

doi:10.12301/spxb202200466

文章编号:2095-6002(2023)02-0154-10

引用格式:张婷婷,谭俊杰,田震,等.膳食营养剂对灰褐牛肝菌中镉的生物可给性及其健康风险的影响[J].食品科学技术学报,2023,41(2):154-163.



ZHANG Tingting, TAN Junjie, TIAN Zhen, et al. Effects of dietary nutrients on bioaccessibility and health risk of cadmium in *Boletus griseus*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(2):154-163.

# 膳食营养剂对灰褐牛肝菌中镉的生物可给性及其健康风险的影响

张婷婷, 谭俊杰, 田震, 庄永亮\*, 孙丽平

(昆明理工大学食品科学与工程学院, 云南昆明 650500)

**摘要:** 聚焦灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)富镉(Cd)问题,调研了云南3个地区*B. griseus*样本中的总Cd含量,选取了高、中、低3种不同Cd含量*B. griseus*样本,建立了一种更易实现、更易量化的体外全仿生消化方法,评价了*B. griseus*中镉的生物可给性(Cd-BAc),研究了单宁酸、CaCl<sub>2</sub>、原花青素、葡萄糖酸锌钙、红毛丹果皮多酚5种膳食营养成分对Cd-BAc的影响,并以此为基础评价了*B. griseus*中Cd的食用健康风险。结果表明,采集的53个*B. griseus*样本均具有较高的总Cd含量,在胃部的Cd-BAc为55.30%~59.36%,但是小肠的弱碱近中性环境显著降低了*B. griseus*中Cd的溶出,Cd-BAc为39.59%~52.86%,大肠菌群发酵进一步降低Cd-BAc至21.41%~25.28%。5种膳食营养剂在胃部对Cd-BAc影响不大,在小肠部和大肠菌群发酵中,均显著降低了Cd-BAc,CaCl<sub>2</sub>效果最为显著。以*B. griseus*中Cd总量计,摄食中镉、高镉含量的*B. griseus*,Cd对人体的风险熵为2.98和5.13;综合考虑Cd-BAc以及5种膳食营养剂的影响,其风险熵可降低至0~0.37。研究结果表明,*B. griseus*中Cd的食用健康风险很高,膳食营养剂可通过降低肠道Cd-BAc而调控其对人体的健康风险,因此,膳食营养剂可能是控制高镉食品健康风险的一种有效策略,但是该策略的有效性需要进一步的体内实验验证。

**关键词:** 灰褐牛肝菌; 镉; 生物可给性; 膳食营养剂; 健康风险

**中图分类号:** TS255.1

**文献标志码:** A

云南因其独特的地理位置、生态和气候,孕育了种类繁多的野生食用菌资源。云南省食用菌产量位居全国第18位,但是产值为全国第二<sup>[1]</sup>。灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)是云南省常见野生食用菌,采收期长、产量大、价格相对便宜,深受消费者欢迎。研究已证实,*B. griseus*具有很强的富镉能力,即使生长在低镉环境中其镉含量依然很高,可达24.19 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[2-5]</sup>。大型真菌具有(类)金属富集性能,野生食用菌生产环境复杂、生长过程不可

控,子实体有害矿物质超标问题严重<sup>[6]</sup>。欧盟委员会基于研究信息,认为一些大型真菌具有天然的镉富集能力,即便是良好农业和规范渔业操作也不能使某些食用菌和水生真菌中镉的含量维持在法规(EC)No 1881/2006所规定的限量水平,因此颁布了(EC)No 629/2008号法规。新法规提升甚至取消了一些真菌品类中镉的最大限量,其中除双孢菇、平菇和香菇外的食用菌中镉限量(湿重)提升至1.0 mg·kg<sup>-1</sup>。因此应广泛调研自然环境中野生食用

收稿日期:2022-05-03

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31860421);云南省自然科学基金资助项目(202101AT070084)。

Foundation: National Natural Science Foundation of China(31860421); Yunnan Natural Science Foundation Project(202101AT070084)。

第一作者:张婷婷,女,硕士研究生,研究方向为食品营养与安全控制。

\*通信作者:庄永亮,男,教授,博士,主要从事食品营养与低值资源高值化开发方面的研究。

菌吸收有害矿物质的水平,研究和明确其对人体的潜在健康风险,以支撑相关法律、法规和标准的制修订。

膳食镉对人体的毒性与其在消化道的消化和吸收密切相关<sup>[7]</sup>。膳食中只有被吸收的部分才能进入机体的循环系统,参与机体的新陈代谢,发挥其对机体的营养支持,或对机体的正常生理功能产生毒害作用。食物中镉的消化和吸收一般采用动物实验测定,但是动物实验不仅耗时长、费用高,且存在染毒方式与人体之间的差异<sup>[8]</sup>,存在动物机体生理与人体生理的差异。根据相关标准和文献:动物实验中受试物对动物的染毒方式主要为受试物溶于水或其他介质后灌胃,也可掺入饲料给予<sup>[8-9]</sup>;对于人体正常膳食,复杂的膳食基质可影响某一物质在胃肠消化液中的溶出和胃肠上皮黏膜细胞的吸收与转运等<sup>[10]</sup>。研究者基于人体胃肠生理环境建立了多种体外仿生消化模型,提出“生物可给性(bioaccessibility)”和“生物利用率(bioavailability)”两个概念,分别用来描述膳食中的污染物在消化液中的溶出水平和肠道摄取吸收水平,进而更为精准地评价摄食污染物对机体的潜在健康风险<sup>[11-12]</sup>。

现有的人体胃肠仿生消化方法存在方法过程复杂、参数不明确、不易定量计算或整套设备成本过高等缺陷。本研究聚焦 *B. griseus* 中镉污染问题,基于现有的人体胃肠仿生消化模型的研究和应用,拟建立一种更简便、更易量化、更仿真人体胃肠消化过程的体外全仿生消化方法,用以测定不同镉含量 *B. griseus* 中镉的生物可给性(Cd-BAc);并进一步研究单宁酸、CaCl<sub>2</sub>、原花青素、葡萄糖酸锌钙、红毛丹果皮多酚等常见膳食营养剂对 Cd-BAc 的影响,以此为基础评价 *B. griseus* 中镉的食用健康风险。本研究旨在为食品中日益严重的镉污染健康风险评价提供一种更严谨、更易实现的数据获取方法,同时探究高镉食品加工或食用中镉健康风险控制的策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本的采集与处理

