高、吸收性好、生物利用度高的新型补锌剂势在必行。

肽锌螯合物是以食源性多肽为结构基础构建的复合物,通过将锌离子络合于肽链结构中,可有效避免食物或胃肠道中植酸、皂苷等物质对锌离子的沉淀或拮抗作用,同时还能减少锌离子吸收过程中其他营养元素的竞争性抑制作用,降低胃肠道刺激,并可通过肽吸收系统被小肠细胞快速吸收,其作为第三代补锌产品逐渐成为研究热点^[2,3]。早期研究多以动物蛋白为原料进行肽锌螯合物制备^[4-7],为充分利用植物蛋白资源,其他研究以大豆^[8]、银杏^[9]、芝麻^[10]、花生^[11]等为原料制备相应的肽-锌螯合物。

小米糠是谷子(*Setaria italica*)加工后的副产物,蛋白质质量分数为12%~18%,本实验在前期筛选蛋白、制备小米糠蛋白肽的基础上,优化小米糠肽-锌螯合物制备工艺,并对其进行结构表征及体外模拟消化分析。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

小米糠蛋白肽,实验室制备。

硫酸锌、葡萄糖酸锌,均为分析纯;猪胆盐(胆酸质量分数≥40%)、胃蛋白酶(3 000~3 500 NFU/mg)、胰蛋白酶(250 NFU/mg)。

1.2 仪器与设备

GL-20B 高速冷冻离心机、R-210 旋转蒸发器、1-2LD plus 冷冻干燥机、ChristSHA-BA 型水浴恒温振荡器、M200 型酶标仪、JSM-7500F 扫描电子

显微镜、JH75PC 紫外全波长扫描、ReactRaman785 傅里叶红外光谱仪、RF6000 荧光光谱仪。

1.3 实验方法

1.3.1 小米糠蛋白肽的制备

在质量分数为3%的小米糠谷蛋白溶液中加入质量分数为5%的复合蛋白酶[m(碱性蛋白酶):m(风味蛋白酶)比例为1:1混合],调至pH 8.0,于52℃酶解4 h,灭酶后冷却、离心,收集上清液,冷冻干燥制得小米糠蛋白肽(水解度DH为22.58%)。

1.3.2 小米糠肽-锌螯合物的制备

配制质量分数为0.5%的小米糠蛋白肽溶液,调至适宜pH值,按一定比例加入ZnSO₄,在适宜温度下螯合一定时间后离心、收集上清液,旋转蒸发浓缩后加入3倍体积无水乙醇,醇沉10 h,收集沉淀,反复洗涤,直至再无沉淀析出,冷冻干燥48 h,得小米糠肽-锌螯合物^[8,12]。

1.3.3 小米糠肽-锌螯合物的制备工艺优化

1.3.3.1 单因素实验设计

分别称取0.5 g小米糠蛋白肽,蒸馏水定容至100 mL,设置不同m(肽):m(锌)(1:1、2:1、3:1、4:1、5:1)、不同螯合pH(6.0、7.0、8.0、9.0、10.0)、不同螯合温度(30、40、50、60、70℃)及不同螯合时间(15、30、45、60、75 min),按照1.3.2制备小米糠肽-锌螯合物,并计算Zn²⁺螯合率,考察不同因素对小米糠肽-锌螯合率的影响。

Zn²⁺螯合率采用EDTA络合滴定法^[10]进行测定。按式(1)计算Zn²⁺螯合率。

$$y_1 = \frac{V_1 - V_0}{V_2 - V_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:y₁为Zn²⁺螯合率/%;V₂为测定总锌含量时消耗的EDTA体积/mL;V₁为测定螯合锌含量时消耗的EDTA体积/mL;V₀为用去离子水代替待测液所需的EDTA体积/mL。

1.3.3.2 响应面实验设计

结合单因素实验结果,Zn²⁺螯合率为响应值,设

置 $A[m(\text{肽}):m(\text{锌})]$ 、 $B(\text{pH})$ 、 $C(\text{螯合温度})$ 、 $D(\text{螯合时间})$ 为考察因素,进行 4 因素 3 水平响应面实验设计,方案见表 1。

