

肽锌络合物促锌吸收机制研究进展

王思怡, 杨晰茗, 王震宇, 杜明*, 程述震*

(大连工业大学 食品学院 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034)

摘要: 锌是人体必需的微量元素, 具有广泛的生理功能, 锌缺乏症及其导致的营养不良是我国目前重要的营养健康问题之一。肽锌络合物作为一种新型高效补锌物质倍受关注, 然而, 其吸收形式和机制尚未被完全阐明, 且与锌具有结合能力的多肽结构特征未被明晰。就肽锌络合物的结构稳定性和吸收特异性两大方面论述其促锌吸收的机理, 同时对影响肽锌络合物结构稳定性的因素进行综述, 阐明与锌具有结合能力的多肽结构特征及对锌离子的保护作用。进一步采用多种吸收模型分析多肽锌络合物在小肠上皮细胞中的吸收与转运机制, 为开发新型高效肽锌络合物型补充剂提供理论基础。

关键词: 锌补充剂; 肽锌络合物; 吸收机制; 多肽转运受体; 锌离子转运受体

Progress in Zinc Absorption Mechanism of Peptide-Zinc Complex

WANG Siyi, YANG Ximing, WANG Zhenyu, DU Ming*, CHENG Shuzhen*

(National Engineering Research Center of Seafood, School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China)

Abstract: Zinc is an essential trace element for the human body and has a wide range of physiological functions. Zinc deficiency and the resulted malnutrition are the major nutritional health problems in China. The peptide-zinc complex as a new effective zinc supplement has attracted much attention. However, its absorption form and mechanism have not been fully clarified, and the structures of the peptides capable of binding to zinc remain to be characterized. The mechanism of zinc absorption was discussed in terms of the structural stability and absorption specificity of peptide-zinc complexes. The factors affecting the structural stability of peptide-zinc complexes were reviewed. The structural characteristics of peptides capable of binding to zinc and the protective effects of the peptides on zinc ions were expounded. Furthermore, multiple absorption models were employed to analyze the absorption and transport mechanisms of peptide-zinc complexes in intestinal epithelial cells, which provided a theoretical basis for the development of novel efficient peptide-zinc complexes as zinc supplements.

Key words: zinc supplement; peptide-zinc complex; absorption mechanism; peptide transporter; zinc transporter

引文格式:

王思怡, 杨晰茗, 王震宇, 等. 肽锌络合物促锌吸收机制研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(19): 172-179.

WANG Siyi, YANG Ximing, WANG Zhenyu, et al. Progress in Zinc Absorption Mechanism of Peptide-Zinc Complex[J]. Food Research and Development, 2023, 44(19): 172-179.

锌(Zn)是人体的必需营养物质之一, 对人类的生
命活动有不可替代的作用, 被称为“生命元素”, 其在体

内位居过渡金属含量排名第二, 仅次于铁^[1]。作为人体
中 300 多种金属酶的辅因子^[2], 锌可以通过调节不同酶

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(32130085); 国家自然科学基金青年基金项目(32202021); 辽宁省教育厅高校基本科研项目(LJKQZ20222379)

作者简介: 王思怡(2000—), 女(满), 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质资源开发与利用。

* 通信作者: 杜明(1977—), 男(汉), 教授, 博士, 研究方向: 蛋白质资源开发与利用; 程述震(1990—), 男(汉), 副教授, 博士, 研究方向: 食源性蛋白构效关系及活性机制。

的活性,控制细胞的信号传导途径。味觉下降食欲减退^[3]、生长发育迟缓和免疫功能受损等^[4]许多不良健康状况均与锌缺乏有关。尽管锌元素的作用越来越被认知和重视,全世界依然约有三分之一人口患有不同程度的缺锌症,特别是发展中国家^[5]。人体缺锌主要有两个原因,一是日常饮食中锌摄入量很难达到锌的推荐膳食供给量(recommended dietary allowance, RDA),而机体又无法合成锌;二是摄入食物或胃肠道中含有高水平的抗营养素,如植酸、草酸等,会与锌形成不溶性络合物,导致锌的吸收利用率低下。特别是处于生理活动相对活跃时期的母婴、儿童及青少年,对于锌的需求量高,更加容易发生缺锌状况^[6]。目前应对锌缺乏的主要策略:调整膳食结构,增加饮食多样性,增加动物内脏、坚果等富含锌的食物的摄入;摄入锌补充剂,如无机锌(硫酸锌)、有机锌(葡萄糖酸锌、柠檬酸锌和氨基酸螯合锌)、生物锌(酵母锌)等;通过在生产中增加食用农作物矿物锌的浓度或生物利用性进行生物强化^[7]。

