

黄精多糖螯合锌的制备工艺优化及对 Caco-2 细胞锌转运蛋白表达的影响

徐萍¹, 李倩², 王君淑³, 鞠凤霞⁴, 马睿¹, 张凤清¹

(1. 长春工业大学 化学与生命科学学院, 长春 130012;

2. 北京市药品检验研究院(北京市疫苗检验中心), 北京 102200;

3. 敦化市市场监督管理局, 吉林 敦化 133700; 4. 吉林工商学院 粮食学院, 长春 130102)

摘要: 为开发一种新型有机补锌剂, 将药食同源植物黄精(*Polygonatum rhizoma*)中的黄精多糖与硫酸锌进行螯合制备黄精多糖螯合锌, 优化螯合工艺, 并通过紫外-可见光谱、Fourier变换红外光谱、扫描电镜及体外 Caco-2 细胞吸收模型实验对螯合物进行表征和评估. 实验结果表明: 最优螯合工艺为温度 60 °C、pH=7、时间 60 min、多糖锌比 8:1, 该条件下螯合率可达 58.7%; Zn²⁺ 与黄精多糖发生吸附作用并形成螯合物, 螯合位点为羧基、羟基和羰基; Caco-2 细胞中锌相关转运蛋白 ZnT-4, ZnT-6 和 ZnT-8 表达量升高. 因此制备的黄精多糖螯合锌具有良好的螯合特性及促进锌吸收的潜力.

关键词: 黄精多糖锌螯合物; 体外 Caco-2 细胞吸收模型; 转运蛋白

中图分类号: Q71 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-5489(2025)05-1523-09

Optimization of Preparation Process of *Polygonatum rhizoma* Polysaccharide Chelated with Zinc and Its Effect on Expression of Zinc Transport Proteins in Caco-2 Cells

XU Ping¹, LI Qian², WANG Junshu³, JU Fengxia⁴, MA Rui¹, ZHANG Fengqing¹

(1. College of Chemistry and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China;

2. Beijing Institute for Drug Control (Beijing Center for Vaccine Control), Beijing 102200, China;

3. Dunhua Market Supervision and Administration Bureau, Dunhua 133700, Jilin Province, China;

4. School of Grain Science and Technology, Jilin University of Commerce and Industry, Changchun 130102, China)

Abstract: In order to develop a novel organic zinc supplement, *Polygonatum rhizoma* polysaccharide from the medicinal and edible herb *Polygonatum rhizoma* was chelated with zinc sulfate to prepare *Polygonatum rhizoma* polysaccharide chelate zinc. We optimized the chelation process, characterized and evaluated the chelated compound by using UV-Visible spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM), and an *in vitro* Caco-2 cell absorption model experiments. The experimental results show that the optimal chelation process is at a

收稿日期: 2024-05-21. 网络首发日期: 2025-07-22.

第一作者简介: 徐萍(1985—), 女, 汉族, 硕士研究生, 从事功能食品开发的研究, E-mail: ppaa1016@163.com. **通信作者简介:** 李倩(1985—), 女, 汉族, 博士, 主管药师, 从事药理学的研究, E-mail: liqianld@126.com; 张凤清(1967—), 女, 汉族, 硕士, 教授, 从事吉林省特色资源加工与利用的研究, E-mail: 16643690575@163.com.

基金项目: 吉林省科技厅技术创新引导项目(批准号: 20240401058YY).

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/22.1340.o.20250722.1548.002>.

temperature of 60 °C, pH=7, $t=60$ min and a polysaccharide-to-zinc ratio of 8 : 1, the chelation rate can reach 58.7% under the conditions. Zn^{2+} adsorbs onto *Polygonatum rhizoma* polysaccharide and forms chelates with carboxyl, hydroxyl, and carbonyl groups as chelating sites. The expression levels of zinc transport proteins ZnT-4, ZnT-6 and ZnT-8 are increased in Caco-2 cells. Therefore, the prepared *Polygonatum rhizoma* polysaccharide chelate zinc has good chelating properties and potential to promote zinc absorption.

Keywords: *Polygonatum rhizoma* polysaccharide chelate zinc; *in vitro* Caco-2 cell absorption model; transport protein

锌元素可促进细胞成熟、保持免疫系统正常运转以及促进机体正常发育^[1-4], 是人的重要营养元素之一. 由于许多地区的人群对锌摄入量不足, 因此需要补锌^[5]. 我国目前市售补锌剂大多数属于无机锌, 葡萄糖酸锌等会刺激胃肠道且难以被持续摄入. 植物多糖与金属元素的螯合物为新型营养强化剂, 溶解度较高, 又易被小肠细胞吸收. 在金属离子被吸收后, 多糖可继续在体内表达其活性^[6-10].

黄精(*Polygonatum rhizoma*)为百合科植物滇黄精、黄精或多花黄精的干燥根茎, 主要产自黑龙江、吉林、辽宁和内蒙古等地^[11-13]. 黄精的主要功能性成分为多糖、三萜皂苷及黄酮等化合物. 黄精多糖具有抗炎、抗疲劳和调节机体免疫力等药理作用^[14-15], 是多羟基化合物, 具有表面配合能力, 可与锌离子(Zn^{2+})形成具生物活性的螯合物. 目前关于黄精多糖螯合锌制品的研究成果尚未见文献报道^[16-17].