2020年7月至9月和2021年7月至9月,根据作者对云南各地 *B. griseus* 生长环境的调研,从工业区、农业区、典型红壤区等不同环境区域(记为SL、HS、LF和JN)采集了53个 *B. griseus* 样本。将采集

的新鲜 *B. griseus* 样本4h内带回实验室,削除泥沙,先后用自来水和去离子水清洗,冷冻干燥,粉碎过40目筛,取筛下物,即得 *B. griseus* 样品备用。

### 1.2 材料与试剂

单宁酸、原花青素、葡萄糖酸钙、葡萄糖酸锌、人工胃液(货号:R41110)、人工小肠液(货号:R30384)、氯化血红素、半胱氨酸盐酸盐、胆盐、刃天青、吐温-80、维生素K1、酵母提取物、蛋白胨,上海源叶生物科技有限公司;红毛丹果皮多酚(多酚质量分数为70%),自制;镉单元素标准溶液(1 mg·mL<sup>-1</sup>),国家有色金属及电子材料分析测试中心。硝酸为优级纯,其他试剂均为分析纯。

### 1.3 仪器与设备

YQX-T型厌氧培养箱,上海龙跃仪器设备有限公司;3K15型冷冻离心机,德国Sigma实验室离心机股份有限公司;Mars 6型微波消解仪,美国CEM公司;NovAA 400P型石墨炉原子吸收分光光度计,德国耶拿分析仪器股份公司。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 *B. griseus* 的体外全仿生消化方法的建立

充分参考和对比现有的体外仿生消化方法<sup>[10-15]</sup>,合理利用已商业化的、符合中国药典或美国药典要求的人体胃肠模拟消化液,并进一步考虑了人体胃肠的气体环境含氧量,建立体外全仿生消化方法,用以测定 *B. griseus* 样品中 Cd-BAc。

##### 1.4.1.1 胃部的物理和化学仿生消化过程

准确称取3g *B. griseus* 样品至100 mL 厌氧瓶中,加入27 mL 去离子水和适量玻璃珠,在室温下溶胀复水。加入10 mL 人工胃液,在含有体积分数10% O<sub>2</sub>的厌氧箱中,37℃、100 r/min 水浴震荡1 h,得到胃仿生消化物。准确移取4 mL 消化物,9 000 r/min 离心10 min,收集并测定上清液中的镉含量,胃部物理和化学消化作用下的 Cd-BAc 按式(1)计算。

$$Cd-BAc = (\rho \times 0.04) / (w \times m) \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中, $\rho$ 是胃消化物上清液中镉的质量浓度,mg·L<sup>-1</sup>;0.04是胃消化物的体积,L; $w$ 为 *B. griseus* 样品中镉的质量分数(以干基计),mg·kg<sup>-1</sup>;  $m$ 为 *B. griseus* 样品的质量(干重),kg。

##### 1.4.1.2 小肠部的物理和化学仿生消化过程

将1.4.1.1节厌氧瓶中剩余的胃仿生消化物用饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液调节pH值至6.8~7.0。向消化混合物中加入14 mL 人工小肠液,混匀,在含有体积

分数8% O<sub>2</sub>的厌氧箱中,37℃、100 r/min水浴震荡3 h,得到小肠仿生消化物。准确移取5 mL消化物,9 000 r/min离心10 min,收集并测定上清液中的镉含量,小肠部物理和化学消化作用下的Cd-BAc按式(2)计算。

$$Cd-BAc = (\rho \times 0.05) / (w \times m \times 0.9) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中, $\rho$ 是小肠消化物上清液中镉的质量浓度,mg·L<sup>-1</sup>;0.05是小肠消化物的体积,L; $w$ 和 $m$ 同式(1);0.9为*B. griseus*样品从胃部转移到小肠部的比例。

#### 1.4.1.3 大肠部的物理、化学和生物学消化过程

将1.4.1.2节厌氧瓶中剩余的小肠消化物原位冻干,置于厌氧箱中,将瓶内气体完全置换后,按小肠消化物、大肠菌群培养基和人体粪便菌群悬液的体积比为10:11:9的比例,加入49.5 mL大肠菌群培养基<sup>[16]</sup>和40.5 mL某24岁健康女性志愿者粪便菌群悬液。充分震荡厌氧瓶,混合,用封口钳封盖,37℃、100 r/min水浴震荡48 h,得到大肠仿生消化物。移取5 mL消化物,9 000 r/min离心10 min,收集并测定上清液中镉的含量,大肠部物理、化学和生物学消化作用下的Cd-BAc按式(3)计算。

$$Cd-BAc =$$

$$(\rho \times 0.09) / (w \times m \times 0.9 \times 0.9) \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中, $\rho$ 是大肠消化物上清液中镉质量浓度,mg·L<sup>-1</sup>;0.09是大肠消化物的体积,L; $w$ 和 $m$ 同式(1);0.9×0.9为*B. griseus*样品从胃部转移到小肠部再转移到大肠的比例。

#### 1.4.2 膳食营养剂干预下*B. griseus*中Cd-BAc的检测

准确称取3 g *B. griseus*样品至100 mL厌氧瓶中,再分别加入100 mg单宁酸、CaCl<sub>2</sub>、原花青素、葡萄糖酸锌钙和红毛丹果皮多酚,按照1.4.1节的方法,对混合样本进行仿生消化处理,计算各消化过程中的Cd-BAc。

#### 1.4.3 *B. griseus*中镉含量的检测

采用微波消解-原子吸收光谱法测定*B. griseus*样本中镉含量。准确称取或量取*B. griseus*样品至聚四氟乙烯消解罐中,加入8 mL浓硝酸,120℃预消解60 min,冷却后用微波消解仪消解。消解程序设定为三阶段升温:第一阶段,10 min升温至120℃,保持5 min;第二阶段,5 min升温至150℃,保持5 min;第三阶段,10 min升温至190℃,保持