表 1 响应面设计实验

水平	因素			
	$A:m(\text{肽}):m(\text{锌})$	$B:\text{pH}$	$C:\text{螯合温度}/^\circ\text{C}$	$D:\text{螯合时间}/\text{min}$
-1	2:1	7.0	30.0	45.0
0	3:1	8.0	40.0	60.0
1	4:1	9.0	50.0	75.0

1.3.4 小米糠肽-锌螯合物结构测定

1.3.4.1 扫描电镜

挑取小米糠蛋白肽和肽-锌螯合物干燥粉末,涂至载样板上,喷金后进行扫描^[13]。

1.3.4.2 紫外光谱

配制小米糠蛋白肽和小米糠肽-锌螯合物溶液(0.5 mg/mL),离心(8 000 r/min、15 min),取上清液,在 190~400 nm 波长范围内进行扫描^[14]。

1.3.4.3 傅里叶变换红外光谱

取小米糠肽-锌螯合物粉末与 KBr 进行研磨、压片,完成后置于样品槽中,选择在 4 000~400 cm^{-1} 内扫描,并对参与螯合反应的小米糠蛋白肽作为对照组进行处理^[13,15]。

1.3.4.4 荧光光谱

配制小米糠蛋白肽与 1 mg/mL 肽-锌螯合物溶液,8 000 r/min 离心 20 min,取上清液用于检测,设激发波长 280 nm,测定 2 种样液在波长 320~520 nm 范围内的发射光谱^[16]。

1.3.5 小米糠肽-锌螯合物的体外模拟胃肠消化

模拟胃肠液的配制^[13,17,18]:将 2 g 氯化钠与 3.2 g 胃蛋白酶溶于 ddH₂O,调节 pH 至 1.2,定容至 1 L 后制备得模拟胃液;将 0.68 g 磷酸二氢钾溶于 ddH₂O,加入 7.7 mL NaOH 溶液,混匀后加入 1 g 胰蛋白酶和 6 g 胆盐,调 pH 至 7.6,定容至 100 mL 后制备得模拟肠液。

模拟体外胃肠道消化^[13,17,18]:配制小米糠肽-锌螯合物、硫酸锌及葡萄糖酸锌溶液(10 mg/mL),调至 pH 2.0,加入模拟胃液,37 $^\circ\text{C}$ 水浴振荡,模拟消化 120 min;调至 pH 7.2,加入模拟肠液,继续模拟肠消化 120 min。

在整个消化过程中,每隔 30 min 测定各溶液中 Zn^{2+} 溶解率。将所取各消化液分别冷却灭酶后移至离心管,于 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,采用 EDTA 螯合法^[10] 分别测定所得上清液中锌含量及消

化液中的总锌含量,计算 Zn^{2+} 溶解率。按式(2)计算 Zn^{2+} 溶解率。

$$y_2 = \frac{V_1}{V_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中: y_2 为 Zn^{2+} 溶解率/100%; V_1 为滴定上清液中锌离子所需的 EDTA 溶液体积/mL; V_2 为滴定等体积溶液中锌离子所需的 EDTA 溶液体积/mL。