由于多糖锌螯合物可通过肠道多糖吸收途径被吸收, 因此多糖螯合锌作为有机锌可提升机体对锌元素的生物利用率^[18-20]. 本文以黄精多糖为原料, 通过单因素和响应面实验确定黄精多糖螯合锌最佳制备工艺. 采用紫外-可见(UV-Vis)分光光度法、Fourier 变换红外光谱(FT-IR)法、扫描电子显微镜(SEM)和粒径检测对黄精多糖螯合锌进行表征分析. 通过构建 Caco-2 细胞吸收模型测定黄精多糖螯合锌细胞吸收率, 用酶联免疫吸附测定(ELISA)法确定细胞中锌相关转运蛋白 ZnT-4, ZnT-6 和 ZnT-8 的表达含量变化. 本文为黄精深加工和补锌剂开发提供了一种新的思路和方法.

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

黄精(白山市人参特产研究院); 鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸和甘露糖醛酸(扬州博睿糖生物技术有限公司); DMEM 培养基和 ELISA 试剂盒(美国赛默飞公司); 胎牛血清(江苏科晶生物科技有限公司); 硫酸锌、抗坏血酸、甲醛和酚酞指示剂(北京化工厂责任有限公司).

1.2 仪器与设备

高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司); 紫外可见分光光度计(杭州俊升科学器材有限公司); 氨基酸自动分析仪(武汉默沙克生物科技有限公司); Fourier 变换红外光谱仪(德国 Bruker 公司); 扫描电子显微镜(美国 FEI 公司); CO_2 培养箱(德国 Binder 公司); 酶标分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司).

1.3 方 法

1.3.1 黄精多糖的制备

将黄精通过粉碎机粉碎, 称取 50 g 的黄精粉末, 加入 5 倍体积石油醚, 50 °C 回流 2 h, 过滤后, 加入 1 L 乙醇($\varphi=75\%$)超声提取 8 h. 4 000 r/min 离心后, 合并沉淀物, 烘干箱内烘干乙醇, 得到样品粉末. 称取 10 g 样品粉末, 加入 400 mL 蒸馏水于 80 °C 超声水提取 3 h, 5 000 r/min 离心收集上清液, 并合并上清液, 加入 $\varphi=80\%$ 的乙醇进行醇沉 12 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 加水复溶后于 70 °C 旋转蒸发除去乙醇. 先调节浓缩液 pH=6.5, 再加入质量分数为 2% 的木瓜蛋白酶于 55 °C 酶解 1 h. 用 1/5 体积的 Sevage 试剂(V (三氯甲烷): V (正丁醇)=4:1)振荡除去蛋白质, 上清液冷冻干燥, 即得到黄精多糖^[21].

1.3.2 黄精多糖螯合锌单因素制备实验

1) pH 值对螯合率的影响. 将黄精多糖与硫酸锌溶液按质量和体积比(多糖锌比)为 8 : 1 (g/mL)混合均匀,调节螯合 pH 值分别为 5,5.5,6,6.5,7,螯合温度 60 °C,螯合反应 60 min,考察 pH 值对螯合率的影响.

2) 螯合时间对螯合率的影响. 在 pH=6、60 °C、多糖锌比为 8 : 1 的条件下,考察螯合时间分别为 45,50,55,60,65 min 螯合率的变化.

3) 多糖锌比对螯合率的影响. 在 pH=6、60 °C、60 min 的条件下,分别以多糖锌比为 5 : 1,6 : 1,7 : 1,8 : 1 和 9 : 1 进行实验,考察多糖锌比对螯合率的影响.

4) 螯合温度对螯合率的影响. 在 pH=6、60 min、多糖锌比为 8 : 1 条件下,分别在 45,55,60,65,70 °C 的温度下进行螯合反应,考察不同温度对螯合率影响.

1.3.3 响应面法优化实验

选择时间、温度、多糖锌比和 pH 值 4 个因素,用 Box-Behnken 方法评估螯合率.

1.3.4 黄精多糖螯合锌的结构表征

采用乙二胺四乙酸(EDTA)配合滴定法^[22]测定黄精多糖锌的螯合率.

1) UV-Vis 全波长扫描. 分别对黄精多糖和黄精多糖螯合锌溶液用 UV-Vis 分光光度计进行波长为 200~400 nm 的全波长扫描.

2) FT-IR 扫描. 将黄精多糖或黄精多糖螯合锌粉末与 KBr 混合、研磨、压片,并利用 FT-IR 光谱仪在 4 000~400 cm⁻¹的波段内进行扫描,以确定样品的组成成分.

3) SEM 扫描. 先将黄精多糖或黄精多糖螯合锌冻干粉的样本均匀涂抹到样盘两侧,再用高能液体喷涂,利用扫描电镜进行真空检测,并以 3 000 倍的光谱进行拍摄,得到样品的 SEM 照片.