25 min。消解完成后150℃赶酸120 min,去离子水定容至合适体积,得到测试液。原子吸收光谱仪工作参数:波长228.8 nm、狭缝0.8 nm、灯电流8 mA、干燥温度105℃、干燥时间20 s、灰化温度400~700℃、灰化时间20~40 s、原子化温度1 300~2 300℃、原子化时间3~5 s,背景校正为氘灯,峰面积定量,样本中镉含量单位为mg·kg<sup>-1</sup>或mg·L<sup>-1</sup>。

#### 1.4.4 *B. griseus*中镉的健康风险评价

##### 1.4.4.1 人体对*B. griseus*中镉的经口暴露量评估

为评价*B. griseus*样品中的镉给人体带来的健康风险,根据日均摄入量计算人体经口摄入对灰褐牛肝菌中镉的日均暴露量<sup>[17]</sup>,计算方法见式(4)。

$$ADD = (E_F \times E_D \times F_{IR} \times w) / (m \times t) \quad (4)$$

式(4)中,ADD为日均暴露量,mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;E<sub>F</sub>为暴露频率,d/年;E<sub>D</sub>为暴露区间,年;F<sub>IR</sub>为摄入量,kg·d<sup>-1</sup>;w为*B. griseus*样品镉质量比,mg·kg<sup>-1</sup>;m为人体平均体质量,kg;t为总暴露时间,d。

考虑*B. griseus*样品的Cd-BAc以及膳食营养剂干预下Cd-BAc,人体对*B. griseus*样品中镉的经口日均暴露量<sup>[18]</sup>计算方法见式(5)。

$$ADD_{BAC} = (E_F \times E_D \times F_{IR} \times w \times BAC) / (m \times t) \quad (5)$$

式(5)中,ADD<sub>BAC</sub>为不同生物可给性条件下的日均暴露量,mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;E<sub>F</sub>、E<sub>D</sub>、F<sub>IR</sub>、w、m和t,同式(4);BAC为Cd-BAc。

*B. griseus*是野生食用菌,每年采收期为3个月,主要为鲜食,故设置式(4)和式(5)中参数:E<sub>F</sub>为90 d/年,E<sub>D</sub>成人为30年,F<sub>IR</sub>成人为300 g·d<sup>-1</sup>,m为60 kg,t为365 d/年×30年。

##### 1.4.4.2 *B. griseus*中镉对人体的健康风险评价

根据美国环保局和世界卫生组织推荐的有毒污染物的参考暴露剂量(RfD),镉的RfD为1.0 μg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,以风险熵(HQ)为参数,评价*B. griseus*中镉对人体的健康风险。计算公式见式(6)和式(7)。

$$HQ = ADD/RfD; \quad (6)$$

$$HQ_{BAC} = ADD_{BAC}/RfD \quad (7)$$

式(6)、(7)中,HQ为风险熵;HQ<sub>BAC</sub>基于Cd-BAc的风险熵<sup>[19]</sup>,ADD为日均暴露量,mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;ADD<sub>BAC</sub>为不同生物可给性条件下的日均暴露量,mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。

#### 1.5 数据分析

所有实验至少重复3次,实验数据用Microsoft

Excel 2021 软件处理,结果以平均值  $\pm$  标准偏差表示。采用 SPSS 26.0 中的多因素分析方法对实验数据进行差异分析, $P < 0.05$  为差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 *B. griseus* 中镉的含量及 Cd-BAc 分析

#### 2.1.1 镉含量分析

经测定,53 个 *B. griseus* 样本中镉质量分数分布

情况见表 1。由表 1 可知,*B. griseus* 样本中镉质量分数为 6.22 ~ 48.73  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。HS、SL、LF 和 JN 四个区域样本中镉的均值分别为 29.34、27.17、21.61、11.30  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。根据《食品安全国家标准食品中污染物限量》(GB 2762—2017),食用菌及其制品中镉限量为 0.2 ~ 0.5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,*B. griseus* 样本中的镉均超出限量规定,可能对人体具有潜在的健康风险。

采集于 HS 区域的样本镉含量均值显著高于其

表 1 53 个灰褐牛肝菌样本中 Cd 的质量分数

Tab. 1 Cd contents in 53 *B. griseus* samples

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

| 样本   | $w(\text{Cd})$                | 样本   | $w(\text{Cd})$                 | 样本  | $w(\text{Cd})$                |
|------|-------------------------------|------|--------------------------------|-----|-------------------------------|
| HS1  | 20.62 $\pm$ 0.28              | SL1  | 37.19 $\pm$ 1.29               | LF1 | 31.53 $\pm$ 0.35              |
| HS2  | 19.56 $\pm$ 0.21              | SL2  | 31.57 $\pm$ 2.87               | LF2 | 21.21 $\pm$ 0.18              |
| HS3  | 22.73 $\pm$ 0.74              | SL3  | 36.93 $\pm$ 0.47               | LF3 | 14.72 $\pm$ 0.23              |
| HS4  | 19.31 $\pm$ 0.54              | SL4  | 42.42 $\pm$ 1.32               | LF4 | 20.71 $\pm$ 0.02              |
| HS5  | 21.59 $\pm$ 0.39              | SL5  | 35.34 $\pm$ 0.50               | LF5 | 21.20 $\pm$ 0.16              |
| HS6  | 21.85 $\pm$ 0.06              | SL6  | 22.10 $\pm$ 0.02               | LF6 | 27.13 $\pm$ 0.14              |
| HS7  | 34.11 $\pm$ 1.04              | SL7  | 16.14 $\pm$ 0.14               | LF7 | 14.77 $\pm$ 0.06              |
| HS8  | 25.84 $\pm$ 0.21              | SL8  | 43.40 $\pm$ 0.03               | 均值  | 21.61 $\pm$ 6.11 <sup>b</sup> |
| HS9  | 36.73 $\pm$ 0.24              | SL9  | 38.62 $\pm$ 0.19               | JN1 | 11.56 $\pm$ 0.44              |
| HS10 | 30.01 $\pm$ 0.26              | SL10 | 25.35 $\pm$ 0.18               | JN2 | 10.92 $\pm$ 0.17              |
| HS11 | 30.15 $\pm$ 0.41              | SL11 | 18.33 $\pm$ 0.11               | JN3 | 6.22 $\pm$ 0.22               |
| HS12 | 44.49 $\pm$ 0.37              | SL12 | 20.62 $\pm$ 0.52               | JN4 | 16.52 $\pm$ 0.67              |
| HS13 | 28.33 $\pm$ 0.34              | SL13 | 27.54 $\pm$ 0.18               | JN5 | 7.56 $\pm$ 0.01               |
| HS14 | 37.71 $\pm$ 0.12              | SL14 | 19.30 $\pm$ 0.00               | JN6 | 13.16 $\pm$ 0.02              |
| HS15 | 35.65 $\pm$ 0.16              | SL15 | 27.20 $\pm$ 0.13               | JN7 | 13.19 $\pm$ 0.22              |
| HS16 | 19.35 $\pm$ 0.08              | SL16 | 21.34 $\pm$ 0.09               | 均值  | 11.30 $\pm$ 3.52 <sup>a</sup> |
| HS17 | 27.19 $\pm$ 0.03              | SL17 | 17.81 $\pm$ 0.16               |     |                               |
| HS18 | 30.57 $\pm$ 0.16              | SL18 | 13.71 $\pm$ 0.00               |     |                               |
| HS19 | 32.33 $\pm$ 0.43              | SL19 | 21.44 $\pm$ 0.30               |     |                               |
| HS20 | 48.73 $\pm$ 0.07              | 均值   | 27.17 $\pm$ 9.36 <sup>bc</sup> |     |                               |
| 均值   | 29.34 $\pm$ 8.44 <sup>e</sup> |      |                                |     |                               |