1.4 数据分析及处理

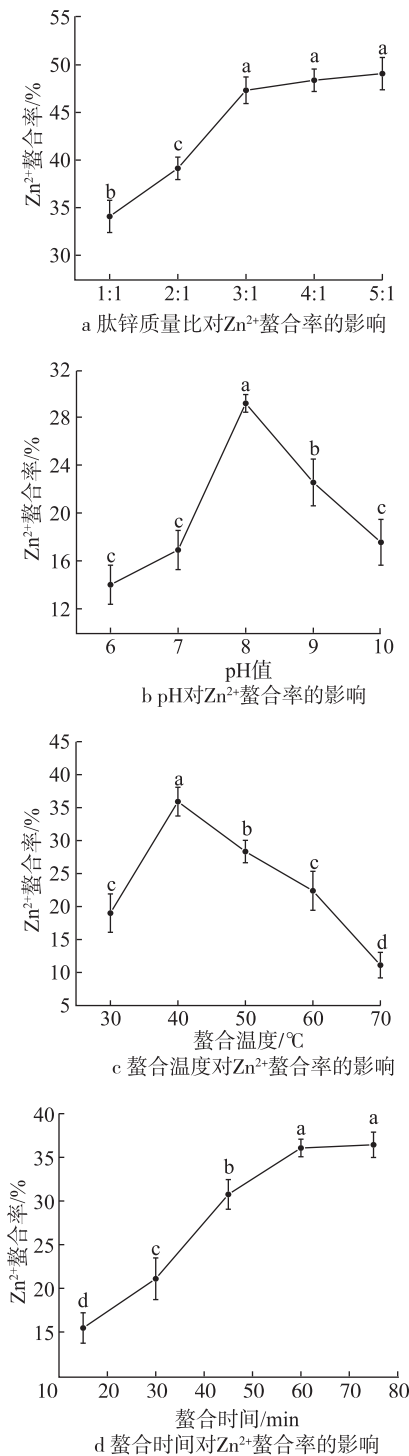
所有实验重复 3 次,使用 Design Expert 10.0.7 进行响应面实验结果分析,采用 SPSS Statistics 25 进行数据显著性分析,以 Origin 2021 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果与分析

实验分别研究了肽锌比 $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 、pH 值、螯合温度、螯合时间对 Zn^{2+} 螯合率的影响。从图 1a 可以看出,随着肽锌比的不断增加, Zn^{2+} 螯合率先升高后逐渐趋于稳定。肽锌比 $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 在 1:1~3:1 范围内时,随着小米糠蛋白肽质量的增加, Zn^{2+} 螯合率从 33.70% 显著增至 47.30% ($P < 0.05$), $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 超过 3:1 后,螯合率虽有所升高,但变化不显著,可能是因为在此条件下,肽链上与锌离子进行螯合的位点趋于饱和,反应基本趋于平衡^[5],蛋白肽继续增加不但会造成原料浪费,同时还可能因过多蛋白肽存在而造成肽聚集,不利于其与锌的螯合。由图 1b 可见,随着 pH 值增大, Zn^{2+} 螯合率先升高后降低,当体系 pH 为 6.0 时, Zn^{2+} 螯合率仅为 14.01%,这可能是由于体系中 H^+ 与 Zn^{2+} 争夺肽链电子而导致螯合反应较难发生;当 pH 为 8.0, Zn^{2+} 螯合率达到最大,且显著高于其他 pH ($P < 0.05$);当 pH 超过 8.0, Zn^{2+} 容易与 OH^- 发生反应并产生 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 金属盐沉淀,导致螯合率快速下降^[8]。

适宜的温度会加强分子运动并增加小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 的碰撞概率,从而有利于螯合反应的进行。由图 1c 可知,随着温度从 30 $^\circ\text{C}$ 升至 70 $^\circ\text{C}$,小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 的螯合率先上升后下降,其中 40 $^\circ\text{C}$ 时螯合率最大,为 35.91%,并显著优于其他温度 ($P < 0.05$);当温度超过 40 $^\circ\text{C}$ 后,螯合率显著下降,这可能是由于过高温度会使蛋白肽变性,不利于与 Zn^{2+} 螯合^[7]。螯合时间对 Zn^{2+} 螯合率的影响如图 1d 所示,随螯合时间的延长, Zn^{2+} 螯合率显著增加(15~60 min)后趋于平缓(60~80 min)。反应 60 min 时,螯合率为 36.07%,此时,小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 的结