1.3.5 黄精多糖螯合锌的 Caco-2 细胞模型细胞吸收率测定

将 Caco-2 细胞移植到 25 cm² 的透光培养皿内,添加体积分数为 10% 的胎牛血清作为培养基,置于 37 °C 培养室内培养 24 h,直到细胞完全贴合培养皿的表面为止. 将 Caco-2 细胞接种到 Transwell 渗透膜上. 上室添加 0.5 mL 细胞培养基,下室加入 1.5 mL 培养液. 设置空白组为基础培养液. 细胞+不同质量浓度(1.25,2.5,5,10,15,20,25,30 g/mL)黄精多糖螯合锌溶液,每组设 6 复孔,在对照组和实验组的每个培养孔中分别接种 100 mL 细胞悬液. 将体积分数为 10% 的 CCK8 基础培养液分别添加到每个试样孔中,并将其置于 37 °C 环境中,经 2 h 孵化,在 460 nm 波长下对其进行吸光度检测. 用

$$\text{细胞存活率} = \frac{\text{OD}_{\text{给药组}}}{\text{OD}_{\text{正常组}}} \times 100\%$$

计算细胞存活率,筛选无毒性的黄精多糖螯合锌,每组实验重复 3 次.

称取不同质量的硫酸锌、氧化锌(将氧化锌溶于稀盐酸后,缓慢加入 Hank's 平衡盐溶液(HBSS)中,再用氢氧化钠中和,保持溶液 pH=7.2~7.4)和黄精多糖螯合锌,将其溶解于 HBSS 缓冲溶液中后,置于 37 °C 水浴中. 在建立 21 d 的 Caco-2 单层模型后,清洗 12 孔 TransWellTM 板的上下室各 3 次,先向下室中加入 1.5 mL 预热的 HBSS 缓冲溶液,再向上室中注入 0.5 mL 硫酸锌溶液,3 h 后取下室溶液,用原子吸收光谱法测定其锌含量.

黄精多糖螯合锌的转运实验. 先向下室加入 1.5 mL 预热的 HBSS 缓冲溶液,再向上室加入 0.5 mL 黄精多糖螯合锌,3 h 后取下室溶液,用原子吸收光谱法测定其锌含量^[23]. 用

$$\text{锌生物利用率} = \frac{A+B}{C} \times 100\%$$

计算锌生物利用率,其中 A 为转运锌含量(μg/孔),B 为细胞锌含量(μg/孔),C 为总锌含量(μg/孔).

1.3.6 不同锌源对 Caco-2 细胞锌转运蛋白表达的影响

选取硫酸锌、氧化锌和黄精多糖螯合锌 3 种不同锌源,用 3 种不同的锌转运蛋白试剂盒(ZnT-4,ZnT-6,ZnT-8)进行实验,考察 3 种锌源与 Caco-2 细胞中锌转运蛋白表达量的关系^[24].

2 结果与讨论

2.1 黄精多糖整合锌制备的单因素实验结果

pH 值、反应时间、多糖锌比和整合温度对黄精多糖整合锌整合率的影响如图 1 所示. 由图 1(A) 可见, 当 pH 值从 5 增加到 7 时, 整合率增加到最大, 可能是因为 Zn^{2+} 与多糖中羟基和羧基的配位增强, 使整合率增大所致. 但当 pH 值继续增加时, Zn^{2+} 的结合随 pH 增加使多糖和锌产生解离, 从而影响整合率, 导致整合率下降^[25]. 由图 1(B) 可见, 当整合时间从 40 min 增加到 60 min 时, 整合率从 43.2% 提高到 58.2%, 但整合时间过长容易形成 $Zn(OH)_2$ 沉淀, 导致整合率降低. 由图 1(C) 可见: 当多糖锌比从 5 : 1 提高到 8 : 1 时, 整合率从 42.7% 提高到 57.9%; 当多糖锌比大于 8 : 1 时, 整合率降低. 可见由于多糖锌比过小, 整合反应不完全, 因此整合率较低, 但多糖比过高, 会导致多糖的利用率下降, 浪费原材料^[26]. 由图 1(D) 可见, 随着温度增加, 整合率呈明显上升趋势, 当反应温度为 60 °C 时整合率最大. 因此, 本文选择 pH=7、整合时间 60 min、多糖锌比 8 : 1、整合温度 60 °C 为最佳反应条件.