近年来,各种补锌制剂相继出现。一代氧化锌、氯化锌、硫酸锌等无机锌源补充剂,虽然可以达到补锌的效果,但由于其对胃肠道的刺激性和毒性等原因,已经鲜少作为人体的补锌剂。第二代补锌制剂是简单的有机酸锌,包括葡萄糖酸锌、柠檬酸锌、甘草酸锌和乳酸锌等,第二代补锌制剂同第一代相比,对胃肠道的刺激和副作用明显减少,口服利用率高,但由于有机酸锌属于弱酸弱碱盐,易与体内胃酸发生反应生成一定的有毒物质(氯化锌),因而不宜长期食用。第三代补锌制剂被称为蛋白锌,是以氨基酸和多肽为配体,以锌离子为中心原子,经配位键连接制备的,与无机锌和有机酸锌相比,蛋白锌的稳定性和生物利用度更高^[8],应用潜力巨大。多肽锌络合物的吸收形式和机制的不明晰,限制了高效锌补充剂的开发。本文通过对肽锌络合物的特性、多肽与锌结合能力的影响因素及肽锌络合物的吸收机制等方面的综述介绍该物质的研究进展,为肽锌络合物深度开发利用提供参考。

1 肽锌络合物性质决定其促锌吸收能力

1.1 胃肠稳定性

在结构上,无机盐仅由阴阳离子间的离子键构成,而锌元素与多肽络合形成的特殊结构具有良好的稳定性。锌离子与给电子体的氨基酸形成配位键,同时与其羧基构成离子键进而形成独特的结构,分子内电荷趋于中性,较难解离^[9]。

在生理 pH 值下,锌离子易沉淀,这是导致其生物利用率较低的主要原因。而肽锌络合物具有较好的 pH 值稳定性,不易与其他物质结合形成不溶性化合物,其

结构可以保护微量元素锌免受其他物质和胃肠道中干扰成分的干扰,保护自身理化性质,使锌顺利到达吸收部位^[10]。同时络合物形式可以提高溶解度,为锌离子在小肠中的吸收创造有利的条件^[11]。Tian 等^[12]采用响应面优化制备梅花鹿血多肽与锌络合物,通过体外模拟消化试验发现,与无机锌盐相比,梅花鹿血肽锌络合物在胃肠道环境中更有更好的锌渗透性,同时与多肽络合后可提高肽锌络合物的溶解度,进而提高锌离子利用率。

1.2 减少其他干扰物质的拮抗作用

消化道中影响锌离子稳定存在的因素有磷酸盐、氢氧化物、植酸盐等,这些物质可以与锌形成稳定的络合物阻碍锌的吸收。肽锌络合物以多肽为载体构建了锌吸收的新形式,提高锌的生物利用率。

此外 Zn^{2+} 与 Fe^{2+} 、 Ca^{2+} 等二价金属离子之间可能存在拮抗作用,影响锌离子的吸收。Jayalakshmi 等^[13]研究发现,铁和钙分别对锌的吸收有抑制作用,在缺锌大鼠补锌期间进行铁钙干预,发现同时补充铁钙时,对锌的抑制作用更加显著。而肽锌络合物的生化稳定性对锌离子起保护效果,有效抑制了矿物质元素的相互作用,从而减少了营养物质的损失,增强了其吸收利用度。

1.3 肽锌络合物存在潜在吸收位点

研究表明,经胃消化的膳食中游离型锌离子进入小肠环境后以阳离子形态存在,但其必须与内(外)源性有机体结合,形成具有脂溶性表面的络合物后,才能通过黏膜细胞的类脂质屏障,进而被小肠细胞吸收转运^[14]。在体外,以多肽为载体构建锌吸收的原始形式(脂溶性有机体),具有通过细胞膜上多肽通道吸收的潜质,避免了锌离子游离形态与其他二价金属离子竞争金属转运蛋白,提高锌的生物效价。

2 影响肽锌络合物稳定性的因素

多肽具有较好的锌结合能力,它们与锌形成配位络合物后,以稳定的形式确保锌的运输和吸收。面对复杂的胃肠道环境,了解物质结合机制并强化其结构才能保障肽锌络合物发挥功效。研究发现,氨基酸组成、分子量、电荷等因素与肽锌络合物的稳定性息息相关,这些因素直接影响了多肽的结构性质及其锌结合能力。

2.1 氨基酸组成和序列

肽的氨基酸组成和排列顺序一般是影响肽活性最重要的方面^[15],同时不同氨基酸组成的多肽会有不同的锌离子结合能力。表 1 总结了经鉴定具有矿物锌结合能力的一些食物蛋白衍生肽序列。

由组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、半胱氨酸、丝氨酸等

表 1 锌络合肽的结构特性

Table 1 Structural properties of peptides binding to zinc

蛋白质源	氨基酸序列(N-C 端)	分子量/Da	pH7 时净电荷	锌结合能力/%	参考文献
油菜籽	Ala-Arg(AR)	245.3	1.0	34.7	[16]
	Asn-Ser-Met(NSM)	350.4	-1.0	82.1	
	Gly-Lys-Arg(GKR)	359.4	1.0	54.5	
	Glu-Pro-Ser-His(EP SH)	468.5	0.9	56.1	
小麦胚芽	Asn-Ala-Pro-Leu-Pro-Pro-Pro-Leu-Lys-His(NAPLPPPLKH)	1 083.3	1.1	15.2	[17]
	His-Asn-Ala-Pro-Asn-Pro-Gly-Leu-Pro-Tyr-Ala-Ala(HNAPNPGLPYAA)	1 221.3	0.1	91.7	
芝麻	Ser-Met(SM)	236.3	0.0	56.1	[18]
	Asn-Cys-Ser(NCS)	322.3	0.0	73.7	
	Leu-Ala-Asn(LAN)	316.4	0.0	49.0	
海参(刺参)	Trp-Leu-Thr-Pro-Thr-Tyr-Pro-Glu(WLTPTYPE)	1 106.1	-1.0	56.9	[19]
	Ala-Ala-Thr-Gly-Val-Met-Pro-Leu-Asp-Met(AATGV MPLDM)	1 105.2	-1.0	56.8	
	Ala-Ala-Tyr-Cys-Ala-Thr-Lys-Phe-Ala(AAYCATKFA)	945.1	1.0	53.5	
黑麦糖浆	Cys-Gln-Val(CQV)	348.4	0.0	35.0	[20]
	Gln-Cys-Ala(QCA)	320.4	0.0	35.0	