不同小写上标字母表示组间均值数据差异显著( $P < 0.05$ )。

他 3 个地区( $P < 0.05$ )。HS 区域内自 2003 年开始建设大型煤化工基地,主要是煤焦化及其相关产品。考虑 HS 区域环境,表明工业污染对生物体吸收和富集镉具有重要影响,这与以往的研究是一致的<sup>[6,20]</sup>,即在未受到污染或污染较轻的环境中采集的野生食用菌的镉含量,要远低于在受污染地区,特别是在工业污染地区采集的野生食用菌的镉含量。采集于 SL 区域的样本也呈现出较高

的总镉水平。对 SL 采样地周边环境进行调研,并未发现历史或正在进行的采冶、化工等污染性工业行为,而是山林或靠近农耕环境。*B. griseus* 常见于稀疏松林下和林缘地带,SL 区域主要是松林地与荒草地过渡地带,土壤以黏土为主,基质氧化环境弱。据此可推测,*B. griseus* 根际土壤中的镉可能主要以生物有效态赋存,进而易于菌体吸收和积累。

### 2.1.2 Cd-BAc 分析

根据采集的样本区域、样本量和菌体镉含量,选择了低(JN5)、中(HS8)、高(SL4)3个不同镉含量的 *B. griseus* 样本为代表,利用本研究建立的体外全仿生消化方法对样本进行消化处理,3个样本在消化过程中的 Cd-BAc,如表2。

表2 不同镉含量 *B. griseus* 体外消化过程中 Cd-BAc  
Tab.2 Cd-BAc of *B. griseus* with different Cd contents during *in vitro* digestion %

| 样品镉水平 | 胃部                        | 小肠部                       | 大肠部                       |
|-------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 高     | 59.36 ± 3.47 <sup>e</sup> | 52.86 ± 2.79 <sup>e</sup> | 25.28 ± 2.09 <sup>b</sup> |
| 中     | 55.30 ± 2.95 <sup>f</sup> | 39.59 ± 1.28 <sup>c</sup> | 24.18 ± 1.75 <sup>b</sup> |
| 低     | 58.95 ± 3.13 <sup>e</sup> | 42.99 ± 2.65 <sup>d</sup> | 21.41 ± 1.58 <sup>a</sup> |

不同小写字母表示组间数据差异显著( $P < 0.05$ )。

由表2可知,*B. griseus* 中的镉在胃液中具有较高的溶出率,高、中、低镉样本的 Cd-BAc 分别为 59.36%、55.30% 和 58.95%,这可能是因为胃液 pH 值较低,矿物质易溶出。由胃部进入小肠部后,Cd-BAc 显著降低,分别为 52.86%、39.59% 和 42.99%,这可能是因为小肠消化液呈弱碱近中性,在胃液酸性环境中溶出的镉又沉降在食物基质中。这一结果与已有的研究结果是一致的<sup>[19, 21-23]</sup>。经大肠菌群发酵后,*B. griseus* 的 Cd-BAc 进一步降低,高、中、低镉样本的 Cd-BAc 分别下降为 25.28%、24.18% 和 21.41%,这可能是因为肠道菌群在发酵过程中吸收或固化了溶出的镉,降低了消化液中的镉含量。Man 等<sup>[15]</sup> 建立全消化道仿生模型,基于生物有效性评价了香菇和双孢菇中金属元素的健康效益和风险,也发现肠道菌群发酵可进一

步降低 Cd-BAc。前期研究认为,膳食中的镉可被肠道微生物,如乳酸杆菌,通过离子交换和沉淀反应结合,以对抗金属毒性,因此 Cd-BAc 因微生物代谢而显著降低<sup>[24]</sup>。

根据表2,高、中、低不同镉含量样本之间在同一消化过程中 Cd-BAc 的变化趋势是不一致的。总体上,高镉样本在各消化过程中均具有最高的 Cd-BAc。除大肠发酵过程以外,中镉含量的 *B. griseus* 的 Cd-BAc 是最低的。这可能是不同镉含量样本间蛋白质、碳水化合物、氨基酸、酚酸、其他矿物质等含量有差异,进而影响 Cd-BAc。这个问题有待进一步研究。

