

强化钙铁锌硒酒糟的制备及其体外Caco-2细胞转运吸收特性的分析

袁铭¹, 耿任芊¹, 康梦¹, 阚启鑫¹, 何泽琪¹, 阚绪甜², 黄文权¹, 曹庸^{1*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东省功能食品活性物重点实验室, 广东广州 510642)

(2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510665)

摘要: 为了实现生物强化食品有机态矿物质, 该研究对大米发酵酿酒工艺进行了矿物质(钙、铁、锌、硒)强化, 同时采用人结肠腺癌细胞(Caco-2)模型对富矿酒糟中钙、铁、锌、硒的转运效果进行了研究。结果表明, 在大米基料中钙、铁、锌、硒添加量分别为4 000、600、1 000、30 mg/kg时, 获得的富矿酒糟中有机态钙、铁、锌、硒含量分别为169.21、19.28、9.34、11.07 mg/kg; 细胞实验结果表明, 富矿酒糟钙、铁、锌元素的转运率均显著高于无机矿物质对照组($P<0.05$), 钙转运率为50.30%、铁转运率60.89%、锌转运率为35.07%, 硒的转运率为10.30%。分别较空白组提升3.00倍、12.63倍、11.77倍、2.49倍。综上实验结果, 通过大米发酵酿酒生物强化矿物质的酒糟具有更高的钙、铁、锌、硒含量及转运吸收作用, 这为优质矿物质强化食品和保健品的制备提供了新策略和理论基础。

关键词: 酿酒工艺; 生物强化; 矿物质元素; Caco-2细胞; 转运吸收

文章编号: 1673-9078(2025)04-297-304

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.4.0125

Fortified Distillers' Grains with Calcium, Iron, Zinc, and Selenium: Preparation and *in Vitro* Absorption in Caco-2 Cells

YUAN Ming¹, GENG Renqian¹, KANG Meng¹, KAN Qixin¹, HE Zeqi¹,

KAN Xutian², HUANG Wenquan¹, CAO Yong^{1*}

(1.College of Food Science, Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)(2.Infinitus (China) Company Ltd., Guangzhou 510665, China)

Abstract: Mineral fortification with calcium, iron, zinc, and selenium was performed during the rice fermentation brewing process to obtain mineral-rich distillers' grains. Additionally, the transport of these minerals in the mineral-rich lees was studied using the human Caco-2 colon cell line. The mineral-rich distillers' grains obtained after addition of 4 000, 600, 1 000, and 30 mg/kg (mass fraction), respectively, of calcium, iron, zinc, and selenium to the rice base contained 169.21, 19.28, 9.34, and 11.07 mg/kg of the respective mineral. The cell experiment results showed that the transport rates of calcium, iron, and zinc in the mineral-rich distillers' grains were significantly higher than those in the inorganic mineral control

引文格式:

袁铭,耿任芊,康梦,等.强化钙铁锌硒酒糟的制备及其体外Caco-2细胞转运吸收特性的分析[J].现代食品科技,2025,41(4):297-304.

YUAN Ming, GENG Renqian, KANG Meng, et al. Fortified distillers' grains with calcium, iron, zinc, and selenium: preparation and *in vitro* absorption in Caco-2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(4): 297-304.

收稿日期: 2024-10-26

基金项目: 广东省功能食品活性物重点实验室(2018B030322010)

作者简介: 袁铭(1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: 2686131618@qq.com

通讯作者: 曹庸(1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学、天然产物化学, E-mail: caoyong2181@scau.edu.cn

group grains (50.30%, 60.89%, and 35.07%, respectively; $P<0.05$). The transport rates of calcium, iron, zinc, and selenium were significantly higher than the inorganic control group, with an increase of 3.00, 12.63, 11.77, and 2.49 times, respectively. Together, these results indicate that mineral-fortified distillers' grains from rice fermentation possess enhanced transport and absorption properties, offering a promising strategy for developing high-quality mineral-fortified foods and dietary supplements.

Key words: brewing process; biofortification; mineral elements; Caco-2 cells; transport and absorption

矿物质和微量元素在人体新陈代谢中扮演重要角色,是一类人体健康必需的营养物质。然而,微量元素的缺乏是现代人类营养面临的一个重大问题^[1]。通常以无机盐的形式存在的矿物质微量元素具有不易被机体肠道吸收、生物利用率低、破坏肠道菌群并诱导结肠炎等危害^[2]。近年来,利用生物强化矿物质微量元素一直是功能食品研究的热门方向。生物转化有机矿物质是生物在生长过程中通过自主吸收和转化,使矿物质与氨基酸、蛋白质、多糖进行有机结合的过程^[3]。诸多研究报道生物转化的矿物质可被机体更高效、更安全地吸收利用,具有更好的生物活性。Coelho 等^[4]研究生物强化的豇豆具有较高的铁和锌含量,并提高了铁和锌的生物可及性和生物利用度。Amanda 等^[5]研究表明富铁米曲霉中有机铁具有提高铁的生物利用率,血红蛋白浓度以及增加肠道有益菌等优点。