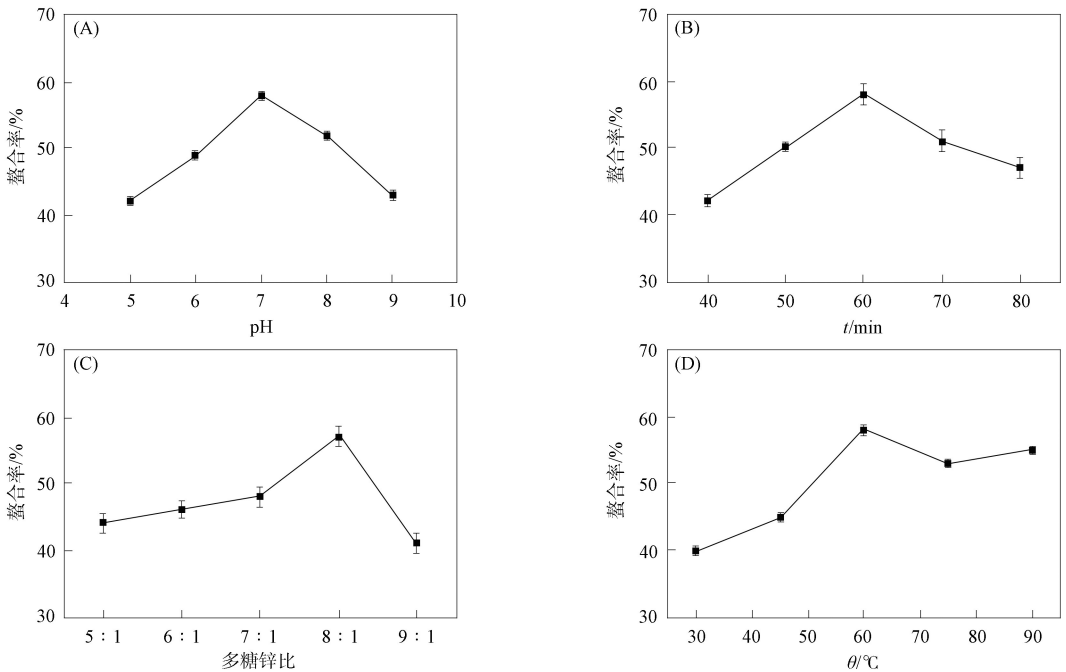


图 1 黄精多糖整合锌制备的单因素实验结果

Fig. 1 Single factor experimental results for preparation of *Polygonatum rhizoma* polysaccharide chelated with zinc

2.2 响应面优化分析

响应面因素交互对多糖整合率的影响如图 2 所示, 其二次回归方程为

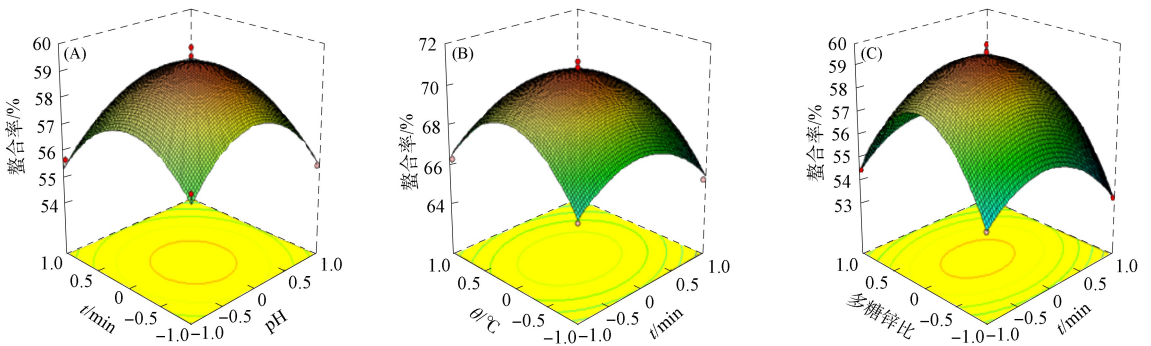


图 2 响应面因素交互对多糖整合率的影响

Fig. 2 Interactive effect of response surface factors on polysaccharide chelation rate

$$Y = 59.41 - 0.45A - 1.51B + 0.027C + 0.052D - 0.093AB - 0.38AC + 0.27AD - 0.06BC + 0.15BD - 0.072CD - 2.13A^2 - 1.94B^2 - 2.88C^2 - 3.56D^2,$$

其中 A, B, C, D 分别为 pH 值、多糖锌比、螯合时间和温度 4 个参数。

拟合因素和响应值间的函数关系列于表 1。由表 1 可见, $R^2 = 0.9802$, $R^2_{Adj} = 0.9603$, 表明实验数据与回归方程关系良好。

表 1 回归模型方差分析

Table 1 Analysis of variance of regression models

差异来源	平方和	df	均方	F	P	显著性
模型	134.07	14	9.58	49.4	< 0.000 1	明显
A	2.39	1	2.39	12.3	0.003 5	
B	3.15	1	3.15	16.26	0.001 2	
C	0.009 08	1	0.009 08	0.047	0.831 8	
D	0.033	1	0.033	0.17	0.685 8	
AB	0.034	1	0.034	0.18	0.680 7	
AC	0.56	1	0.56	2.9	0.110 6	
AD	0.28	1	0.28	1.45	0.248 7	
BC	0.014	1	0.014	0.074	0.789 2	
BD	0.09	1	0.09	0.46	0.506 8	
CD	0.021	1	0.021	0.11	0.746 8	
A ²	29.39	1	29.39	151.62	< 0.000 1	
B ²	24.26	1	24.26	125.12	< 0.000 1	
C ²	53.85	1	53.85	277.77	< 0.000 1	
D ²	82.26	1	82.26	424.35	< 0.000 1	
残差	2.71	14	0.19			
失拟项	2.26	10	0.23	2	0.262 9	不明显
纯误差	0.45	4	0.11			
总和	136.79	28				
R ²	0.980 2					
R ² _{Adj}	0.960 3					

综上所述, 当温度为 60 °C, pH=6.9, 时间为 59.87min, 多糖锌比为 8 : 1 时, 反应的螯合率最高, 为 59.87%。考虑实际实验条件, 确定最优螯合工艺为温度 60 °C, pH=7, 时间为 60 min, 多糖锌比 8 : 1, 该条件下获得的螯合率为 58.7%。可见响应面优化黄精多糖螯合锌的制备工艺可行。