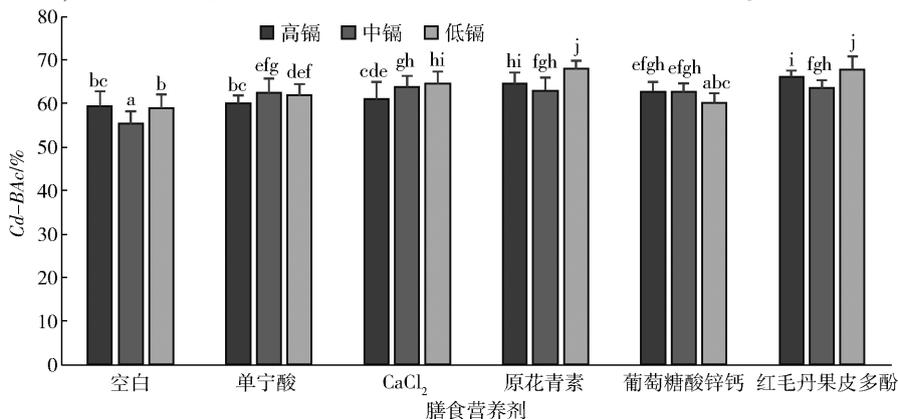
## 2.2 膳食营养剂对 *B. griseus* 中 Cd-BAc 的影响

### 2.2.1 膳食营养剂对胃部 Cd-BAc 的影响

5种膳食营养剂对 *B. griseus* 在胃部 Cd-BAc 的影响如图1。由图1可见,在5种膳食营养剂的干预下,*B. griseus* 在胃部的 Cd-BAc 均有所提高。高镉样本的 Cd-BAc 被提升至 60.02% ~ 66.14%,提升率为 1.11% ~ 11.32%;中镉样本被提升至 62.47% ~ 63.85%,提升率为 12.97% ~ 15.44%;低镉样本被提升至 60.20% ~ 67.95%,提升率为 2.12% ~ 15.27%。总体上,单宁酸和葡萄糖酸锌钙的影响较弱,原花青素和红毛丹果皮多酚影响较强。这可能是5种膳食营养剂在胃部强酸性环境中的溶解性和稳定性均较高,可通过螯合、协同等作用,辅助食物基质中的镉进一步溶出。这与 Fu 等<sup>[19]</sup> 的研究结果一致。

### 2.2.2 膳食营养剂对小肠部 Cd-BAc 的影响

5种膳食营养剂对 *B. griseus* 在小肠部 Cd-BAc 的影响如图2。由图2可见,5种膳食营养



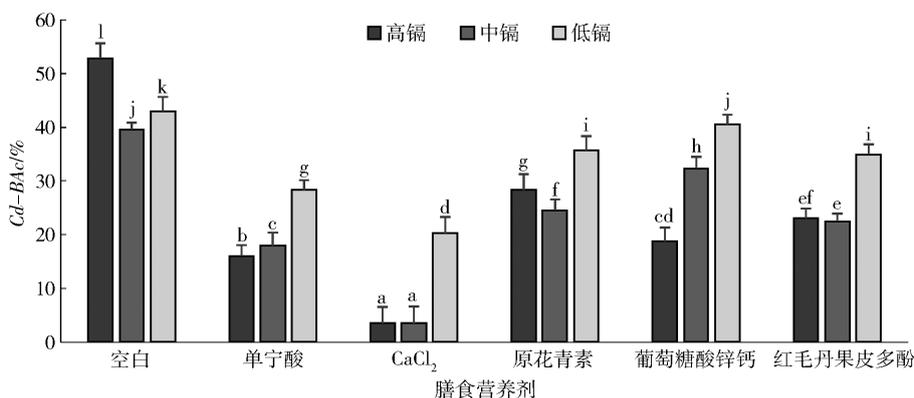
不同小写字母表示组间数据差异显著( $P < 0.05$ )。

图1 膳食营养剂对 *B. griseus* 在胃部 Cd-BAc 的影响

Fig.1 Effects of dietary nutrients on Cd-BAc of *B. griseus* during gastric digestion

剂显著降低了 *B. griseus* 在小肠部的 Cd-BAc ( $P < 0.05$ ), 分别被降低至 3.53% ~ 28.30%、3.54% ~ 32.36% 和 20.28% ~ 40.56%。整体上,  $\text{CaCl}_2$  和单宁酸对小肠部的 Cd-BAc 影响最显著, 降低率分别为 93.32% ~ 52.83% 和 34.17% ~ 69.60%。Sun 等<sup>[25]</sup> 研究发现, 单宁酸、 $\text{CaCl}_2$  等 8 种膳食营养剂能显著降低大米中 Cd-BAc, 其中单宁酸、 $\text{TiO}_2$ 、葡萄糖酸锌和  $\text{CaCl}_2$  的影响最为显著, 其降低率分别为 93% ~ 97%、54% ~ 61%、32% ~ 49% 和 24% ~ 32%。本研究中  $\text{CaCl}_2$  对 Cd-BAc 的影响最为显著, 这可能与食物基质自身性质有关。这个问题有待于进一步研究。Tang 等<sup>[26]</sup> 研究发现, 叶面喷施锌和硒均可显著降低轻度和中度镉污染空心菜在体外仿生消化中的 Cd-BAc。根据

文献, 5 种膳食营养剂可能利用自身的物理化学性质, 通过不同的方式影响镉在小肠消化液中的溶出水平。单宁酸富含羧基, 在中性至弱碱性的小肠液中, 易于解离释放  $\text{H}^+$ , 从而与阳离子  $\text{Cd}^{2+}$  相互作用, 将其沉淀、固化在食物基质中<sup>[25]</sup>。多酚等富含酚羟基的物质在生理 pH 环境下可通过酚羟基螯合、固化金属离子<sup>[27]</sup>。大量研究发现, 膳食中钙、锌、铁等必需元素含量不足可导致镉和铅的更高吸收率, 而充足的必需元素则可促进摄食镉的排泄。研究者认为, 这可能是由于钙、锌、铁等必需元素与镉、铅等具有相似的外层电子和性质, 能在小肠上皮细胞形成竞争性的吸收和转运<sup>[28-29]</sup>。根据本研究结果, 也可能是充足钙、锌等能在中性至弱碱性的小肠液中沉淀镉, 从而降低其被肠道吸收率。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图2 膳食营养剂对 *B. griseus* 在小肠部 Cd-BAc 的影响