目前,通过食品或微生物转化获得矿物质元素的研究是有机微量元素补充剂研究的前沿领域。以小麦、大米等谷物粮食作为生物转化矿物质元素的载体,通过研发科学的育种和栽培技术,可以生产获得富铁、锌、硒元素的粮食作物^[6-9]。此外,多种微生物包括酵母菌、乳酸菌、曲霉菌等能够通过自身的理化作用,对绝大多数微量元素如钙、铁、锌、硒、铜、铬等具有富集及有机转化作用,也是富集微量元素的良好载体^[10-13]。酿酒工艺通常是指以大米、小麦、玉米等粮食作物为原料,加入由多种微生物组成的酒曲,经发酵、蒸馏、陈酿等获得酒品的过程^[14]。酿酒工艺中富含利于矿物质元素生物转化的原辅料和微生物等多种载体,且微生物发酵具有更强的将无机矿物质转化为有机矿物质的能力^[15]。然而迄今为止,国内外尚未有关于酿酒生物强化矿物质元素的研究报道。

本研究旨在通过大米发酵酿酒工艺强化有机矿物质,获得富集有机矿质钙、铁、锌、硒元素的酒糟,并采用 Caco-2 细胞模型系统地评价生物强化钙、铁、锌、硒元素的转运吸收效果,以期为实现酒糟的高

值化利用和在保健品领域的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂

大米及酒曲,由潮州市韩仙源酒厂提供。硫酸亚铁、硫酸锌、硫酸钙、亚硒酸钠、二甲基亚砷均为分析纯;硝酸、过氧化氢为优级纯;Caco-2 细胞购自中国科学院上海生物科学研究所细胞资源中心;PBS 缓冲液、HBSS 缓冲液、胎牛血清、EMEM 培养基、青霉素、链霉素、0.25% 体积分数胰蛋白酶,均购自 Gibco 公司。

1.2 主要仪器与设备

UltraWAVE 3 微波消解系统,意大利 Milestone 公司;SpectrAA 火焰原子吸收光谱仪,美国 Varian 公司;ICAP™ RQ ICP-MS 电感耦合等离子体质谱仪,美国 Thermo 公司;Esco OptiMair 超净工作台、CCL-170B-8 二氧化碳培养箱,新加坡 Esco 公司;FreeZone 冷冻干燥机,美国 Labconco 公司;MDP 喷雾干燥,无锡市现代喷雾干燥设备有限公司;EnSpire 多功能酶标仪,美国 PerkinElmer 公司;Millicell ERS-2 细胞电阻仪设备,德国 Merck 公司。

1.3 富矿酒糟的制备

将酒曲及氯化钙、硫酸亚铁、硫酸锌、亚硒酸钠与蒸熟的大米和充分混合,控制 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Se^{4+} 的添加量,以蒸熟的大米质量为参照,添加量分别为 4 000、1 000、600、30 mg/kg,同时设置空白添加量组。将混合好的发酵基料装坛,糖化 3 d 后以 1:1 质量加水并密封坛口,在干燥阴凉环境下发酵 30 d。结束发酵后进行蒸馏得到酒糟。以 4 000 r/min 离心取沉淀后冻干,得到酒糟冻干粉。

1.4 测定指标

1.4.1 样品的消解与测定

样品的消解采用微波消解法,参照国标方法

《GB 5009.92-2016 食品中钙的测定》，具体操作步骤如下，准确称取固体试样 0.2~0.5 g（精确至 0.001 g）于消解罐中，加入 5 mL 硝酸过夜冷消化，再加入 2 mL 过氧化氢进行微波消解 1 h，当消化液冒白烟且呈无色透明或略带黄色时即消解完全，待消化液体积为 1~2 mL 时，取下冷却后用超纯水定容至 25 mL，混匀备用。同时做试剂空白试验。

元素的测定采用原子吸收光谱法，参照《GB 5009.92-2016 食品中钙的测定》、《GB 5009.90-2016 食品中铁的测定》、《GB 5009.14-2017 食品中锌的测定》测定钙、铁、锌的含量；使用 ICP-MS 测定硒元素含量。

1.4.2 可溶性有机态矿物质元素形态分析

采用 Liu 等^[16]的方法，略作修改，将 D101 大孔树脂在体积分数为 95% 的乙醇水溶液中浸泡 24 h，然后用去离子水彻底清洗待用。准确称取试样 2.0 g 置于烧杯中，加入 60 mL 去离子水，在 75 °C 下加热 120 min，然后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，分别在溶液和沉淀物中得到可溶态和悬浮态物质。将 D101 树脂放入玻璃柱（id.2.6 cm×30 cm），取可溶性样品 3 mL，用盐酸或氨水溶液将可溶性溶液的 pH 值调节为 4.0，样品通过树脂柱，微量元素被树脂吸附。将硝酸（体积分数为 1%，500 mL）溶液以 3 mL/min 的流量泵入色谱柱，收集的淋洗液为无机形式。然后将 500 mL 甲醇溶液以 3 mL/min 的流速泵入填充柱，收集的淋洗液即为有机形式。减压蒸馏至 10 mL，微波消解，ICP-MS 测定各元素含量。