2.3 黄精多糖螯合锌表征分析

2.3.1 UV-Vis 结果

黄精多糖和黄精多糖螯合锌 UV-Vis 谱如图 3 所示。由图 3 可见, 当黄精多糖和锌结合时, 吸收峰的强度和波长均会改变。黄精多糖在 200~300 nm 处无明显可见峰, 即没有蛋白质和核酸的吸收峰, 表明多糖脱蛋白成功。黄精多糖与硫酸锌发生螯合反应后, 黄精多糖螯合锌的最高吸收峰出现在 246 nm 处, 这可能是因为 Zn²⁺ 和多糖上的羰基结合, 导致 C=O 发生 n→δ* 的电子跃迁所致, 研究表明, 硫酸锌的紫外吸收峰值通常在 200~350 nm 内^[27]。可见 Zn²⁺ 与黄精多糖作用, 发生了螯合反应^[28]。

2.3.2 FT-IR 结果

黄精多糖和黄精多糖螯合锌的 FT-IR 谱如图 4 所示。由图 4 可见, 螯合反应可导致氨基酸的振荡频率发生明显变化, 黄精多糖中 O—H 的波数 σ=3 424.2 cm⁻¹, 黄精多糖螯合锌中 O—H 的 σ 增加至 3 442.6 cm⁻¹, 这主要归因于 O—H 的拉伸和拉长。C=O 的 σ 由 1 608.4 cm⁻¹ 上升至 1 618.2 cm⁻¹, 这是由于黄精多糖的羧基与 Zn²⁺ 产生了相互作用所致。—COO—的 σ 由 1 462.0 cm⁻¹ 上升至 1 484.4 cm⁻¹, 使其稳定性增加。对比黄精多糖和黄精多糖螯合锌的红外光谱可见, 多糖中羧基、羟基和羰基均参与了螯合反应, 与文献^[29]的研究结果类似。

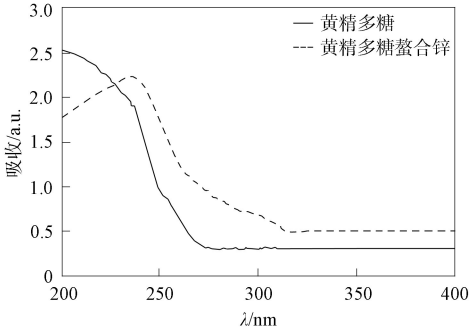


图 3 黄精多糖和黄精多糖整合锌的 UV-Vis 谱

Fig. 3 UV-Vis spectroscopy of *Polygonatum rhizoma* polysaccharides and *Polygonatum rhizoma* polysaccharides chelated with zinc

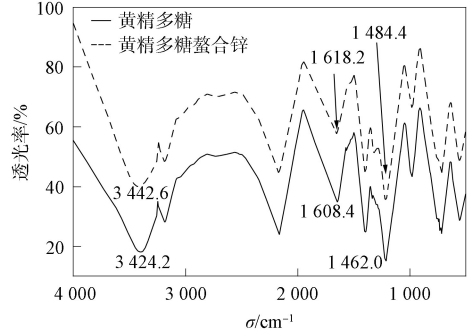


图 4 黄精多糖和黄精多糖整合锌的 FT-IR 谱

Fig. 4 FT-IR spectroscopy of *Polygonatum rhizoma* polysaccharides and *Polygonatum rhizoma* polysaccharides chelated with zinc

2.3.3 SEM 结果

黄精多糖和黄精多糖整合锌的 SEM 照片如图 5 所示. 由图 5(A)可见, 黄精多糖的表层呈颗粒状, 内部结构紧凑, 形成板状或块状. 由图 5(B)可见, 黄精多糖整合锌的表层具有片状特征, 大部分处于平滑的聚合状, 没有裂缝, 表明黄精多糖和锌之间存在螯合作用, 并在一定程度上吸收了整合锌晶体, 与文献[30]的研究结果类似.

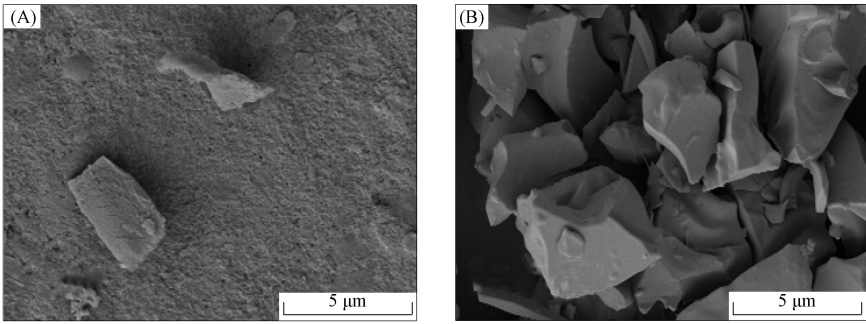


图 5 黄精多糖(A)和黄精多糖整合锌(B)的 SEM 照片

Fig. 5 SEM images of *Polygonatum rhizoma* polysaccharides (A) and *Polygonatum rhizoma* polysaccharides chelated with zinc (B)

2.4 黄精多糖整合锌细胞吸收率结果

考察不同质量浓度黄精多糖整合锌对 Caco-2 细胞增殖的影响, 筛选安全给药质量浓度范围, 结果如图 6 所示. 由图 6 可见, 当黄精多糖整合锌的质量浓度 ≥ 5.00 mg/mL 时, 它对细胞的增殖有明显抑制效果, 可对细胞造成严重的毒性影响.