Fig. 2 Effects of dietary nutrients on Cd-BAc of *B. griseus* during small intestinal digestion

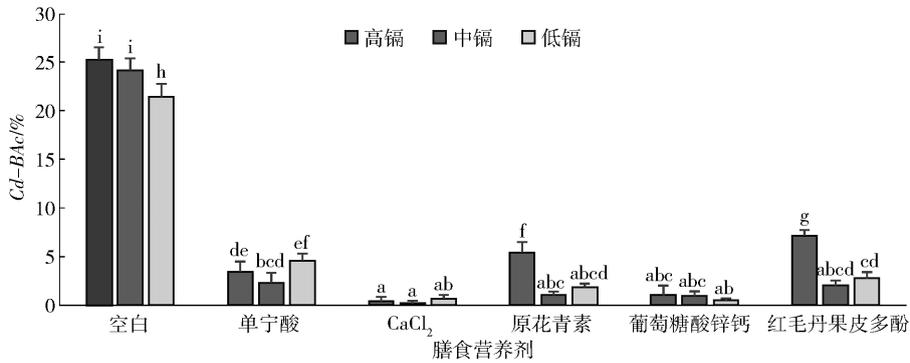
### 2.2.3 膳食营养剂对大肠菌群发酵阶段 Cd-BAc 的影响

5 种膳食营养剂对 *B. griseus* 在大肠菌群发酵过程中 Cd-BAc 的影响如图 3。由图 3 可见, 5 种膳食营养剂进一步显著降低了 *B. griseus* 在大肠菌群发酵过程中的 Cd-BAc ( $P < 0.05$ )。这可能是因为膳食营养剂对大肠菌群的发酵作用具有促进性能, 即益生元效应, 从而提升了大肠菌群对镉的吸收或沉淀, 进一步降低其在消化液中的溶出水平。含有  $\text{Ca}^{2+}$  的  $\text{CaCl}_2$  和葡萄糖酸锌钙的影响作用最强, 在其干预下 *B. griseus* 的 Cd-BAc 被降至 1.05%。目前利用体外仿生消化模型, 研究膳食成分对有害金属在大肠菌群发酵过程生物有效性影响的报道很少。Reeves 等<sup>[28]</sup> 利用动物模型研究发现, 膳食中补充钙、铁、锌等矿物质元素可显著降低大鼠对经口暴

露镉的肠道吸收率, 补充充足情况下, 镉吸收率为摄食量的 0.37%, 而膳食不足的情况下, 镉吸收率为摄食量的 1.35%。根据本研究结果, 膳食中补充充足的钙、铁、锌等矿物质元素可能也会通过对大肠菌群的益生作用进一步降低镉的溶出, 进而降低其吸收率。

### 2.3 *B. griseus* 中的镉对人体的健康风险评价

根据 *B. griseus* 菌体总镉含量、在不同消化阶段的 Cd-BAc 以及膳食营养剂干预下的 Cd-BAc, 对 *B. griseus* 中的镉进行健康风险评价。以 HQ 为评价参数, 当  $\text{HQ} \geq 1$  时, 表示 *B. griseus* 中的镉存在对人体产生不利影响的风险, 且 HQ 越大代表其给人体带来的风险越大; 当  $\text{HQ} < 1$  时, 表示不会产生风险<sup>[30]</sup>。各条件下 *B. griseus* 中镉的 HQ 如表 3。根据表 3, 依据菌体中总镉含量, 灰褐牛肝菌中富集的镉



不同小写字母表示组间数据差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图3 膳食营养剂对 *B. griseus* 在肠道菌群发酵中 Cd-BAC 的影响

Fig. 3 Effects of dietary nutrients on Cd-BAC of *B. griseus* during intestinal flora fermentation

对人体具有很高的健康风险。即便是考虑了在消化过程中的 Cd-BAC, 中、高镉含量的 *B. griseus* 依然呈现了较高的食用健康风险。即 *B. griseus* 富集的镉总体上具有较高的食用健康风险, 需要采取有效的措施控制和降低 *B. griseus* 中镉的食用健康风险。

表3 不同条件下灰褐牛肝菌中镉的 HQ

Tab. 3 Cadmium HQ of *B. griseus* under different conditions

|                   | HQ   |      |      |
|-------------------|------|------|------|
|                   | 高镉   | 中镉   | 低镉   |
| 总体                | 5.13 | 2.98 | 0.90 |
| 胃部                | 3.05 | 1.65 | 0.53 |
| 小肠部               | 2.73 | 1.24 | 0.38 |
| 大肠菌群发酵            | 1.52 | 0.88 | 0.17 |
| 单宁酸               | 0.18 | 0.07 | 0.04 |
| CaCl <sub>2</sub> | 0.02 | 0.01 | 0.01 |
| 原花青素              | 0.28 | 0.03 | 0.02 |
| 葡萄糖酸锌钙            | 0.05 | 0.03 | 0.00 |
| 红毛丹果皮多酚           | 0.37 | 0.06 | 0.02 |

根据表3, 考虑5种膳食营养剂干预后的镉的生物可给性, *B. griseus* 中镉的 HQ 值均降低至1以下, 为0~0.37, 表明其食用健康风险较低。Zhuang等<sup>[23]</sup>考虑了生物可给性以及其它膳食干预后的生物可给性, 对大米中的镉和砷进行健康风险评价, 发现一些膳食干预措施可降低大米中镉的食用健康风险。但是膳食干预措施的有效性需要进一步通过体内实验进行验证, 以支持膳食营养剂作为高镉食品加工或食用中健康风险控制的一种有效策略, 进而

能在工业生产上降低食品重金属污染导致的食品安全风险。

### 3 结论

自然生长的 *B. griseus* 中镉含量普遍较高, 均超出 GB2762—2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》对食用菌中镉的限量规定, 可能具有较高的食用健康风险。为进一步明确 *B. griseus* 中镉对人体的健康风险, 本研究建立了一种更简便、更易于量化的体外全仿生消化方法, 量化了 *B. griseus* 中 Cd-BAC, 以及膳食营养剂对镉生物可给性的影响; 并以此为基础, 以风险熵为参数定量评价了 *B. griseus* 中镉对人体的健康风险。以 *B. griseus* 中镉的总量计, 其对人体的健康风险很高, 即便是考虑 Cd-BAC, 风险熵依然较高。单宁酸、氯化钙等5种膳食营养剂可通过降低肠道 Cd-BAC 而调控其对人体的健康风险至可接受范围。因此, 可在高镉食品加工或食用过程中采用膳食营养剂干预等策略, 控制镉的潜在健康风险。