1.5 矿物质 Caco-2 细胞转运试验

1.5.1 细胞培养

细胞培养基为 EMEM 培养基，添加体积分数为 20% 胎牛血清，体积分数为 1% 抗生素（青霉素和链霉素）培养环境为 37 °C，CO₂ 体积分数 5%，95% 相对湿度，2 d 更换一次培养基。将细胞接种至 T25 培养瓶中，当细胞密度达到 70%~80% 覆盖率时，加入体积分数为 0.25% EDTA-胰蛋白酶，37 °C 消化 3 min，按照 1:3 的比例进行细胞传代。

1.5.2 模型建立

选择 30~60 代的 Caco-2 细胞建立小肠上皮单层细胞模型。待细胞长至 80% 时，以每毫升 5×10^5 个细胞，将细胞接种至 12 孔多聚碳酸酯膜培养板

（Corning Transwell 3460）上层的小室中，上层培养基体积为 0.5 mL，并在下层补充 1.5 mL 完全培养基。培养 21 d，前两周隔天换液直至细胞形成完整的膜，第三周起每天换液。通过测量跨膜电阻（Transendothelial Electrical Resistance, TEER）的评价细胞单层的完整性，当电阻为 500~1 000 Ω·cm² 时，Caco-2 细胞单层模型建立成功，可用于转运实验。

1.5.3 细胞形态学观察

用倒置光学显微镜，以低倍到高倍的顺序观察细胞的生长状况和细胞的紧密度并记录（细胞若形成了完整的单细胞层，在培养 21 d 与 1~2 d 相比应紧密均匀，具有清晰的边缘）。

1.5.4 跨膜电阻

每 7 d 用配有 STX2 电极的细胞电阻仪检测一次跨膜电阻（TEER）以监测细胞融合程度和完整性，在使用前将电极用体积分数为 75% 的酒精消毒 15 min，再用 HBSS 缓冲液冲洗电极。去除 Transwell 板中上下室的旧培养基，用 HBSS 缓冲液清洗细胞 2 次，第 3 次将培养板在培养箱中培养 25 min，以平衡细胞，使其之间紧密连接，测量跨膜电阻时将电极长端浸入小室 BL 端，短端垂直插入培养小室 AP 端而不碰到细胞，待电阻仪读数稳定后，记录数值并按以下公式计算：

$$A = (D - D_0) \times 1.12 \quad (1)$$

式中：

A ——跨膜电阻，Ω·cm²；

D ——不同时间点测得的跨膜电阻值，Ω；

D_0 ——空白 Transwell 培养板的电阻值，Ω。

1.5.5 细胞毒性

选择 30~60 代的 Caco-2 细胞，待细胞铺满培养瓶底部面积 80% 时，按照密度每毫升 5×10^5 个接种细胞到 96 孔板中，设置调零组、空白组、钙组、铁组、锌组、硒组、复配矿物质组、酒糟组、每组设置 6 个复孔，每孔加入 100 μL 细胞悬浮液，调零孔加入不含细胞的培养基。培养 1 d 后，去除培养基，加入配有不同质量浓度钙铁锌硒的培养基，培养 1 d，去除旧的培养基，用 PBS 清洗一遍，每孔加入 100 μL MTT (0.5 mg/mL)，37 °C 避光孵育 1 h，孵育完成后终止培养，小心吸去上清培养液，每孔加入 150 μL 二甲基亚砷，摇床低速振荡 5 min，使结晶物充分溶解。使用酶标仪于 570 nm 处测量各孔吸光值。

$$B=\frac{OD-OD_0}{OD_{CK}-OD_0}\times100\%$$

(2)

式中：
B——细胞的存活率，%；
OD——样品组在 570 nm 波长下的吸光值；
OD₀——调零组在 450 nm 波长下的吸光值；
OD_{CK}——空白组在 570 nm 波长下的吸光值。

1.5.6 富矿酒糟对钙铁锌硒转运的研究

探究时间对钙、铁、锌、硒转运率的影响。设置无机对照组与富矿酒糟组，无机对照组的钙、铁、锌、硒质量浓度分别为 0.65、0.1、0.15、0.015 μg/mL，富矿酒糟组质量浓度为酒糟 0.5 mg/mL。用建模成功的单层细胞模型进行实验，先用预热的 HBSS 缓冲溶液清洗单层细胞 2 次，在单层细胞 AP 侧加入样品。在不同的时间点（0.5、1、1.5、2、2.5、3 h），从下层小室收集 0.5 mL HBSS 缓冲液以测量钙、铁、锌、硒离子质量浓度，同时补充 0.5 mL HBSS 缓冲液以保持体积恒定。每个时间 caiy 点的矿物质质量浓度使用 ICP-MS 检测。计算每个取样时点的矿物质总转运率：

$$C=\frac{1.5\times A_n+1\times\sum A_{n-1}}{0.5\times B_0}\times100\%$$

(3)

式中：
C——转运率，%；
A_n——不同时间点在每个孔下层 HBSS 的钙、铁、锌、硒离子质量浓度，μg/mL；
B₀——实验开始时每孔上层 0.5 mL HBSS 缓冲液中钙、铁、锌、硒含量，每孔 μg 数。