氨基酸残基组成的多肽,其侧链可作为结合过渡金属的配体,目前已经证实半胱氨酸和组氨酸残基是锌离子的结合配体^[21]。如表 1 所示,有些多肽的锌离子结合能力具有明显优势,其原因是具有较多的锌离子结合位点和较高的结合强度。例如,芝麻蛋白肽 Asn-Cys-Ser 锌离子结合能力(73.7%)优于 Ser-Met(56.1%)和 Leu-Ala-Asn(49.0%),可能是由于其自身含有的能够与锌离子结合的氨基酸残基更丰富,半胱氨酸和丝氨酸比亮氨酸和丙氨酸能更好地与金属离子结合。Asn-Ser-Met 与 Ser-Met 有类似的组成,却表现出不同的锌离子集合能力,推测是 Asn 提供了额外的结合位点,引起更多锌离子配位。

除此之外,某些氨基酸残基位于-N 端或-C 端的位置,也会影响多肽的金属结合活性^[22]。芝麻蛋白肽的研究显示 Asn-Cys-Ser 表现出明显高于 Leu-Ala-Asn 的锌结合能力^[18],这说明-N 端的氨基酸残基可能比-C 端的氨基酸残基更影响其自身金属络合,这一结果或许也解释了小麦胚芽肽 HNAPNPGLPYAA 比 NAPLPPPLKH 锌结合能力强的原因。

2.2 分子量

不同分子量的水解物组分具有不同的理化性质和功能性质^[23],但研究表明,不论低分子量还是高分子量的肽,均表现出金属结合能力^[24],分子量过大或过小都在锌结合能力方面没有明显优势。如表 1 所示,多肽的锌结合能力并不会因为分子量的降低而升高,反之亦是如此。从油菜籽肽中,我们可以发现最低分子量的肽 Ala-Arg(245.3 Da)和最高分子量的肽 Glu-Pro-Ser-His(468.5 Da)均没有表现出最高的锌离子结

合能力(分别为 34.7%、56.1%),而是 Asn-Ser-Met(350.4 Da)的锌离子结合能力(82.1%)最好。而小麦胚芽肽中较高分子量的多肽 His-Asn-Ala-Pro-Asn-Pro-Gly-Leu-Pro-Tyr-Ala-Ala(1 221.3 Da)表现出异常好的锌离子结合能力(91.7%),这表明分子量并不是影响锌离子结合能力的主要因素。

2.3 电荷

由于锌离子带有正电荷,肽的结构性质尤其是电荷性质,对其结合锌离子的能力及络合物在胃肠道中的稳定性影响较大。王波等^[25]以酪蛋白为原料制备多肽,研究电荷性质对肽锌络合物的影响,研究表明酪蛋白肽表面静电荷越多,对锌离子结合能力越强。如表 1 所示菜籽油多肽中的 NSM 片段呈电负性(-1.0)并且具有较好的锌结合能力(82.1%),可能是由于负电荷为锌离子提供了更多的结合位点。Sun 等^[26]在将南极磷虾肽与锌络合之后发现 Zeta 电位从(-29.20±0.66) mV 增加到(-10.20±0.27) mV,锌离子中和多肽的负电荷,形态更加稳固。但更多的负电荷并不意味着更高的锌结合能力,例如 NSM 比 HNAPNPGLPYAA(电荷 0.1,分子量 1 221.3 Da)有更低的表面负电荷和更低的分子量,但锌结合能力却比 HNAPNPGLPYAA 低了 9.6%。此外,一些肽具有相同的净电荷,但锌结合能力不同。例如,WLTPTYPE 和 NSM 的净电荷均为-1.0,但它们的锌结合能力明显不同,分别为 56.9%和 82.1%;类似的,GKR 和 AR 的净电荷为 1.0,但它们的锌结合能力分别为 54.5%和 34.7%,这表明锌结合能力并不完全取决于净表面电荷,也许氨基酸组成或分子量大小等因素起着更强的作用。

综上所述,肽的锌结合能力受氨基酸组成、肽序列、分子量、电荷等多种因素共同影响,无法由一种性质确定。为了获得具有高锌离子结合能力的肽,后续研究可以集中于获取具有特定性质的多肽,并将其进行优化重组。

3 肽锌络合物吸收的研究模型

3.1 体外模型

主要有外翻肠囊、小肠刷状缘膜微粒和细胞培养等。体外试验的优点是可以控制试验条件,干扰因素少,试验周期短且成本低,但是因为没有在自然状态下动物的血液循环和肠道环境的复杂条件,因此研究中可以通过体内体外法相结合的形式进行机理研究。