#### 参考文献:

- [1] 中国食用菌协会. 2020年度全国食用菌统计调查结果分析 [J]. 中国食用菌, 2022, 41: 85-91.  
Chinese Edible Fungi Association. Analysis of statistical survey results of edible fungi in China in 2020 [J]. Chinese Edible Fungi, 2022, 41: 85-91.
- [2] 赵迎春, 鲍长俊, 孙丽平. 云南省不同产地灰褐牛肝菌矿物质元素含量测定及相关性分析 [J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2017, 26: 349-354.

- ZHAO Y C, BAO C J, SUN L P. Determination and correlation analysis of mineral elements of *Boletus griseus* from different habitats in Yunnan province [J]. Journal of Yunnan University for Nationalities (Natural Science Edition), 2017, 26: 349–354.
- [3] SUN L, CHANG W, BAO C, et al. Metal contents, bioaccumulation, and health risk assessment in wild edible boletaceae mushrooms [J]. Journal of Food Science, 2017, 82: 1500–1508.
- [4] 鲍长俊, 常惟丹, 庄永亮, 等. 灰褐牛肝菌(*Boletus griseus*)子实体的营养评价及蛋白质组分分析[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 83–89.
- BAO C J, CHANG W D, ZHUANG Y L, et al. Nutritional evaluation and protein composition analysis of *Boletus griseus* fruiting body [J]. Food Science, 2017, 38(20): 83–89.
- [5] 肖俊江, 李鹏程, 庄永亮, 等. 多元统计法分析镉在土壤基质灰褐牛肝菌系统中迁移的影响因素[J]. 分析化学, 2021, 49(2): 301–308.
- XIAO J J, LI P C, ZHUANG Y L, et al. Multivariate statistics for investigation of factors affecting migrating of cadmium from soil [J]. Analytical Chemistry, 2021, 49(2): 301–308.
- [6] 庄永亮, 肖俊江, 孙丽平, 等. 食用菌对镉、铅、汞、砷生物富集状况研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2019, 37(3): 19–32.
- ZHUANG Y L, XIAO J J, SUN L P, et al. Research progress on bioenrichment of cadmium, lead, mercury and arsenic in edible fungi [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 37(3): 19–32.
- [7] VAZQUEZ M, CALATAYUD M, JADAN PIEDRA C, et al. Toxic trace elements at gastrointestinal level [J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 86: 163–175.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品安全性毒理学评价程序: GB 15193.1—2014 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- State Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National standard for food safety: procedures for toxicological assessment of food: GB 15193.1—2014 [S]. Beijing: China Standards Press, 2014.
- [9] 黄晓. 钙补充拮抗膳食镉暴露致骨毒作用的研究 [D]. 南京: 东南大学, 2019.
- HUANG X. Study on calcium supplementation antagonizing osteo toxicity caused by dietary cadmium exposure [D]. Nanjing: Southeast University, 2019.
- [10] YAO L, WANG Y, DENG Z, et al. Study on the bioaccessibility and bioavailability of Cd in contaminated rice *in vitro* and *in vivo* [J]. Journal of Food Science, 2021, 86: 3730–3742.
- [11] FAIRWEATHER-TAIT S, LYNCH S, HOTZ C, et al. The usefulness of *in vitro* models to predict the bioavailability of iron and zinc: a consensus statement from the harvestplus expert consultation [J]. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 2005, 75: 371–374.
- [12] VERSANTVOORT C H, OOMEN A G, VAN DE KAMP E, et al. Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food [J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43: 31–40.
- [13] ZHUANG P, ZHANG C, LI Y, et al. Assessment of influences of cooking on cadmium and arsenic bioaccessibility in rice, using an *in vitro* physiologically-based extraction test [J]. Food Chemistry, 2016, 213: 206–214.
- [14] ZHUANG P, SUN S, ZHOU X, et al. Bioavailability and bioaccessibility of cadmium in contaminated rice by *in vivo* and *in vitro* bioassays [J]. Science of the Total Environment, 2020, 719: 137453.
- [15] MAN S, ZHENG F Y, LI S X, et al. Benefit-risk assessment of metal bioavailability in edible fungi by biomimetic whole digestive tracts with digestion, metabolism, and absorption functions [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 126146.
- [16] ZHOU L, WANG W, HUANG J, et al. *In vitro* extraction and fermentation of polyphenols from grape seeds (*Vitis vinifera*) by human intestinal microbiota [J]. Food & Function, 2016, 7: 1959–1967.
- [17] 刘翠玲, 戴月, 赵琦. 农产品质量安全风险评估方法探索 [J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(6): 79–84.
- LIU C L, DAI Y, ZHAO Q. Study on risk assessment method of agricultural product quality and safety [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 34(6): 79–84.
- [18] GIRARD C, CHARETTE T, LECLERC M, et al. Cooking and co-ingested polyphenols reduce *in vitro* methylmercury bioaccessibility from fish and may alter exposure in humans [J]. Science of the Total Environment, 2018, 616–617: 863–874.
- [19] FU J, CUI Y. *In vitro* digestion/Caco-2 cell model to estimate cadmium and lead bioaccessibility/bioavailability in two vegetables: the influence of cooking and