注:不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。余同。

图1 不同因素对Zn²⁺螯合率的影响

合基本达到平衡。

2.2 响应面实验结果与分析

以Zn²⁺螯合率为指标,利用Design Expert软件,经二次多项回归拟合分析,建立回归模型,响应面实验结果如表2所示,得到Zn²⁺螯合率回归方程: $Y = 57.77 + 4.02A - 0.91B + 2.01C + 1.04D - 2.30AB -$

$$0.32AC - 0.36AD - 2.83BC + 2.31BD + 0.26CD - 4.08A^2 - 6.99B^2 - 6.15C^2 - 3.27D^2。$$

表2 响应面实验结果

实验号	A	B	C	D	螯合率/%
1	-1	-1	0	0	41.90 ± 0.36
2	1	-1	0	0	57.00 ± 0.61
3	-1	1	0	0	40.29 ± 0.92
4	1	1	0	0	46.19 ± 1.02
5	0	0	-1	-1	43.56 ± 0.75
6	0	0	1	-1	46.89 ± 0.26
7	0	0	-1	1	48.60 ± 0.55
8	0	0	1	1	52.96 ± 0.31
9	-1	0	0	-1	48.60 ± 0.86
10	1	0	0	-1	53.69 ± 0.44
11	-1	0	0	1	49.20 ± 0.70
12	1	0	0	1	52.85 ± 0.82
13	0	-1	-1	0	41.56 ± 0.02
14	0	1	-1	0	45.69 ± 0.52
15	0	-1	1	0	50.56 ± 0.36
16	0	1	1	0	43.35 ± 0.97
17	-1	0	-1	0	39.85 ± 0.02
18	1	0	-1	0	49.75 ± 0.24
19	-1	0	1	0	45.35 ± 0.46
20	1	0	1	0	53.98 ± 1.01
21	0	-1	0	-1	47.96 ± 0.86
22	0	1	0	-1	45.63 ± 0.11
23	0	-1	0	1	44.15 ± 0.85
24	0	1	0	1	51.06 ± 0.15
25	0	0	0	0	55.80 ± 0.66
26	0	0	0	0	57.95 ± 0.24
27	0	0	0	0	57.36 ± 0.16
28	0	0	0	0	58.49 ± 0.51
29	0	0	0	0	59.25 ± 0.26

方差分析结果表3表明,A、C、BC、A²、B²、C²、D²均达到显著($P < 0.05$)或极显著水平($P < 0.01$),由一次项系数可知各因素对响应值影响的主次顺序为: $m(\text{肽}):m(\text{锌}) > \text{螯合温度} > \text{螯合时间} > \text{pH}$;失拟项 $P = 0.0709 > 0.05$,表明使用该模型时其他因素对实验结果的干扰较小,所选模型构建合理;此模型的 $P < 0.0001$,表明该模型能很好地预测小米糠肽-锌螯合物的制备情况。

根据响应面分析,得到小米糠肽-锌螯合物的最佳制备工艺为肽锌比 $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 为3.53:1.00、pH值7.82、螯合温度40.19℃、螯合时间为60.07min,此条件下,Zn²⁺理论螯合率为59.15%。结合实际情况,将其调整为:肽锌比 $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 为3.5:1.0、pH值为7.8、螯合温度为40℃、螯合时间为60min,经实验验证,在此条件下Zn²⁺平均螯合率为58.90%,与理论预测值接近,表明所得回归模型可以较好拟合Zn²⁺螯合情况。

表3 方差分析及显著性实验结果

来源	平方和	均方	F值	P值	显著性
回归模型	848.17	60.58	9.52	<0.000 1	**
A	194.17	194.17	30.52	<0.000 1	**
B	9.94	9.94	1.56	0.231 9	
C	48.32	48.32	7.60	0.015 5	*
D	13.00	13.00	2.04	0.174 8	
AB	21.16	21.16	3.33	0.089 6	
AC	0.40	0.40	0.063	0.804 9	
AD	0.52	0.52	0.081	0.779 5	
BC	32.15	32.15	5.05	0.041 2	*
BD	21.34	21.34	3.36	0.088 4	
CD	0.27	0.27	0.042	0.841 1	
A ²	107.95	107.95	16.97	0.001 0	**
B ²	317.23	317.23	49.87	<0.000 1	**
C ²	245.20	245.20	38.54	<0.000 1	**
D ²	69.24	69.24	10.88	0.005 3	**
残差	89.06	6.36			
失拟项	82.27	8.23	4.85	0.070 9	
纯误性	6.79	1.70			
总差	937.24				