1.6 数据分析

所有试验均重复 3 次，使用 SPSS 24.0 软件和

Prism 10.0 软件进行数据统计和显著性分析，数据表示为平均值 ± 标准差（SD），P<0.05 被认为具有显著差异，P<0.01 被认为具有极显著差异。并使用 Prism 10.0 及 Origin 2019 制作图表。

2 结果与讨论

2.1 酿酒工艺强化钙铁锌硒的效果

2.1.1 酒糟矿物质测定结果

酒糟矿物质测定结果如表 1 所示。测定富矿酒糟的钙、铁、锌、硒含量分别为 13 150.07、2 020.44、5 194.30、290.07 mg/kg，未额外添加矿物质的酒糟的钙、铁、锌、硒含量分别为 153.21、35.91、41.65、0.71 mg/kg。

2.1.2 富矿酒糟形态分析

富矿酒糟形态分析结果如表 2 所示。测定富矿酒糟的平均可溶态无机态钙、铁、锌、硒含量分别为 9 440.19、212.61、1 788.42、4.84 mg/kg，可溶态有机态钙、铁、锌、硒平均含量分别为 169.21、19.28、9.34、11.07 mg/kg。鉴于生物富集矿物质的能力有限，已对各元素的有机态进行有效强化。

2.2 细胞毒性实验

2.2.1 无机矿物质细胞毒性试验

MTT 比色法是一种检测细胞存活和生长的方法，其检测原理为活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT 还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲臆并沉积在细胞中，死细胞则无此功能^[17]。使用二甲基亚砜（DMSO）能溶解细胞中的甲臆，在 570 nm 波长处测定其光吸收值，可间接反映活细胞数量。

表 1 酒糟矿物质检测结果（mg/kg）
Table 1 Mineral testing results of distiller's grains (mg/kg)

样品	Ca	Fe	Zn	Se
富矿酒糟	13 150.07 ± 8.72	2 020.44 ± 6.29	5 194.30 ± 20.13	290.07 ± 4.61
未额外添加矿物质的酒糟	153.21 ± 1.02	35.91 ± 0.14	41.65 ± 0.71	0.71 ± 0.08

表 2 富矿酒糟形态分析结果（mg/kg）
Table 2 Morphological analysis results of rich mineral lees (mg/kg)

样品	Ca	Fe	Zn	Se
富矿酒糟可溶态无机态含量	9 440.19 ± 36.22	212.61 ± 4.70	1 788.42 ± 10.74	4.84 ± 0.21
富矿酒糟可溶态有机态含量	169.21 ± 10.76	19.28 ± 2.14	9.34 ± 3.69	11.07 ± 1.88