3.1.1 外翻肠囊法

从活体取出小肠后,将其分割成不同的片段,将各片段外翻做成囊状物,向其中注入不含待测物质的培养液,放入含有待测物质的培养液中培养一段时间,观察肠道黏膜、浆膜及肠囊中被测物的变化进而评定物质的吸收情况^[27]。Sun等^[28]利用外翻大鼠肠囊模型研究了扇贝内收肌水解物-锌络合物对Zn的转运/吸收,通过测定肠囊的浆膜侧锌含量和多肽组成验证络合物的吸收并鉴定出3种具有代表性的肠运输肽约为600 Da,证实多肽具有较高的锌螯合能力。

3.1.2 小肠刷状缘膜微粒

将目标肠段取出,轻轻刮下黏膜后经离心处理获取刷状缘膜微粒,所得刷状缘经培养液培养过滤,通过测定滤纸上的放射性,计量刷状缘对元素摄入情况的影响。Tacnet等^[29]利用该方法研究锌的吸收机制,证明锌络合物可以通过刷状缘膜上锌的特异性途径(饱和载体、中性交换机制)或现有载体(如肽、氨基酸)转运体介导进入刷状边界膜被再吸收。

3.1.3 细胞培养

细胞培养技术是将动物体内细胞取出,模拟体内生理环境,在无菌实验室中进行培养,使细胞生存生长并维持其结构和功能的方法。在细胞培养模型研究微量元素吸收时Caco-2细胞使用的较多。但Caco-2细胞是人的结肠癌细胞,只能代表结肠特征,同时模型中缺少黏液层和高表达载体。Sauer等^[30]利用Caco-2细胞单层模型探究氨基酸锌络合物的摄取机制,以及拮抗剂存在对吸收的影响。Ke等^[31]构建Caco-2细胞单层膜模型,验证罗非鱼胶原蛋白中水解、分离和纯化后的多肽与锌离子络合物通过紧密连接的细胞旁路转运。

3.2 体内模型

体内法主要有原位结扎灌注肠段法、平衡实验法、自然饲喂法和同位素示踪技术。其优点是在保持动物

正常生理状态和肠上皮细胞的代谢活动及功能的情况下,研究营养物质的吸收变化,但是体内动物实验个体条件控制一致相对困难,个体差异大。

3.2.1 原位结扎灌注肠段法

该方法是研究元素吸收的半体外半体内方法,麻醉动物后,取出应用肠段,结扎肠段,注入含待测元素灌注液,在腹腔中培养后测定灌注液中元素的消失率和血液及组织器官中元素的出现率估算其吸收利用和转运情况。该方法保证了肠血管与淋巴系统的完整性,但是解剖环境与正常生理状态下体内环境仍存在一定差异,实验的准确性也会受充血的影响^[32]。Li等^[33]采用此方法研究铁源对肉仔鸡不同肠段铁吸收的影响及铁的吸收动力学机制。Yu等^[34]利用原位结扎环技术评估锌源和植酸盐对不同肠段锌吸收的影响,实验证明回肠是肉仔鸡肠道吸收的主要部位,且锌的吸收受到配体和矿物质络合程度的影响。

3.2.2 平衡实验

平衡实验是通过测定元素的食入量和排出量,得出动物吸收或利用的量的方法,其测定元素吸收的原理简单,但以测定日粮中元素的食入量和排出量代表吸收和存储来计算可能存在误差。Seal等^[35]采用此方法研究化学因素对锌在体内外肠道吸收的影响。

3.2.3 自然饲喂法

为研究动物肠道组织对营养元素的摄入规律,研究者开始采用自然思维的方法,该方法能体现动物完全处于自然条件下的生理状态,所得实验结果更接近真实情况,但是该结果受诸多因素影响,只有严格控制实验条件,结果才具说服力。王再扬等^[36]以缺锌型SD大鼠为试验模型,通过灌胃不同形式锌源研究牡蛎源肽(EVPPEEH)与锌的络合物在体内补锌效果和吸收途径。

3.2.4 同位素示踪技术

同位素示踪又称示踪技术,是利用放射性或稳定性示踪剂标记原子或化合物研究被追踪物质运动和转化规律的方法^[37]。在实际应用中研究人员常使用该技术与其他方法联合使用以便更准确地进行元素吸收利用的研究。孙圣伟^[38]应用大鼠模型结合稳定核素方法探究动物钙代谢吸收规律。Sauer等^[39]使用了一种锌荧光团Zinpyr1,该物质能与络合物中的锌结合,结合Caco-2细胞模型研究体外氨基酸锌中锌的摄取,并表征其摄取途径。