注:**为 $P < 0.01$,为极显著;*为 $P < 0.05$,为显著。

2.3 小米糠肽-锌螯合物的结构解析

2.3.1 扫描电镜分析

由图2可见,小米糠蛋白肽的微观形态结构(图2a)与肽-锌螯合物(图2b)明显不同。小米糠蛋白肽表面比较光滑、呈片状结构,表面积较大;肽-锌螯合物呈碎片状或条状结构,表面积明显变小,同时表面存在大量凹陷和褶皱以及白色晶体,比较粗糙。微观形态的改变主要是由于多肽与 Zn^{2+} 发生螯合反应,形成肽-锌螯合物,同时,分子间相互作用使锌晶体吸附在蛋白肽表面^[13]。

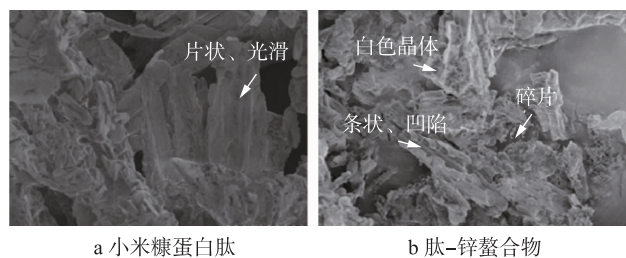


图2 小米糠蛋白肽及肽-锌螯合物的扫描电镜图

2.3.2 紫外光谱分析

紫外光谱可检测物质发生的变化以及对是否产生新物质进行测定。由图3可见,与小米糠蛋白肽相比,肽-锌螯合物的紫外吸收光谱发生明显变化,小米糠蛋白肽在波长204 nm处具有最大吸收峰,属于羰基与肽键的特征吸收峰,是 $-NH-C=O$ 上的一

$C=O$ 电子跃迁的结果;与 Zn^{2+} 螯合后,吸收峰偏移至200 nm处,且强度变弱,这可能是因为 Zn^{2+} 自身以及新形成的螯合物会吸收紫外波长,形成电子跃迁,同时,螯合物内部 Zn^{2+} 与N、O原子发生配位结合,使肽键上的 $-C=O$ 电子跃迁受到影响。这与胡香莲等^[12]对薏米肽-锌螯合物、富天昕等^[17]对绿豆肽-锌螯合物的研究结果一致。因此,小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 发生了相互作用形成了一种新的化合物。

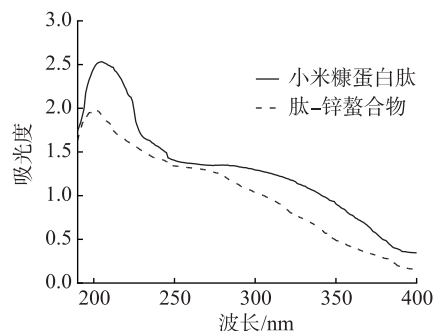


图3 小米糠蛋白肽及肽-锌螯合物紫外光谱图

2.3.3 荧光光谱分析

色氨酸、酪氨酸及苯丙氨酸在激发光下可产生荧光,形成不同的荧光光谱。小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 结合后,其结构发生改变,荧光强度也相应改变,由此可判断二者是否发生螯合反应。由图4可知,当激发波长为280 nm时,小米糠蛋白肽在359 nm处出现明显吸收峰且强度较高;当加入 Zn^{2+} 后,吸收峰由359 nm偏移至366 nm处,且荧光强度显著下降,这可能是由于 Zn^{2+} 与 $-COO^-$ 及 $-NH_2$ 结合后,多肽结构发生折叠所致^[19]。Li等^[15]研究发现,花生肽螯合锌后,其荧光吸收峰也会发生红移且强度减弱。由此认为,小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 发生螯合作用,并产生新的显色基团,从而导致激发态能量改变。

