

仿生研究食品中铝的体内迁移分配及其生物利用率评价

张 境^{1,2*}, 胡雨婷³, 汤小蕾¹, 冯柳媛¹, 张佳琪¹

(1. 浙江医药高等专科学校食品学院, 宁波 315100; 2. 浙江医药高等专科学校功能食品研究所, 宁波 315100;
3. 宁波谱尼测试技术公司, 宁波 315000)

摘 要: **目的** 重新界定食品铝进入人体后的形态(水溶态和单层脂质体亲和态), 分别考察食品铝(粉条和千层饼)在胃肠中的溶出率及其迁入体循环系统的比率(生物利用率)。**方法** 以“仿生胃肠消化、仿脂质体生物膜亲合吸附”为模型, 对食品中铝在人体内的迁移分配进行了体外仿生消化研究。**结果** 被测食品中铝在胃肠溶液中的溶出率为 31.0%~42.5%, 单层脂质体亲和态占比为 69.4%~76.8%。**结论** 食品铝在人体中具有与食品基质和体内环境相适应的生物可给性和生物利用率, 不能以食品中铝的总量测定简单代替。因此, 对于铝的每周耐受摄入量的确定应在同时考虑人体消化系统溶出率和食品铝的生物有效性的基础上制定。

关键词: 铝; 体外仿生消化; 生物可给性; 生物利用率; 每周耐受摄入量

Study of migration and distribution of aluminum from foods by *in vitro* biomimetic digestion and bioavailability assessment

ZHANG Jing^{1,2*}, HU Yu-Ting³, TANG Xiao-Lei¹, FENG Ye-Yuan¹, ZHANG Jia-Qi¹

(1. Faculty of Food Science, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; 2. Institute of Functional Food Research, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; 3. PONY Testing International Group, Ningbo 315000, China)

ABSTRACT: Objective To redefine the form of food aluminum (water-soluble and monolayer liposome affinity) after entering the human body, and investigate the dissolution rate of food aluminum (vermicelli and lasagna) in the gastrointestinal tract and the ratio of its migration into the systemic circulation system (bioavailability). **Methods** The migration and distribution of aluminum from foods in human body were studied with an *in vitro* biomimetic digestion model. Digestion and absorption in the gastrointestinal tract were simulated by bionic gastrointestinal digestion and bionic biomembrane absorption with liposome. **Results** The dissolution rate of aluminum in the gastrointestinal tract was 31.0%~42.5%, in which, the rate of the affinity-liposome Al accounted for 69.4%~76.8%. **Conclusion** Aluminum has a bioaccessibility and bioavailability adapted to the food matrix and *in vivo* environment of human body, which could not be simply replaced by the total amount of aluminum in food. As a result, both the dissolution rate and the bioavailability of aluminum from food in the digestion system should be simultaneously taken into account for the establishment of the provisional tolerable weekly intake of aluminum.

基金项目: 浙江省食品药品监督管理局科技项目(NO.2014016)

Fund: Supported by Science and Technology Planning Project of Zhejiang Food and Drug Administration (No.2014016)

*通讯作者: 张境, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: zhangj674842@yeah.net

*Corresponding author: ZHANG Jing, Associate Professor, Zhejiang Pharmaceutical College, No.888, East Section of Yinxian Avenue, Gaojiao Park (South District), Ningbo 315000, China. E-mail: zhangj674842@yeah.net

KEY WORDS: aluminum; *in vitro* biomimetic digestion; bioaccessibility; bioavailability; weekly tolerable intake

1 引 言

铝是地壳中的丰量元素,但不是人体的必需元素,而且对人体没有任何生理功能^[1,2]。工业生产中,因它具有低密度和自钝化等特点得以广泛应用^[3]。铝与铝盐也曾被认为是人体不能吸收、不具有急性毒性的,在食品工业中的应用更是随处可见,如食品添加剂、食品接触材料、水处理絮凝剂、炊具、食品容器等等^[4-6]。但自 20 世纪 70 年代以来,分析技术发展和铝毒性效应报道的增多,人们开始逐渐认识并关注铝的生物学毒副作用,如铝的神经毒性、骨骼毒性、肾毒性等^[7]。

食品中铝的来源主要有饮用水、天然食物本底、食品添加剂和烹调制作器具。而膳食铝暴露是人体摄入铝的重要来源之一。对于人体来说,如同其他污染物,铝只有从食品中释放出并被生物利用才能产生毒副作用^[8]。但无论何种形式的食品中铝的研究目前多集中在体外及其全量测定,进入人体后究竟有多少可以被吸收利用尚未见研究报告^[9,10]。因此,不能充分了解铝的生物利用率,妨碍了对人体摄取铝元素的准确风险评估。