综上所述,研究锌吸收代谢的方法有很多,所需的实验条件也各不相同,每种方法都有其优点和局限性,对比结果见表2。

只有根据自身的研究目的和现有的试验条件选择合适的试验方法,才能得出对锌的真实吸收特点和

表 2 肽锌络合物吸收的研究方法及其优缺点比较

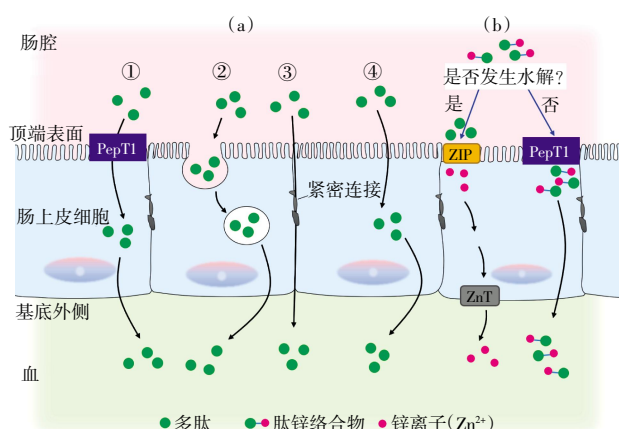
Table 2 Advantages and disadvantages of the methods for studying the absorption of peptide-zinc complexes

研究方法	优点	缺点
体外法		
外翻肠囊	简单快速,能详细观察元素进出肠段的情况	没有肠道蠕动、血液流动等正常生理条件
小肠刷状缘膜微粒	减少肠道因素的干扰,保证能量供应	无法反映元素通过肠道细胞后续吸收和转运
细胞培养(常用 Caco-2 细胞)	细胞均质、类型单一、对外界影响反应一致;可直接观测反应比较不同因素或同一因素,不同剂量对同一种细胞的作用	Caco-2 细胞只能代表结肠特征,模型中缺少黏液层和高表达能力载体
体内法		
原位结扎灌注肠段法	保证了肠血管与淋巴系统的完整性	与正常体内环境有差异,准确性受充血影响
平衡实验法	测定元素吸收的原理简单	根据日粮中元素的食入量和排出量代表吸收和存储来计算有误差
自然饲喂法	体现动物完全处于自然条件下的生理状态,实验结果更接近真实情况	实验结果受诸多因素影响
同位素示踪技术	灵敏度高、操作简单、放射性元素使用量接近于动物正常生理指标等	对环境、实验人员和实验对象造成伤害

机理较为正确的认识。

4 肽锌络合物的吸收转运机制

肽锌络合物的吸收转运机制示意图如图 1 所示。



(a)多肽吸收机制(①PepT1 介导转运途径;②胞吞作用;③细胞旁路途径;④细胞穿透途径);(b)肽锌络合物吸收机制。

图 1 肽锌络合物的吸收转运机制示意图

Fig.1 Absorption mechanism of peptide-zinc complex

4.1 完整吸收假说

该假说认为金属离子与氨基酸以离子键和共价键配位结合后被保护在络合物中,这个金属络合物以完整形式通过氨基酸或小肽途径穿过黏膜细胞和细胞基底进入血液。而肠道内多肽的吸收途径可分为 4 种,1)PepT1 介导转运途径:PepT1 为膜蛋白,是一种氢离子浓度梯度依赖的肽转运载体,它结合的底物包括绝大部分的二肽,少部分的三肽以及肽类似物,但不能转运氨基酸和四肽^[39];2)胞吞作用:胞吞是一种能量依赖的跨膜转运途径,物质直接结合于细胞膜上的接收器后,以囊泡形式内化于细胞,一般来说,细胞胞

吞吸收的多是分子量较大的肽段;3)细胞旁路途径:肽的细胞旁路途径是指一些亲水性小分子肽通过紧密连接处的空隙,穿透小肠上皮细胞层被机体吸收。有实验研究表明,通过干预紧密连接蛋白的表达可以实现对细胞旁路渗透的调控^[40]。4)细胞穿透途径:细胞穿越肽具有跨细胞膜转移能力,可将多肽从细胞外穿过细胞膜转运至细胞内,可转运的分子包括肽、核苷酸、寡核苷酸和蛋白质^[41]。

Ashmead 等^[42]通过灌注实验结合体内同位素研究技术,提出氨基酸络合物以与摄入时相同的分子形式被完整地吸收到血液中的观点。Lowe 等^[43]的小狗动物实验结果支持 Ashmead 等^[42]的锌以氨基酸络合物形式通过肠道肠细胞转运并完整进入血循环的结论。Koike 等^[44]通过乙二胺四乙酸钙钠/锌钠(Zn/Ca-ethylene diamine tetraacetic acid,Zn/Ca-EDTA)络合物在鸡肠道吸收实验,推断 EDTA 与阳离子一同穿过肠黏膜,但是无法判断 EDTA 金属络合物通过黏膜的具体吸收情况。Wapnir 等^[45]通过灌注实验分析大鼠肠腔中锌含量,发现锌-组氨酸络合物的肠道转运机制与组氨酸相同。

4.2 竞争吸收假说

该假说主张络合物进入肠道后,微量元素受到配位体的保护,可以避免不利于金属吸收的物理化学因素的影响,直达小肠刷状缘,并在吸收位点处发生水解,以金属离子形式进入肠上皮细胞,并被吸收入血。目前多数学者认为锌离子是通过跨细胞途径被机体吸收,此过程基本需要 3 个步骤,1)肠腔中的锌穿过小肠黏膜细胞顶膜进入细胞,由于细胞膜表面带有大量负电荷,锌离子难以通过,所以机体胰腺会分泌锌结合蛋白与锌离子形成络合物,进而通过肠道绒毛转运至上皮细胞。锌离子进入细胞的过程由 2 种锌转运蛋