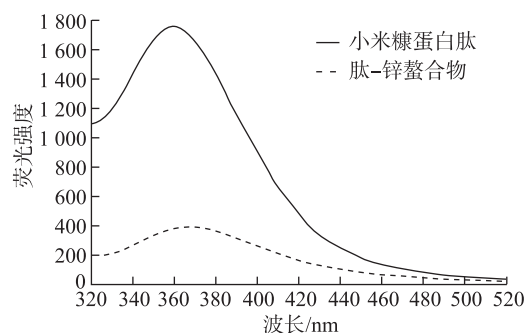


图4 小米糠蛋白肽及肽-锌螯合物荧光光谱

2.3.4 傅里叶红外光谱分析

由图5可见,小米糠蛋白肽与 Zn^{2+} 螯合后,其红

外光谱图发生显著变化,说明螯合反应的发生,并生成新的化合物,从而使氨基酸振动频率发生改变,引起吸收峰的变化。小米糠肽-锌螯合物在3 355、1 657、1 561、1 458 cm^{-1} 与1 405 cm^{-1} 等处出现明显的特征吸收峰,分别代表了一NH、—C=O、—C=N和—COO的伸缩振动,说明小米糠肽-锌螯合物中含有一NH₂、—C=O、—COOH等典型多肽结构。

3 000 ~ 3 750 cm^{-1} 的高频吸收与水合作用的—NH和—OH键有关^[20]。小米糠蛋白肽与Zn²⁺配位结合后,N—Zn替代N—H,吸收峰由3 337 cm^{-1} 迁移到3 355 cm^{-1} ;小米糠蛋白肽在1 652 cm^{-1} 处的吸收峰由酰胺I带—C=O拉伸振动引起,与Zn²⁺螯合后偏移至较高频峰1 657 cm^{-1} ;酰胺II带N—H变形振动及C—N的拉伸构成了小米糠蛋白肽在1 559 cm^{-1} 处的吸收峰,发生螯合后,吸收峰移至1 561 cm^{-1} ;肽-锌螯合物在酰胺I带与酰胺II带处的反应变化共同说明了蛋白肽与Zn²⁺在进行结合反应时均包含—C=O键,N—H键被N—Zn键所替代。肽-锌螯合物形成后,1 403 cm^{-1} 处—COO的对称拉伸振动迁移至高频峰1 458 cm^{-1} 与1 405 cm^{-1} ,由此可判断出—COO—Zn形成。

通过峰位的转移、消失、增加可知,Zn²⁺能与蛋白肽上的活性基团进行螯合,螯合位点主要为氨基、羰基和羧基,其中氧原子和氮原子为主要配位原子,此结果与紫外光谱的研究结果一致,也与富天昕等^[17]、Jiang等^[21]的研究结果相似。