同时,铝元素在人体的消化和吸收,以及生物可给性和生物利用率的评估与其存在形态也密切相关。但是目前铝形态的研究主要是针对水体、土壤和植物,而且形态的界定是根据分子量分布,如无机态、有机态、悬浮态和可溶态等^[11],无法将其合理用于食品中的铝元素在人体消化系统中的作用机制和生物可给性、利用度评估。本研究根据食品铝进入人体后的迁移方向不同,首先对于进入人体的食品铝形态进行划分,然后分别考察了食品铝的生物可给性和生物有效性,此结果将为食品铝风险控制提供有意义的指导,从而进一步延伸到更多种重金属体内迁移分配规律的研究,更准确的制定出相应元素的每周耐受摄入量。

2 材料与方 法

所有的试剂除非特殊说明均为分析纯(国药集团),玻璃器具在使用前均于 10%的稀硝酸中浸泡 24 h 后使用。

2.1 材料与仪器

PE NexION 300X 电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)(美国 PE 公司); CEM MARS6 微波消解仪(美国 CEM 公司); IKA RV10 旋转蒸发仪(德国 IKA 公司); Bluepard 恒温振荡器(杭州格梭科学仪器有限公司); 超低温冰箱(中国海尔集团); Eppendorf Centrifuge 5804R 高速离心机(德国 Eppendorf 公司); METTLER FE-20K pH 计(瑞士 METTLER TOLEDO 集团);

Milli-Q 净水器(德国默克密理博公司)。

铝标准溶液(GSB 04-1713, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 浓硝酸、浓盐酸(优级纯, 美国 Thermo Fisher 公司); 淀粉酶(50 U/mg)、尿酸(纯度 $\geq 96\%$)、粘液素、牛血清蛋白(纯度 $\geq 96\%$)、胃蛋白酶(800~2500 U/mg 蛋白)、胰液素、脂肪酶和胆汁(美国 Sigma 公司); 卵磷脂(中国医药集团上海化学试剂公司); 消化液由超纯水配制。

红薯粉条和千层饼: 超市购买。

2.2 仿生消化食糜制备

2.2.1 胃、肠仿生消化液

胃肠仿生消化液制备参照文献^[8], 各仿生体液 pH 分别为: 唾液 6.80~6.90; 胃液 1.30~1.32; 十二指肠液 7.80~7.90; 胆汁 8.00~8.02。

2.2.2 胃肠体外仿生消化食糜制备

(1) 胃食糜

准确称取样品 4.5 g(准确至 0.0001 g)于圆底烧瓶中, 加唾液 10 mL(pH=7), 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡 5 min, 加胃液 50 mL(pH=2~3), 振荡 2 h, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 得胃体外仿生消化食糜, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

(2) 胃肠食糜

准确称取样品 4.5 g(准确至 0.0001 g)于圆底烧瓶中, 与上述方法相同得到胃食糜, 然后继续加入十二指肠液 50 mL 和 25 mL 胆汁(pH=8), 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡 8 h, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 得肠体外仿生消化食糜, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

2.3 仿生消化食糜在单层脂质体-水体系中的分配行为

称取约 0.1 g(准确至 0.01 g)蛋黄卵磷脂, 溶于 5 mL 氯仿, 然后将此溶液转移至圆底烧瓶, 于旋转蒸发仪上蒸发旋转 10 min, 形成均匀薄膜。分别量取胃、肠的仿生消化食糜各 25 mL, 加入到卵磷脂膜层中, 轻轻振荡, 至脂质体膜层全部融入食糜中, 于-71 $^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中冻融 3 次(冷冻 20 min, 37 $^{\circ}\text{C}$ 融化)。冻融后以低温高速离心机离心, 分离出脂质体沉淀和上清液。此时, 从样品迁移进入人体的以不同形态存在的铝(水溶态铝和脂质体亲和铝)分别留存于水相上清液和单层脂质体膜相中。

2.4 试样中铝含量测定

称取适量待试样(粉条、千层饼, 胃、肠仿生消化食糜, 脂质体沉淀及其上清液)(准确至 0.0001 g)于消解罐中, 加入 8.0 mL HNO_3 和 1.5 mL HCl , 预消解 30 min 后转移至微波消解仪中消解(升温程序为 27 min 内由室温升至 185 $^{\circ}\text{C}$, 在 185 $^{\circ}\text{C}$ 保持 20 min), 冷却至室温, 于 150 $^{\circ}\text{C}$ 条件下赶酸至 1 mL 左右, 用超纯水转移至 25 mL 容量瓶中定容至刻度。同时做试剂空白,