建模 21 d 后, 将 0.5 mL 硫酸锌添加到细胞上室, 3 h 后检查细胞下室中 Zn^{2+} 的质量浓度, 结果如图 7 所示. 由图 7(A)可见, 当 $\rho(Zn^{2+})$ 增加时, 下室 Zn^{2+} 的转运量增加, 且存在一定的剂量依赖关系^[31]. 因此可知 Caco-2 单层细胞吸收模型建立成功. 由图 7(B)可见, 将 100 μg 的硫酸锌、氧化锌以及黄精多糖整合锌添加到上室, 经 3 h 实验, 可得下室 Zn^{2+} 的转运量分别为 3.86, 3.12, 4.56 μg .

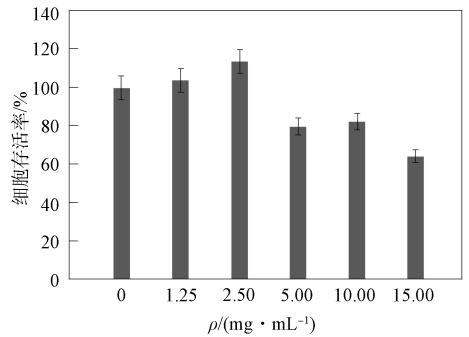


图 6 不同质量浓度黄精多糖整合锌对细胞存活率的影响

Fig. 6 Effect of different mass concentrations of *Polygonatum rhizoma* polysaccharides chelated with zinc on cell survival rate

可见, 黄精多糖螯合锌可明显提高 Zn^{2+} 的转运量.

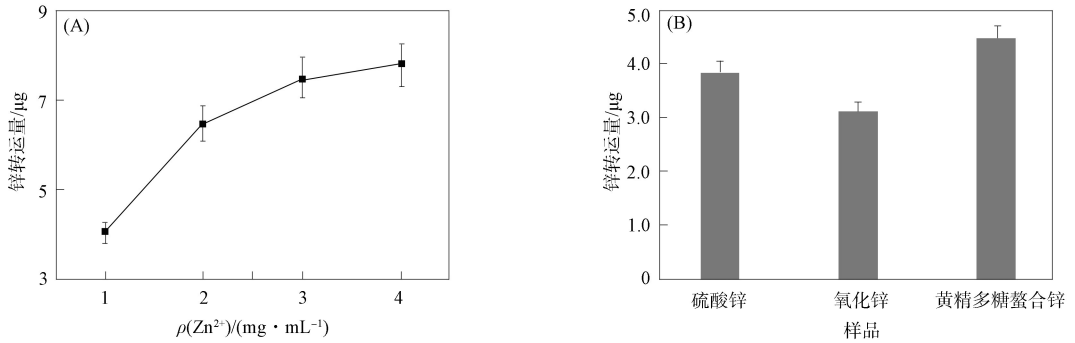


图 7 黄精多糖螯合锌的转运实验结果

Fig. 7 Transport experiment results of *Polygonatum rhizoma* polysaccharides chelated with zinc

2.5 黄精多肽螯合锌对 Caco-2 细胞锌转运蛋白的影响

选取硫酸锌、氧化锌和黄精多糖螯合锌 3 种不同种类及不同浓度(0, 25, 50, 100 $\mu mol/L$)的锌源, 观察其对 Caco-2 细胞中与锌相关细胞表达量的变化, 分别用 3 种不同蛋白检测试剂盒(ZnT-4, ZnT-6, ZnT-8)进行检测, 结果如图 8 所示. 由图 8 可见, 添加不同浓度和不同种类的锌源对 Caco-2 细胞锌转运蛋白表达均有一定影响. 随着 Zn^{2+} 浓度的增加, 蛋白表达量增加, 其中黄精多糖螯合锌的表达量最好, 表明黄精多糖螯合锌中的 Zn^{2+} 可进入细胞, 导致锌转运蛋白表达量升高, 更利于人体吸收. 当 $c(Zn^{2+})=25 \mu mol/L$ 时, ZnT-4 和 ZnT-6 表达量增加明显; ZnT-8 在 $c(Zn^{2+})=50 \mu mol/L$ 时的表达量达到最高; 但 $c(Zn^{2+})$ 过高时相对表达量略降低. 表明人体对 Zn^{2+} 的吸收转运有一定限度, 由于 Zn^{2+} 含量过高时, 人体不能将其全部吸收利用, 因此补充锌时应适量, 避免浪费.