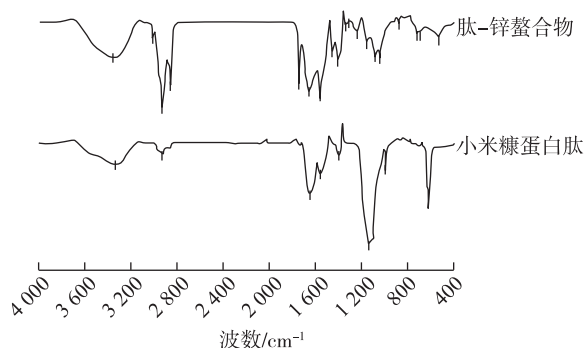


图5 小米糠蛋白肽及肽-锌螯合物红外光谱

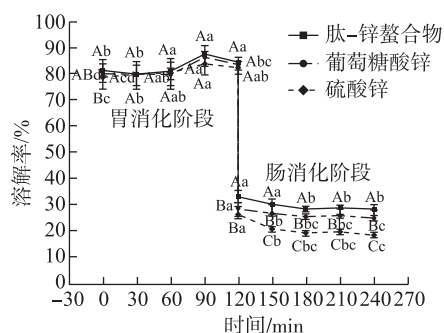
2.4 体外模拟胃肠消化分析

以Zn²⁺溶解率为指标,硫酸锌和葡萄糖酸锌为对照,通过体外模拟胃肠消化评估小米糠肽-锌螯合物在人体内的消化吸收特性,其结果如图6所示。

在胃消化阶段(0 ~ 120 min),胃部独特的强酸性环境使3种补锌剂的溶解率均超过80%,但各样品间差异不显著,其中肽-锌螯合物的溶解率最高,

消化90 min后其溶解率增至88.36%,说明螯合物会改善Zn²⁺在胃环境中的溶解率,更有利于其向肠道中转运。

进入肠消化阶段(120 ~ 240 min)后,随着pH值迅速增大,3种补锌剂的Zn²⁺溶解率均显著下降,螯合物溶解率从(84.60 ± 1.36)%下降至(33.26 ± 2.35)%,其他2种补锌剂也从约82%降至27%,且在整个肠消化阶段,螯合物中Zn²⁺的溶解率均显著高于其他2种补锌剂($P < 0.05$),这表明Zn²⁺与小米糠蛋白肽的配位结合,可防止产生Zn(OH)₂沉淀^[22],从而提高Zn²⁺在肠道的溶解率,并进而促进其肠道吸收。此外,由于肽锌螯合物具有一定缓冲作用,在食用过程中,能有效避免与饮食中植酸形成不溶性复合物,从而提高锌元素的生物利用率^[18,23]。



注:不同小写字母表示同一样品在不同处理下差异显著;不同大写字母表示同一处理不同样品间差异显著($P < 0.05$)。

图6 小米糠肽-锌螯合物的体外模拟胃肠消化实验结果

3 结论

实验以小米糠蛋白肽为原料,锌离子螯合率为指标,通过响应面设计分析,得出制备小米糠肽-锌螯合物的最佳工艺条件为肽锌比 $m(\text{肽}):m(\text{锌})$ 3.5:1.0、pH 7.8,螯合温度 40 °C、螯合时间 60 min,该条件下Zn²⁺螯合率为58.90%。紫外、荧光光谱分析结果表明,小米糠蛋白肽与Zn²⁺结合形成新产物—小米糠肽-锌螯合物;微观结构分析结果表明,与小米糠蛋白肽相比,肽-锌螯合物以碎片或条状居多,表面积变小,且表面更为粗糙;傅里叶红外光谱显示,肽链中的羧基及羰基氧原子和氨基氮原子是发生螯合反应的主要配位原子。体外模拟胃肠道消化结果表明,小米糠肽-锌螯合物在胃肠消化阶段的Zn²⁺溶解率均高于其他2种补锌剂,表明肽-锌螯合物可以更好地被消化吸收,从而增加了锌的生物利用度。