- additives [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 59: 215–221.
- [20] FALANDYSZ J, BOROVICKA J. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms; health benefits and risks [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97: 477–501.
- [21] WANG C, DUAN H Y, TENG J W. Assessment of microwave cooking on the bioaccessibility of cadmium from various food matrices using an *in vitro* digestion model [J]. *Biological Trace Element Research*, 2014, 160: 276–284.
- [22] AZIZ R, RAFIQ M T, HE Z, et al. *In vitro* assessment of cadmium bioavailability in Chinese cabbage grown on different soils and its toxic effects on human health [J]. *BioMed Research International*, 2015, 2015: 285351.
- [23] ZHUANG P, SUN S, SU F, et al. Dietary strategies to reduce the oral bioaccessibility of cadmium and arsenic in rice [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25: 33353–33360.
- [24] KUMAR N, KUMAR V, PANWAR R, et al. Efficacy of indigenous probiotic *Lactobacillus* strains to reduce cadmium bioaccessibility: an *in vitro* digestion model [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2017, 24: 1241–1250.
- [25] SUN S, ZHOU X, LI Y, et al. Use of dietary components to reduce the bioaccessibility and bioavailability of cadmium in rice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68: 4166–4175.
- [26] TANG L, HAMID Y, LIU D, et al. Foliar application of zinc and selenium alleviates cadmium and lead toxicity of water spinach-bioavailability/cytotoxicity study with human cell lines [J]. *Environment International*, 2020, 145: 106122.
- [27] PEIXOTO R R A, DEVESA V, VELEZ D, et al. Study of the factors influencing the bioaccessibility of 10 elements from chocolate drink powder [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2016, 48: 41–47.
- [28] REEVES P G, CHANEY R L. Mineral status of female rats affects the absorption and organ distribution of dietary cadmium derived from edible sunflower kernels (*Helianthus annuus* L.) [J]. *Environmental Research*, 2001, 85: 215–225.
- [29] ZHAI Q, NARBAD A, CHEN W. Dietary strategies for the treatment of cadmium and lead toxicity [J]. *Nutrients*, 2015, 7: 552–571.
- [30] 万家悦, 彭位华, 贺希格都楞, 等. 镉在典型蔬菜可食部位富集特征及其健康风险评价 [J]. *中国计量大学学报*, 2019, 30(2): 255–264.
- WAN J Y, PENG W H, HE X G D L, et al. Enrichment characteristics and health risk assessment of cadmium in edible parts of typical vegetables [J]. *Journal of China Jiliang University*, 2019, 30(2): 255–264.

## Effects of Dietary Nutrients on Bioaccessibility and Health Risk of Cadmium in *Boletus griseus*

ZHANG Tingting, TAN Junjie, TIAN Zhen, ZHUANG Yongliang\*, SUN Liping  
(School of Food Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology,  
Kunming 650500, China)

**Abstract:** Focus on the problem of cadmium (Cd) enrichment in *Boletus griseus*, total Cd content in the *B. griseus* samples from three regions in Yunnan was investigated, and three *B. griseus* with different Cd contents (high, medium, and low) were selected to evaluate the bioaccessibility of Cd (Cd-BAc) in *B. griseus* by a more realizable and quantifiable *in vitro* whole biomimetic digestive method established in this study. The effects of five dietary nutrients, tannic acid, CaCl<sub>2</sub>, proanthocyanins, Zn/Ca gluconate and rambutan peel polyphenols, on Cd-BAc were studied, and the edible health risk of Cd in *B. griseus* was assessed based on total Cd contents and Cd-BAc. The results showed that there were high Cd contents in 53 *B. griseus* samples. The Cd-BAc during the gastric digestion was 55.30%–59.36%. The Cd-BAc was decreased to 39.59%–52.86% due to significantly reduced dissolution in the weakly alkaline and

nearly neutral environment of the small intestine. The Cd-BAC was further decreased to 21.41% – 25.28% by large intestinal flora fermentation. The five dietary nutrients had little effects on Cd-BAC during the gastric digestion, but significantly reduced Cd-BAC during the small and large intestinal flora fermentation, of which  $\text{CaCl}_2$  was the most effective. Based on the total Cd contents in *B. griseus*, the human Cd exposure risk hazard quotient (HQ) caused by medium Cd and high Cd content of *B. griseus* was 2.98 and 5.13, but considering Cd-BAC and the effects of five dietary nutrients, the HQ could be reduced to 0 – 0.37. The result indicated that the edible health risk of Cd in *B. griseus* was very high, and dietary nutrients could modulate its health risk to human by reducing its bioaccessibility in intestine. Therefore, dietary nutrients might be an effective strategy to control the health risks of Cd during the processing or consumption of foods with high Cd content. However, the effectiveness of this strategy requires further *in vivo* experimental verification.

**Keywords:** *Boletus griseus*; cadmium; bioaccessibility; dietary nutrients; health risk

(责任编辑:叶红波)

---

(上接第120页)

material with high value for utilization. Two typical kinds of calluses were induced from *Ampelopsis grossedentata* young leaves. The excellent calluses were successfully obtained by hormone optimization and successive screening, which were further used to develop the cell suspension culture system of *Ampelopsis grossedentata* leaf. The main polyphenols in the suspensively cultured cells were identified, and their antioxidant activities were evaluated in the meantime. Seven polyphenols were identified in the extracts of calluses by the UPLC – Q – TOF MS/MS and HPLC detection, while ten polyphenols were identified in the suspensively cultured cells. Three polyphenols including proanthocyanidin B1, (+)-catechin, epigallocatechin gallate were found both in calluses and cells with high concentration, among which epicatechin gallate was the most abundant compound, whose contents reached 5 020.965  $\mu\text{g/g}$  and 1 044.725  $\mu\text{g/g}$  in calluses and cells, respectively. In addition, total polyphenols extracts from the suspensively cultured cells displayed strong antioxidant activities, with  $\text{IC}_{50}$  values of 30.681  $\mu\text{g/mL}$  and 3.685  $\mu\text{g/mL}$  respectively in the  $\text{ABTS}^+$  and DPPH free radical scavenging tests. What's more, both the DPPH radical scavenging and total reduction ability of the polyphenol extracts were significantly stronger than vitamin C under the same mass concentration, which were mainly attributed to epicatechin gallate and (+)-catechin. It was hoped that this study would provide a reference for the culture of *Ampelopsis grossedentata* leaf cells and the regulation of its polyphenolic secondary metabolite synthesis.

**Keywords:** *Ampelopsis grossedentata* leaf; vine tea; callus; suspension culture; cell; polyphenol

(责任编辑:李 宁)