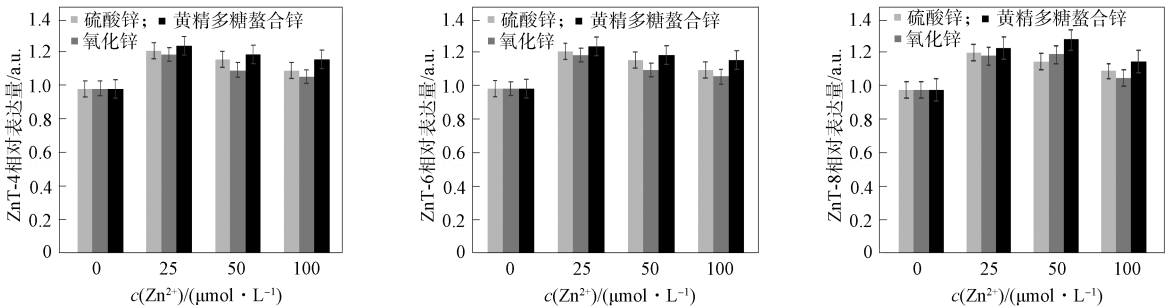


图 8 不同锌源对 Caco-2 细胞锌转运蛋白表达的影响

Fig. 8 Effect of different zinc sources on expression of zinc transport proteins in Caco-2 cells

综上所述, 本文利用黄精多糖和硫酸锌制备了一种新的锌营养强化剂. 螯合工艺优化结果为: 温度 $60 \text{ }^\circ\text{C}$, $pH=7$, 时间 60 min, 多糖锌比 8 : 1, 在该条件下螯合率达 58.7%. 表征实验结果表明已成功制备了黄精多糖螯合锌; 体外细胞吸收模型表明, 黄精多糖螯合锌优于无机补锌剂的细胞吸收率, 锌转运实验中锌转运蛋白 ZnT-4, ZnT-6, ZnT-8 的锌相关蛋白表达量均上调, 进一步说明增加了锌的生物利用度.

参 考 文 献

[1] 王国栋, 赵海燕. 甘氨酸螯合锌实验研究 [J]. 云南化工, 2019, 46(12): 27-30. (WANG G D, ZHAO H Y. Experimental Study on Glycine Chelate Zinc [J]. Yunnan Chemical Technology, 2019, 46(12): 27-30.)

[2] LIAO W, XIANG H, LI Y C, et al. Comparison of Characteristics and Fibril-Forming Ability of Skin Collagen from Barramundi (*Lates calcarifer*) and Tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107: 549-559.

[3] MA X M, LIU C Y, WANG C W, et al. Effects of Three Products from Antarctic Krill on the Nitrogen Balance, Growth and Antioxidation Status of Rats [J]. Food Science and Nutrition, 2019, 7(8): 2760-2768.

- [4] QIN X Y, ZHANG J T, LI G M, et al. Structure and Composition of a Potential Antioxidant Obtained from the Chelation of Pea Oligopeptide and Sodium Selenite [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 64: 103619-1-103619-8.
- [5] 高然, 苏贇, 陈俊德, 等. 硫酸软骨素螯合锌的制备、表征及体外生物活性 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(9): 194-202. (GAO R, SU Y, CHEN J D, et al. Preparation, Characterization and *in vitro* Bioactivity of Chondroitin Sulfate Chelated Zinc [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(9): 194-202.)
- [6] 钟润芳, 曹文红, 陈忠琴, 等. 热加工对牡蛎中锌元素存在形态的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(7): 166-172. (ZHONG R F, CAO W H, CHEN Z Q, et al. Effects of Thermal Processing on the Existing Form of Zinc in Oysters [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(7): 166-172.)
- [7] 罗懿洋, 任道远, 陈丽芳, 等. 杏鲍菇多糖的单糖组成分析及其抗氧化活性研究 [J]. *食品工业科技*, 2015, 36(8): 158-161. (LUO Y Y, REN D Y, CHEN L F, et al. Study on Analysis and Antioxidant Activity *in vitro* of the Monosaccharide Composition of *Pleurotus eryngii* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(8): 158-161.)
- [8] BOWERS K, SRAI S K S. The Trafficking of Metal Ion Transporters of the Zrt- and Irt-Like Protein Family [J]. *Traffic*, 2018, 19(11): 813-822.
- [9] 董亚茹, 陈贵堂. 多糖铁复合物研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(8): 2890-2894. (DONG Y R, CHEN G T. Research Progress of Polysaccharide-Iron Compound [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2015, 6(8): 2890-2894.)
- [10] 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.
- [11] 刘晓轩, 张驰, 黄思琪, 等. 黄精多糖类物质研究现状及发展动态的文献计量学分析 [J]. *中草药*, 2023, 54(21): 7130-7141. (LIU X X, ZHANG C, HUANG S Q, et al. Bibliometric Analysis of Current Status and Development Trend of Polysaccharide from *Polygonati Rhizoma* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(21): 7130-7141.)
- [12] 侯婷婷, 耿春叶, 杨迎, 等. 复方黄精口服液的制备工艺研究 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(2): 353-356. (HOU T T, GENG C Y, YANG Y, et al. Preparation of Compound Huangjing Oral Liquid [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2023, 34(2): 353-356.)
- [13] 杨斌旺, 刘平古, 刘龙飞, 等. 药桑叶多糖的脱蛋白工艺与抗氧化活性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(10): 156-160. (YANG B W, LIU P G, LIU L F, et al. Study on Deproteinization Process and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Morus nigra* Leaves [J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(10): 156-160.)
- [14] 冯琳, 孙茹, 赵贵佳, 等. 腐皮镰刀菌对人参根部生理变化的响应机制 [J]. *吉林大学学报(理学版)*, 2022, 60(5): 1209-1216. (FENG L, SUN R, ZHAO G J, et al. Response Mechanism of Physiological Changes in Root of *Panax ginseng* Infected by *Fusarium solani* [J]. *Journal of Jilin University (Science Edition)*, 2022, 60(5): 1209-1216.)
- [15] 陈辉, 冯珊珊, 孙彦君, 等. 3 种药用黄精的化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(15): 2329-2338. (CHEN H, FENG S S, SUN Y J, et al. Advances in Studies on Chemical Constituents of Three Medicinal Plants from *Polygonatum* Mill. and Their Pharmacological Activities [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(15): 2329-2338.)
- [16] WANG L L, WANG L L, SU C Y, et al. Characterization and Digestion Features of a Novel Polysaccharide-Fe(III) Complex as an Iron Supplement [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 249(41): 116812-1-116812-10.
- [17] 刘雨萌, 冷嵩, 萨仁高娃. 复合酶法提取褐藻可溶性膳食纤维的工艺优化及其抗氧化功能测定 [J]. *吉林大学学报(理学版)*, 2022, 60(3): 748-755. (LIU Y M, LENG S, SARENGAOWA. Optimization of Extraction Process of Soluble Dietary Fiber from Brown Algae by Complex Enzyme Method and Determination of Its Antioxidant Function [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2022, 60(3): 748-755.)
- [18] PRASD A S. Discovery of Human Zinc Deficiency: 50 Years Later [J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2012, 26(2): 66-69.
- [19] UDECHUKWU M C, COLLIONS S A, UDENIGWE C C. Prospects of Enhancing Dietary Zinc Bioavailability with Food-Derived Zinc-Chelating Peptides [J]. *Food Function*, 2016, 7(11): 4137-4144.