参考文献

- [1] Li J, Cao D, Huang Y, et al. Zinc intakes and health outcomes: an umbrella review [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9:798078
- [2] Udechukwu M C, Collins S A, Udenigwe C C. Prospects of enhancing dietary zinc bioavailability with food - derived zinc - chelating peptides [J]. *Food & Function*, 2016, 7(10):4137 - 4144
- [3] 李晨, 陈复生, 布冠好. 肽锌螯合物研究进展[J]. *食品工业*, 2020, 41(2):217 - 220
Li C, Chen F, Bu G. Research progress of zinc - chelating peptide[J]. *The Food Industry*, 2020, 41(2):217 - 220
- [4] 刘晶晶, 徐蕴桃, 林秋逸, 等. 锌离子螯合修饰河蚬抗氧化肽的工艺[J]. *食品工业*, 2019, 40(5):148 - 152
Liu J, Xu Y, Lin Q, et al. Technology of antioxidant peptides from *Corbicula fluminea* modified by zinc ion[J]. *The Food Industry*, 2019, 40(5):148 - 152
- [5] 柯泉, 胡晓, 杨贤庆, 等. 罗非鱼皮胶原蛋白肽 - 锌螯合物的制备及结构表征与体外消化分析[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(14):38 - 44
Ke X, Hu X, Yang X, et al. Preparation, structure characterization and *in vitro* gastrointestinal digestion of tilapia skin collagen peptide - zinc chelate[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(14):38 - 44
- [6] Ke X, Hu X, Li L, 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
- [7] Sun R, Liu X, Yu Y, 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
- [8] 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 Y, Yuan Y, Su D, et al. Preparation process optimization of soy peptides - zinc chelate and its structural characterization [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(14):160 - 165
- [9] 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 Y, Li S, Li C, et al. Preparation, *in vitro* gastrointestinal digestion and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* peptides - zinc chelate[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(17):420 - 427
- [10] Jing A, Wang C, Li B, et al. Sequence analysis and molecular docking of zinc - chelating peptides from sesame protein hydrolysates[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(45):39180 - 39188
- [11] Li C, Bu G, Chen F, et al. Preparation and structural characterization of peanut peptide - zinc chelate[J]. *CyTA - Journal of Food*, 2020, 18(1):409 - 416
- [12] 胡香莲, 酆萍, 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 X, Li P, Zhou L, et al. Preparation and structural characterization of *Coix* seed polypeptide - calcium - zinc chelate[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(7):229 - 240
- [13] 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 Y, Duan X, Chen F. 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
- [14] 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 Q, Qian W, Wang M, et al. Preparation and structure characterization of *Whitmania pigra* polypeptide - zinc chelates[J]. *Food & Machinery*, 2016, 32(5):11 - 15
- [15] Li C, Bu G, Chen F, et al. Preparation and structural characterization of peanut peptide - zinc chelate[J]. *CyTA - Journal of Food*, 2020, 18(1):409 - 416
- [16] Zhang J, Ye Z. Pentapeptide - zinc chelate from sweet almond expeller amandin hydrolysates: structural and physicochemical characteristics, stability and zinc transport ability *in vitro* [J]. *Molecules*, 2022, 27(22):7936
- [17] 富天昕, 张舒, 盛亚男, 等. 绿豆多肽锌螯合物的制备及其结构与体外消化的分析[J]. *食品科学*, 2020, 41(4):59 - 66
Fu T, Zhang S, Sheng Y, et al. Preparation, structure and *in vitro* digestibility of zinc - chelating mung bean peptide [J]. *Food Science*, 2020, 41(4):59 - 66
- [18] 周桂成, 肖珊, 王波, 等. 酪蛋白肽锌螯合物的制备及体外消化分析[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(23):270 - 279
Zhou G, Xiao S, Wang B, et al. Preparation and *in vitro* digestive analysis of casein - derived peptide - zinc chelates [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(23):270 - 279
- [19] Zhu S, Zheng Y, He S, et al. Novel Zn - binding peptide isolated from soy protein hydrolysates: purification, struc-

- ture, and digestion [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(1):483-490
- [20] Zhang Z, Yang Y, Tang X. et al. Multi-spectroscopic and molecular modeling studies on the interaction of zinc ions with myosin from silver carp: effects on structural and gel properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 1-13
- [21] Jiang Y, Li J, Zhao H, et al. Preparation of grape seed polypeptide and its calcium chelate with determination of calcium bioaccessibility and structural characterisation [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2020, 56(1):166-177
- [22] Lu X, Zhang L, Sun Q, et al. Isolation, purification, and structural characterization of novel zinc-chelating peptides from mung bean protein hydrolysates [J]. *Food & Function*, 2019, 10(4): 2215-2227
- [23] Wang B, Xiao S, Zhou G, 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.