白控制。ZIP4和ZnT5;ZIP4被动转运锌离子至肠细胞刷状缘膜上,而ZnT5可将肠细胞中锌离子排出细胞内,也可外排细胞质锌,以此调节机体和细胞内的锌稳态。2) 锌从小肠黏膜细胞顶膜到基膜的胞内转运:进入肠细胞后的锌主要有细胞质游离锌、金属硫蛋白结合锌和储存囊泡内的锌3种存在形式。3) 锌穿过小肠黏膜细胞基底膜入血转运:锌经基底膜上的锌转运蛋白入血,并与白蛋白结合转运至全身^[46-47]。

刘化伟^[48]将原位结扎技术与同步辐射技术结合、证明铁元素吸收进入肠壁特殊区域后,化学价态和配位结构均与之前相同,说明氨基酸络合微量元素在肠壁中是以离子形式被吸收,符合竞争吸收假说。于昱^[49]采用全体内法-自然饲喂法研究正常生理状态下肉仔鸡小肠中锌的吸收特点及机理,实验结果表明有机锌极有可能解离成离子后,通过无机锌的吸收途径被吸收,同样符合竞争吸收假说。Hempe等^[50]通过结扎大鼠十二指肠环形式,研究EDTA和蛋氨酸锌络合物对大鼠肠道锌吸收的影响,发现蛋氨酸-锌络合物并没有被完全吸收,而是在吸收前发生了解离,支持竞争性吸收假说。

虽然目前已有许多实验研究氨基酸/多肽-锌络合物的吸收转运机制,但目前并没有直接的实验证明哪一种假说更符合肽锌络合物在肠道中的吸收机制。肽锌络合物的成键方式、小肠刷状缘的水解位点等因素会对络合物的吸收形式存在影响,各种实验的方法、原料和操作的差异也会导致得出的结果不同,因此,日后的实验还需要大量深入的专门研究,以寻找更加有力的吸收证明。

5 展望

锌是动物必需的微量元素之一,与机体发育、骨骼生长、免疫机能、蛋白质和核酸代谢等有密切关系。由于机体无法生成锌,在日常生活中除了锌摄入量不足之外,食用含有高水平抗营养物质(如植酸盐)的食物也会使机体对锌的吸收产生负面影响。现阶段,肽锌络合物作为第三代锌补充制剂,因其化学性质稳定、吸收快、适口性好等优势成为研究热点,而开发出具有较好锌结合能力的多肽和较高生物利用度的肽锌络合物具有良好的科学意义和现实意义。

肽锌络合物的结构和功能研究表明,多肽的锌结合能力与其氨基酸组成、肽的净电荷和肽的分子量等因素有密切的关系,其中氨基酸组成和序列占据主导作用。

目前普遍被接受的锌离子肠道吸收途径是跨细胞吸收,多肽的肠道吸收途径有4种:PepT1介导转运途径、胞吞作用、细胞旁路途径和细胞穿透途径,而肽

锌络合物的肠道吸收途径仍没有明确的解释。大量的体内和体外研究表明,肽锌络合物具有增强锌的保留、转运和吸收的能力,是无机锌盐的更好替代品。然而,络合物是通过氨基酸或多肽的途径被完整吸收,亦或是全部或部分解离成离子后通过无机锌离子途径被吸收利用,以往的研究中也没有对此做出清晰的解释。目前大多数研究都集中于分离和鉴定锌络合肽、肽锌络合物的可利用性及其生物利用度等,其真实肠道吸收转运机制仍缺乏证明。

未来的研究应该为肽锌络合物的理化性质提供更多的理论支持,包括在结合位点和主要驱动力等方面,这些研究可以促进肽锌络合物作为矿物锌补充剂的商业化。同时需要探究多肽锌络合物在小肠上皮细胞的跨膜运输动力学机制,进一步探究其胃肠环境稳定性和转运特性,揭示多肽锌络合物的促锌吸收机制。此外,虽然近些年关于多肽金属络合物的相关研究有所增加,但所有多肽的安全性尚未得到科学的证明,从实验室到工业的转化过程中,验证产品能否长期安全使用也至关重要。

参考文献:

- [1] CHASAPIS C T, NTOUPA P A, SPILIOPOULOU C A, et al. Recent aspects of the effects of zinc on human health[J]. Arch Toxicol, 2020, 94(5): 1443-1460.
- [2] MEZZAROLA L, ALFIERI D F, COLADO SIMÃO A N, et al. The role of zinc, copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases[J]. Neurotoxicology, 2019, 74: 230-241.
- [3] KODAMA H, TANAKA M, NAITO Y, et al. Japan's practical guidelines for zinc deficiency with a particular focus on taste disorders, inflammatory bowel disease, and liver cirrhosis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(8): 2941.
- [4] ABDOLLAHI M, AJAMI M, ABDOLLAHI Z, et al. Zinc supplementation is an effective and feasible strategy to prevent growth retardation in 6 to 24 month children: A pragmatic double blind, randomized trial[J]. Heliyon, 2019, 5(11): e02581.
- [5] DAS S, CHAKI A K, HOSSAIN A. Breeding and agronomic approaches for the biofortification of zinc in wheat (*Triticum aestivum* L.) to combat zinc deficiency in millions of a population: A Bangladesh perspective[J]. Acta Agrobotanica, 2019, 72(2): 1-13.
- [6] MARINO L V, VALLA F V, BEATTIE R M, et al. Micronutrient status during paediatric critical illness: A scoping review[J]. Clinical Nutrition, 2020, 39(12): 3571-3593.
- [7] 邹涛. 富锌大豆芽菜的生物强化培育及其锌生物利用性研究[D]. 海口: 海南大学, 2013.
- [8] ZOU Tao. Preparation of zinc-enriched soybean sprouts by biofortification and bioavailability of zinc in the sprouts[D]. Haikou: Hainan University, 2013.
- [9] 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.
- [10] 王丽霞. 氨基酸微量元素螯合物的研究与应用[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(1): 46-50.
- [11] WANG Lixia. Research advance in microelement amino acid chel-

- ates[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2013, 35(1): 46–50.
- [10] ALAGAWANY M, ELNESR S S, FARAG M R, et al. Nutritional significance of amino acids, vitamins and minerals as nutraceuticals in poultry production and health—a comprehensive review[J]. Veterinary Quarterly, 2021, 41(1): 1–29.
- [11] CAETANO-SILVA M E, NETTO F M, BERTOLDO-PACHECO M T, et al. Peptide-metal complexes: Obtention and role in increasing bioavailability and decreasing the pro-oxidant effect of minerals[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(9): 1470–1489.
- [12] TIAN T A, SUN Y, ZHU W X, et al. Preparation and cellular absorption of zinc-chelating peptides derived from sika deer blood[J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2023, 11(1): 84–95.
- [13] JAYALAKSHMI S, PLATEL K. Supplemental levels of iron and calcium interfere with repletion of zinc status in zinc-deficient animals[J]. Food & Function, 2016, 7(5): 2288–2293.
- [14] LOÖNNERDAL B. Dietary factors influencing zinc absorption[J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(5): 1378S–1383S.
- [15] 罗永康. 生物活性肽功能与制备[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2019.
- LUO Yongkang. Bioactive peptides function and preparation [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2019.
- [16] XIE N N, HUANG J J, LI B, et al. Affinity purification and characterisation of zinc chelating peptides from rapeseed protein hydrolysates: Possible contribution of characteristic amino acid residues[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 210–217.
- [17] ZHU K X, WANG X P, GUO X N. Isolation and characterization of zinc-chelating peptides from wheat germ protein hydrolysates[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 23–32.
- [18] WANG C, LI B, AO J. Separation and identification of zinc-chelating peptides from sesame protein hydrolysate using IMAC-Zn²⁺ and LC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 1231–1238.
- [19] LIU X Y, WANG Z X, YIN F W, et al. Zinc-chelating mechanism of sea cucumber (*Stichopus japonicus*)-derived synthetic peptides[J]. Marine Drugs, 2019, 17(8): 438.
- [20] UDECHUKWU M C, TSOPMO A, MAWHINNEY H, et al. Inhibition of ADAM17/TACE activity by zinc-chelating rye secalin-derived tripeptides and analogues[J]. RSC Advances, 2017, 7(42): 26361–26369.
- [21] KATIMBA H A, WANG R C, CHENG C L. Current findings support the potential use of bioactive peptides in enhancing zinc absorption in humans[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(19): 3959–3979.
- [22] LI J, GONG C, WANG Z, et al. Oyster-derived zinc-binding peptide modified by plastein reaction via zinc chelation promotes the intestinal absorption of zinc[J]. Marine Drugs, 2019, 17(6): 341.
- [23] WANG Q, LIU Y, CHEN P. Phenazine-based organic cathode for aqueous zinc secondary batteries[J]. Journal of Power Sources, 2020, 468: 228401.
- [24] CHEN L, SHEN X R, XIA G H. Effect of molecular weight of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin collagen peptide fractions on zinc-chelating capacity and bioaccessibility of the zinc-peptide fractions complexes *in vitro* digestion[J]. Applied Sciences, 2020, 10(6): 2041.
- [25] 王波, 杨继国, 任杰, 等. 酪蛋白肽电荷性质对其肽-锌螯合物的胃肠稳定性及吸收的影响[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(3): 59–66.
- WANG Bo, YANG Jiguo, REN Jie, et al. Effect of charge properties of casein-derived peptides on *in vitro* gastrointestinal stability and absorption of zinc-peptide complexes[J]. China Food Additives, 2019, 30(3): 59–66.
- [26] 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.
- [27] XU Y N, SHRESTHA N, PRÉAT V, et al. An overview of *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* models for studying the transport of drugs across intestinal barriers[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2021, 175: 113795.
- [28] SUN J T, LIU X Y, WANG Z X, et al. Gastrointestinal digestion and absorption characterization *in vitro* of zinc-chelating hydrolysate from scallop adductor (*Patinopecten yessoensis*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102(8): 3277–3286.
- [29] TACNET F, LAUTHIER F, RIPOCHE P. Mechanisms of zinc transport into pig small intestine brush-border membrane vesicles[J]. The Journal of Physiology, 1993, 465(1): 57–72.
- [30] SAUER A K, PFAENDER S, HAGMEYER S, et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery *in vitro* using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC[J]. BioMetals, 2017, 30(5): 643–661.
- [31] KE X, HU X, LI L H, 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): 1–11.
- [32] KONDAIAH P, YADUVANSHI P S, SHARP P A, et al. Iron and zinc homeostasis and interactions: Does enteric zinc excretion cross-talk with intestinal iron absorption? [J]. Nutrients, 2019, 11(8): 1885.
- [33] LI X F, ZHANG L Y, ZHANG L Y, et al. Effect of iron source on iron absorption by *in situ* ligated intestinal loops of broilers[J]. Animal Production Science, 2017, 57(2): 308–314.
- [34] YU Y, LU L, WANG R L, et al. Effects of zinc source and phytate on zinc absorption by *in situ* ligated intestinal loops of broilers[J]. Poultry Science, 2010, 89(10): 2157–2165.
- [35] SEAL C J, HEATON F W. Chemical factors affecting the intestinal absorption of zinc *in vitro* and *in vivo*[J]. British Journal of Nutrition, 1983, 50(2): 317–324.
- [36] 王再扬, 曹玉惠, 赵元晖, 等. 类蛋白反应修饰的牡蛎肽锌结合物的生物利用性[J]. 中国食品学报, 2020, 20(3): 46–51.
- WANG Zaiyang, CAO Yuhui, ZHAO Yuanhui, et al. Bioavailability of oyster-derived zinc binding peptide modified by plastein reaction[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(3): 46–51.
- [37] WANG X, HE Y F, GAO Q, et al. Approaches to evaluate nutrition of minerals in food[J]. Food Science and Human Wellness, 2021, 10(2): 141–148.
- [38] 孙圣伟. 酪蛋白磷酸肽体内外活性对比及其促钙吸收机制研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- SUN Shengwei. Study on activity comparison of casein phosphopeptides *in vitro* and *in vitro* and mechanism of calcium absorption[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018.
- [39] URAL-BLIMKE Y, FLAYHAN A, STRAUSS J, et al. Structure of prototypic peptide transporter DtpA from *E. coli* in complex with valganciclovir provides insights into drug binding of human PepT1[J]. Journal of the American Chemical Society, 2019, 141(6): 2404–2412.
- [40] 丁龙. 蛋清肽结构鉴定与完整吸收的构效关系研究[D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- DING Long. Identification of egg white derived peptides and relationships between structure and transport[D]. Changchun: Jilin Uni-