首先进行单独添加无机钙铁锌硒离子毒性实验，在不同质量浓度的钙铁锌硒溶液作用下，Caco-2 细胞的 MTT 毒性实验结果如图 1 所示。

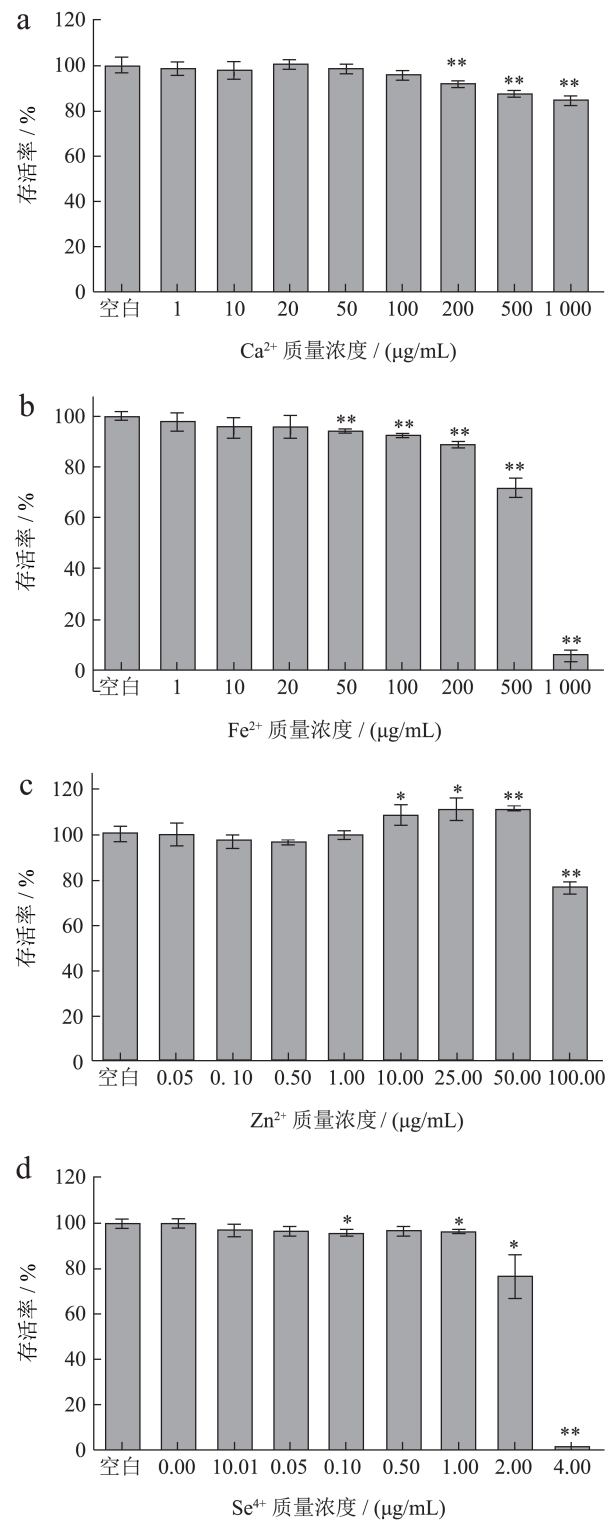


图 1 钙铁锌硒分别对 Caco-2 细胞的毒性作用
Fig.1 Toxic effects of calcium, iron, zinc, and selenium on Caco-2 cells

注：与空白组相比，**P*<0.05，***P*<0.01。图 2、4、5、6 同。

当钙质量浓度为 1、10、20、50、100 μg/mL 时，与对照组比较，Caco-2 细胞的存活率为 98.44%~100.06%，当铁质量浓度为 1、10、20、50、100 μg/mL 时，Caco-2 细胞的存活率为 92.31%~97.71%，当锌质量浓度为 0.05、0.1、0.5、1、10、25、50 μg/mL 时，Caco-2 细胞的存活率为 96.79%~111.66%，当硒质量浓度为 0.001、0.01、0.05、0.1、0.5、1 μg/mL 时，Caco-2 细胞的存活率为 96.17%~100.21%。细胞生长状态均较好，对细胞几乎无毒害作用。

2.2.2 复配钙铁锌硒与富矿酒糟对细胞毒性实验

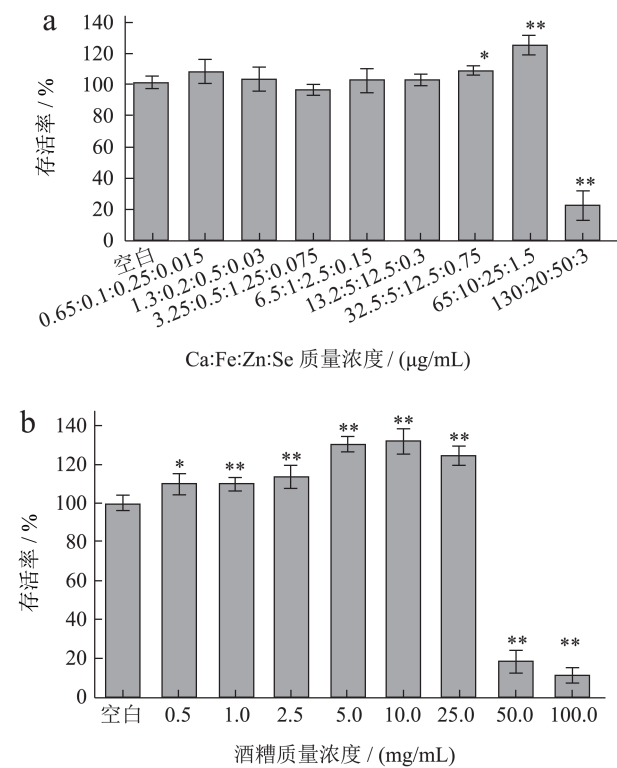


图 2 复配钙铁锌硒与富矿酒糟对 Caco-2 细胞的毒性作用
Fig.2 Toxic effects of complex calcium, iron, zinc, selenium and rich mineral wine lees on Caco-2 cells

再按照富矿酒糟钙、铁、锌、硒含量之比复配钙铁锌硒离子进行毒性试验。设置钙铁锌硒质量浓度分别为 0.65~65、0.1~10、0.15~15、0.015~1.5 μg/mL 时，Caco-2 细胞的存活率为 96.55%~125.41%，设置富矿酒糟质量浓度为 0.5、1、2.5、5、10、25 mg/mL 时，Caco-2 细胞存活率为 113.04%~132.75%，细胞生长状态均良好无毒害作用，可用于后续转运实验。

2.3 跨膜电阻值测定

Caco-2 细胞单层膜结构的紧密性、完整性可用

跨膜电阻值 (TEER 值) 为指标进行检测。两者在一定范围内呈正比。在培养细胞 21 天的过程中, 分别在第 7、14、21 天使用细胞电阻仪检测的 TEER 值, 在培养 Caco-2 细胞第 21 天时, 平均 TEER 值为 $647.17 \Omega \cdot \text{cm}^2$, 大于 $500 \Omega \cdot \text{cm}^2$, 且相比第 7 天与 14 天, 各孔电阻标准差更小。表明 Caco-2 细胞单层膜完整性良好, 细胞间连接紧密。达到试验标准。