- [20] 伯继芳,马琦,刘东茹,等. 硫酸化杏鲍菇多糖的理化特性及体外生物活性研究 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(6): 102-109. (BO J F, MA Q, LIU D R, et al. Physicochemical Properties and *in vitro* Bioactivity of Sulfated *Pleurotus eryngii* Polysaccharide [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(6): 102-109.)
- [21] 王雪芹,黄勇,叶方,等. 黄精多糖的含量影响因素及其抗糖尿病作用研究进展 [J]. 中南药学, 2021, 19(8): 1690-1694. (WANG X Q, HUANG Y, YE F, et al. Influence Factors on the Content of Ploygonatum Polysaccharide and Its Anti-diabetes Mechanism [J]. Central South Pharmacy, 2021, 19(8): 1690-1694.)
- [22] 汪婧瑜,张业辉,张友胜,等. 乌鳢短肽螯合铁的制备及其结构特性研究 [J]. 现代食品科技, 2018, 34(1): 188-194. (WANG J Y, ZHANG Y H, ZHANG Y S, et al. Preparation and Structural Characteristics of Short Peptides Chelated Ferrous Ions from *Channa Argus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(1): 188-194.)
- [23] 苏丽,党庆玲,高瑞昌. 4种花色苷在Caco-2细胞单层模型的转运吸收规律 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50(13): 171-177. (SU L, DANG Q L, GAO R C. Transport and Absorption Patterns of 4 Anthocyanins in Caco-2 Cell Monolayer Model [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(13): 171-177.)
- [24] TORRES-FUENTES C, ALAIZ M, VIOQUE J. Affinity Purification and Characterisation of Chelating Peptides from Chickpea Protein Hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 485-490.
- [25] SUN R N, LIU X F, 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: 128056-1-128056-7.
- [26] 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: 110133-1-110133-11.
- [27] 李小军,马晓辉,段国建,等. 兰州百合多糖铁(Ⅲ)配合物制备工艺的Box-Behnken响应面法优化及其体外抗氧化活性评价 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(12): 102-108. (LI X J, MA X H, DUAN G J, et al. Optimization of Lanzhou Lily Polysaccharide Fe(Ⅲ) Complex Preparation Using Box-Behnken Design and Evaluation of Its *in vitro* Antioxidant Activity [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 40(12): 102-108.)
- [28] 熊含露,张露,李金林,等. 鲮鱼骨胶原多肽-钙螯合物的制备及结构表征与稳定性研究 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(1): 168-175. (XIONG H L, ZHANG L, LI J L, et al. Preparation, Structural Characterization, and Stability of Catfish Bone Collagen Polypeptide-Calcium Chelate [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(1): 168-175.)
- [29] 马利华,秦卫东,陈学红,等. 金针菇多糖-Fe(Ⅱ)螯合物的制备及抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2010, 31(20): 202-207. (MA L H, QIN W D, CHEN X H, et al. Preparation and Antioxidant Activity Evaluation of *Flammulina velutipes* Polysaccharide/Fe(Ⅱ) Chelate [J]. Food Science, 2010, 31(20): 202-207.)
- [30] 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 Q, 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.)
- [31] ARTURSSON P, KARLSSON J. Correlation between Oral Drug Absorption in Human and Apparent Drug Permeability Coefficients in Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells [J]. Biochemical Biophysical Research Communications, 1991, 175(3): 880-885.

(责任编辑:单凝)