- versity, 2018.
- [41] 尹乐斌, 刘丹, 廖聪, 等. 大豆多肽生物活性及其酶解与吸收机制研究进展[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(4): 15-17.
YIN Lebin, LIU Dan, LIAO Cong, et al. Research progress of soybean peptide biological activity and its enzymatic hydrolysis and absorption mechanism[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(4): 15-17.
- [42] ASHMEAD H D. Comparative intestinal absorption and subsequent metabolism of metal amino acid chelates and inorganic metal salts[M]// Biological Trace Element Research. Washington DC: American Chemical Society, 1991: 306-319.
- [43] LOWE J A, WISEMAN J, COLE D. Absorption and retention of zinc when administered as an amino-acid chelate in the dog[J]. The Journal of Nutrition, 1994, 124: 2572S-2574S.
- [44] KOIKE T I, KRATZER F H, VOHRA P. Intestinal absorption of zinc or calcium-ethylenediaminetetraacetic acid complexes in chickens[J]. Experimental Biology and Medicine, 1964, 117(2): 483-486.
- [45] WAPNIR R A, STIEL L. Zinc intestinal absorption in rats: Specificity of amino acids as ligands[J]. The Journal of Nutrition, 1986, 116(11): 2171-2179.
- [46] 王海娃, 颜崇淮. 营养性微量金属元素的肠道吸收机制及相互作用研究进展[J]. 中国儿童保健杂志, 2021, 29(10): 1082-1086.
WANG Haiwa, YAN Chonghuai. Research progress on intestinal absorption mechanism and interaction of nutrient trace metal elements[J]. Chinese Journal of Child Health Care, 2021, 29(10): 1082-1086.
- [47] MAARES M, HAASE H. A guide to human zinc absorption: General overview and recent advances of *in vitro* intestinal models[J]. Nutrients, 2020, 12(3): 762.
- [48] 刘化伟. 肉仔鸡对不同锌源与铁源吸收的比较研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
LIU Huawei. Comparative study on absorption of different zinc sources and iron sources by broilers[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014.
- [49] 于昱. 不同形态锌在肉仔鸡小肠中的吸收特点及机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
YU Yu. Study on characteristics and mechanisms of absorptions of zinc from different zinc sources in the small intestine of broilers[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008.
- [50] HEMPE J M, COUSINS R J. Effect of EDTA and zinc-methionine complex on zinc absorption by rat intestine[J]. The Journal of Nutrition, 1989, 119(8): 1179-1187.

加工编辑: 孟琬星

收稿日期: 2023-04-03