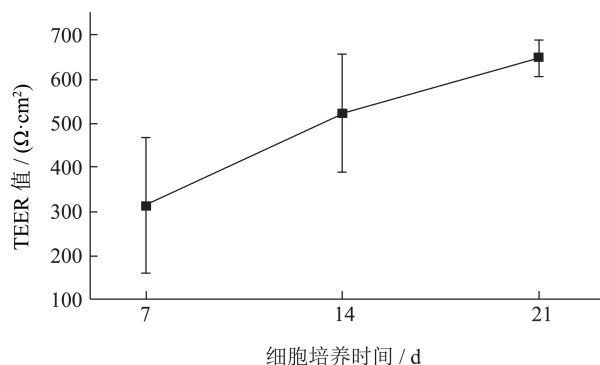


图 3 跨膜电阻随时间变化曲线

Fig.3 Time dependent curve of transmembrane resistance

2.4 富矿酒糟对钙铁锌硒的影响

2.4.1 富矿酒糟对钙转运的影响

富矿酒糟组与无机对照组钙转运结果如图 4 所示, 0~3 h 内, 钙转运率随时间的增加而升高。总体而言, 富矿酒糟组的钙转运率优于无机对照组。与无机对照组相比, 在 2~3 h 内富矿酒糟钙转运率显著高于对照组 ($P < 0.05$), 在 3 h 时, 无机对照组钙转运率为 16.74%, 而富矿酒糟组钙转运率高达 50.30%, 是无机对照组的 3.00 倍, 与 Li 等^[18]制备的酪蛋白磷酸肽钙复合物的钙转运率接近 (52.03%)。在发酵的过程中, 钙可能与酒糟中的蛋白或肽螯合, 更利于其吸收转运。此外, Takuya 等^[19]的研究表明, 不可消化的糖会增强细胞旁通透性, 以此提升细胞旁钙转运。可能是富矿酒糟中含有一些不可消化的糖提高了钙离子的转运率。

2.4.2 富矿酒糟对铁转运的影响

富矿酒糟组与无机对照组铁转运结果如图 5 所示, 富矿酒糟组铁离子总转运率优于无机对照组, 除在 0~2 h 时间段与同时空白对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$), 在 0~2.5 h 与同时空白对照组相比总转运率具有显著性差异 ($P < 0.05$)。在 0~0.5、0~1、0~1.5 与 0~3 h 时间段与同时空白对照组相比, 总转运率具有极显著差异 ($P < 0.01$)。总体而言, 富矿酒糟组的钙转运率优于无机对照组。在 3 h 时,

无机对照组钙转运率为 4.82%, 而富矿酒糟组钙转运率高达 60.89%, 是无机对照组的 12.63 倍。

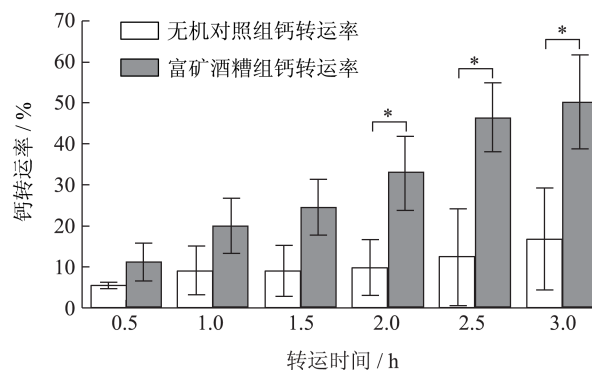


图 4 钙转运率随时间变化图

Fig.4 Calcium transport rate over time graph

徐铭笙^[20]使用体外消化和 Caco-2 细胞模型进行脱脂米糠蛋白水解物铁生物利用度研究, 结果表明脱脂米糠蛋白水解物可以提高铁的生物利用度, 也可能是因为肽铁螯合物相比于无机铁盐更加利于细胞的吸收利用。铁吸收过程是由二价金属离子转运蛋白介导的过程^[21], 人体对于二价铁离子的吸收利用率远远高于三价铁离子, 直接服用硫酸亚铁等无机铁盐补铁剂, 在人体消化吸收利用的过程中, 极有可能会被氧化成为三价铁离子, 降低了二价铁离子被人体吸收利用的效率。而肽铁螯合物可以一定程度上保护其中的二价铁离子被氧化成为三价铁离子, 有效的提高了二价铁离子被人体细胞吸收利用的效率。同时淀粉样纤维也具有一定的抗氧化性能, 能够保护更多的二价铁离子防止其被氧化。

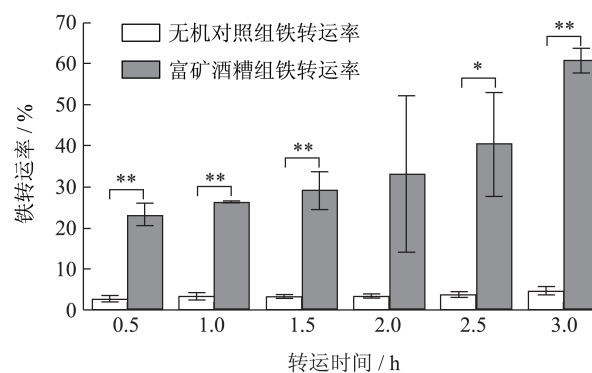


图 5 铁转运率随时间变化图

Fig.5 Time dependent graph of iron transport rate

2.4.3 富矿酒糟对锌转运的影响

富矿酒糟组与无机对照组锌转运结果如图 4 所示, 富矿酒糟组锌离子转运能力优于无机对照组, 在 0~3 h 的转运过程中与空白对照组相比, 总转运率均具有极显著性提高 ($P < 0.01$)。在 3 h 时, 无

机对照组钙转运率为 2.98%，而富矿酒糟组锌转运率高达 35.07%，是无机对照组的 11.77 倍，以上结果与 Zhu 等^[22]利用 Caco-2 细胞转运模型研究无机锌与水解小麦胚芽蛋白螯合锌的生物利用度的结果规律相似，螯合锌具有比无机锌更高的生物利用度。

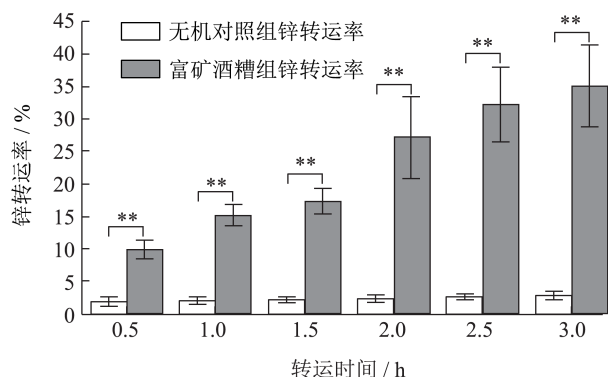


图 6 锌转运率随时间变化图

Fig.6 Time dependent graph of zinc transport rate

Frontela 等^[23]研究发现酪蛋白磷酸肽可以与锌复合，使其在回肠中保持可溶性并刺激其被动扩散。在本研究中，相同的机制可能适用于肽-锌复合物对锌生物利用度的促进作用。此外，锌的吸收受膳食中锌的形式以及与肠道内物质如蛋白质和葡萄糖聚合物等相互作用的影响，这些物质可以增强锌的吸收^[24]。而 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 与 Ca^{2+} 等二价金属离子之间可能存在拮抗作用^[25]，影响各二价离子的吸收，有机态二价离子络合物有可能会降低这种拮抗作用。

2.4.4 富矿酒糟对硒转运的影响

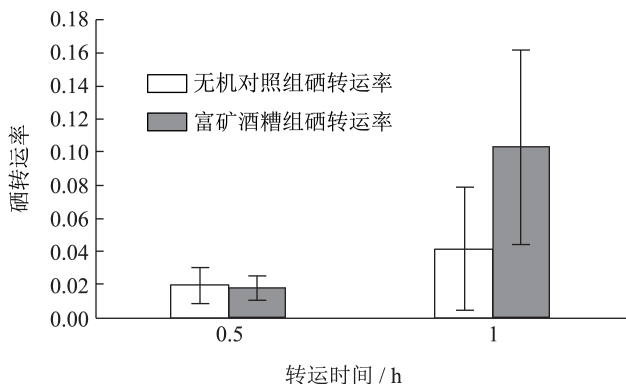


图 7 硒转运率随时间变化图

Fig.7 Time dependent graph of selenium transport rate

传统的无机硒（如硒酸钠、亚硒酸钠）毒性较大，不适宜用作补硒剂^[26]，与无机硒相比，有机硒安全性高，易被机体吸收且补硒效率高^[27,28]。因为硒的细胞毒性大，上样量较低，在进行转运实验超过 1 h 后即未能从下室中检出。富矿酒糟组在

0.5 h 时总转运率略低于空白对照组，在 1 h 时总转运率又超过无机对照组。但总转运率不具有显著性差异 ($P > 0.05$)。1 h 时富矿酒糟组的硒转运率为 10.30%，为无机对照组的 2.49 倍。天然食品中的有机硒比无机硒具有更高的生物利用度^[29]。有研究发现，酵母菌在含有机硒的培养基中具有更好的生物富集特性^[30]。本实验采用的富矿酒糟经形态分析验证含有一定量的有机态硒，提高了硒元素的生物利用度。

3 结论

实验采用大米发酵酿酒工艺对钙、铁、锌、硒进行富集并制备了富矿酒糟，同时基于体外细胞实验比较了富矿酒糟与无机矿物质的转运能力。研究结果表明，在大米基料中钙、铁、锌、硒添加量分别为 4 000、600、1 000、30 mg/kg 时，获得的富矿酒糟中有机态钙、铁、锌、硒含量分别为 169.21、19.28、9.34、11.07 mg/kg；细胞实验结果表明，富矿酒糟钙、铁、锌元素的转运率均显著高于无机矿物质对照组 ($P < 0.05$)，钙转运率为 50.30%、铁转运率 60.89%、锌转运率为 35.07%、硒的转运率为 10.30%，分别较空白组提升 3.00、12.63、11.77、2.49 倍。综上所述，富矿酒糟具有成为优质矿物质强化配料的潜力。

参考文献

- [1] 李国景,陈永福,王辉,等.居民营养摄入与粮食作物种植结构变化分析[J].中国食物与营养,2023,29(12):5-11.
- [2] 苑晴晴,罗琴,何凯鑫,等.肽钙螯合物的研究进展[J].粮食与食品工业,2023,30(2):24-26.
- [3] 陈思恋.平菇菌糟替代苜蓿对福建黄兔生产性能和肠道功能的影响[D].福州:福建农林大学,2015.
- [4] COELHO, R C, BARSOTTI, R C F, MALTEZ, H F, et al. Expanding information on the bioaccessibility and bioavailability of iron and zinc in biofortified cowpea seeds [J]. Food Chemistry, 2021, 347, 129027.
- [5] BRIES, A E, HURRELL, R F, REDDY M B. Iron absorption from bouillon fortified with iron-enriched *Aspergillus oryzae* is higher than that fortified with ferric pyrophosphate in young women [J]. The Journal of Nutrition, 2020, 150: 1109-1115.
- [6] 隋新莹,刘国利,董春海.小麦耐盐、富铁突变体新品系的鉴定及分析[J].山东农业科学,2021,53(7):9-13.
- [7] HLA HLA EI.硫酸锌和亚硒酸钠对水稻中锌和硒营养元素的影响研究[D].雅安:四川农业大学,2020.
- [8] 颜亮亮,胡广林.外源铁培养液对玉米发芽过程中营养

- 成分和抗氧化活性的影响[J].食品研究与开发,2021,42(16):1-6.
- [9] PETER S M, AKWILINA M, DELPHINA M, et al. *In-vitro* bioavailability of selected minerals in dry and green shelled beans [J]. African Journal of Agricultural Research, 2016, 11(9): 730-737.
- [10] 何万领,李晓丽,张金汉,等.微生物发酵铁、锌、锰、铜对蛋鸡生产性能和血清指标的影响[J].中国兽医学报,2018,38(2):398-403.
- [11] 杨靖鹏.乳酸菌对微量元素的富集及其生物活性评估[D].咸阳:西北农林科技大学,2017.
- [12] REDDY M B, ARMAH S M. Impact of iron-enriched *Aspergillus oryzae* on iron bioavailability, safety, and gut microbiota in rats [J]. Journal Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(24): 6213-6218.
- [13] MRVČIĆ J, STANZER D, SOLIĆ E, et al. Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: opportunities for improving food safety and quality [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2012, 28(9): 2771-2782.
- [14] 成林,成坚,王琴,等.原辅料对粮食酿造酒质量影响的研究进展[J].酿酒科技,2020,9:97-107
- [15] POONAM S, SURENDRA P. A review on iron, zinc and calcium biological significance and factors affecting their absorption and bioavailability [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 123: 105529.
- [16] LIU F, PEI F, ALFRED M M, et al. Separation and speciation analysis of zinc from *Flammulina velutipes* [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2015, 23(4): 630-635.
- [17] 何泽琪,林倩如,黄文,等.儿童配方奶粉对Caco-2细胞钙转运及对成骨细胞增殖、矿化的影响[J].现代食品科技,2022,38(10):56-61.
- [18] LI H, DUAN S, YUAN P, et al. Preparation of casein phosphopeptides calcium complex and the promotion in calcium cellular uptake through transcellular transport pathway [J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45: e14001.
- [19] TAKUYA S, HIROSHI H. Various nondigestible saccharides open a paracellular calcium transport pathway with the induction of intracellular calcium signaling in human intestinal Caco-2 cells [J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134(8): 1935-1941.
- [20] 徐铭笙.纤维/肽铁螯合物的制备、理化性质及生物利用率的研究[D].杭州:浙江工商大学,2023.
- [21] 宫立众,夏顺中.小肠铁吸收机制研究进展[J].重庆医学,2003,11:1563-1565.
- [22] 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.
- [23] FRONTELA C, ROS G, MARTÍNEZ C. Phytic acid content and “*in vitro*” iron, calcium and zinc bioavailability in bakeryproducts: The effect of processing [J]. Journal of Cereal Science, 2011, 54: 173-179.
- [24] 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.
- [25] FINLEY J W, DAVIS C D. Selenium from high-selenium broccoli is utilized differently than selenite, selenate and selenome-thionine, but is more effective in inhibiting colon carcinogenesis [J]. Bio Factors, 2001, 14: 191-196.
- [26] ETCHEVERRY P, WALLINGFORD J C, MILLER D D, et al. The effect of calcium salts, ascorbic acid and peptic pH on calcium, zinc and iron bioavailabilities from fortified human milk using an *in vitro* digestion/Caco-2 cell model [J]. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 2005, 75: 171-178.
- [27] 姚鑫,朱倩,魏赛,等.富硒酵母菌及其富硒机理研究进展[J].当代畜禽养殖业,2024,44(4):42-44.
- [28] 黄思思,温晓洁,王国平,等.不同硒源对家禽生理和生产性能的影响[J].中南农业科技,2022,43(5):184-188.
- [29] MAHAN, DC, AZAIN, M, CRENSGAW, T D, et al. Supplementation of organic and inorganic selenium to diets using grains grown in various regions of the United States with differing natural Se concentrations and fed to grower-finisher swine [J]. Journal of Animal Science, 2014, 92: 4991-4997.
- [30] GONG A, LIU W, LIN Y, et al. Adaptive laboratory evolution reveals the selenium efflux process to improve selenium tolerance mediated by the membrane sulfite pump in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(3): e0132623.