ICP-MS 测定样品中 Al 含量。每个样品均测定 3 份。

3 结果与分析

3.1 食品铝含量的测定

食品中铝的检测方法主要有比色法、原子吸收光谱法和电感耦合等离子质谱法。其中比色法的样品前处理操作繁琐,显色不稳定;石墨炉原子吸收光谱法则需制作特殊涂层的石墨炉和选择合适的基体改进剂,操作复杂。而电感耦合等离子质谱法操作简便,定量准确,安全稳定,正被食品分析领域广泛应用,并列于 GB 5009.182-2017《食品安全国家标准 食品中铝的测定》^[12]。表 1 中文献结果表明,多种食品样品以微波消解-ICP-MS 法测定其中铝含量,均得到了准确度高,精密度好的结果,说明样品预处理及测定方法准确、可靠。因此,本研究采用微波消解-ICP-MS 法对市场上购买的粉条进行铝含量测定。以浓度为横坐标,质谱强度为纵坐标,标准曲线为: $Y=30422X+64337$, $r^2=1$ 。样品铝含量为 123.4 mg/kg, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值为 3.2%($n=4$),与中国传统食品-粉条中的典型铝含量水平相当。

表 1 文献中以微波消解-ICP-MS 法测定食品中铝的加标回收率与精密度

Table 1 Recoveries and accuracies of aluminum determined in foods by microwave digestion-inductively coupled plasma-mass spectrometry reported in literature

样品	加标回收率/%	RSD/%	文献
干米粉	91.6	3.4	[13]
红薯粉条	92.1	1.6	[14]
挂面	96.8	1.8	[15]
蔬菜	102	2.9	[16]

3.2 胃、肠消化食糜中铝含量及其生物可给性

生物可给性是指污染物在胃肠环境中可以溶出的比例,反映污染物能被人体吸收的相对量。食物经胃、肠消化首先转化为食糜,只有进入食糜中的铝的化合物才能接触胃肠道细胞膜,在胃肠环境溶出,进一步被人体吸收。而食品种类、铝元素存在形态,胃肠的酸、碱微环境及其中的有机物和无机物,微生物均会影响铝的溶出率^[17,18]。本研究测定粉条中的铝经胃肠消化后其溶出量分别为 5.35 $\mu\text{g/g}$ 和 1.75 $\mu\text{g/g}$, 溶出率从 57.8%降至 42.5%(图 1)。说明对于此种食品,胃液中食品铝的溶出率较高,具有相对较高的生物可给性。如果直接以摄入铝的总量作为生物可给性评估的依据,则其生物可给性将增加近 1 倍,其合理性值得商榷。主要原因是人体实际状况是摄入的铝并非完全被吸收利用^[19]。

3.3 食品态铝在单层脂质体-水体系中的迁移分配及其生物有效性评价

金属元素配合物在人体的消化吸收与其存在形态有

关^[19];而食糜中的金属元素只有与胃肠细胞膜结合,才能吸收并进入血液循环。因此本研究以单层脂质体为生物膜模型,将进入人体的食品态铝进行重新界定:单层脂质体亲和态铝和水溶态铝;以单层脂质体亲和态铝含量作为生物有效性,即安全性评价的依据。

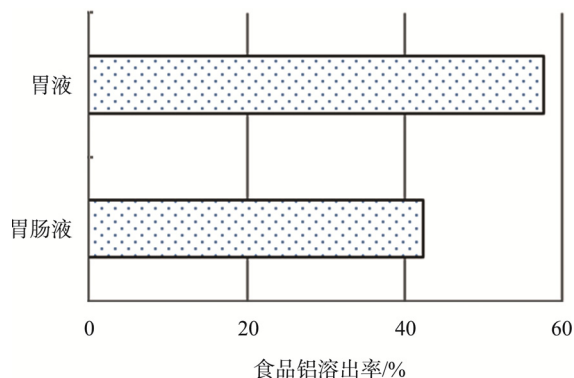


图 1 胃液和胃肠液中测得粉条中铝的溶出率($n=3$)

Fig.1 Dissolution rate of aluminum in gastric and gastrointestinal fluids ($n=3$)

本研究测定粉条中铝经胃肠消化在单层脂质体-水体系经迁移分配,胃液中单层脂质体亲和态铝含量为 15.0 $\mu\text{g/g}$,水溶态铝含量为 2.6 $\mu\text{g/g}$;可能进入体循环的食品铝的比例为 40.3%。胃肠液中单层脂质体亲和态铝含量为 20.1 $\mu\text{g/g}$,水溶态铝含量为 0.1 $\mu\text{g/g}$;可能进入体循环的食品铝的比例为 76.8%。从此结果可看出,无论在胃部还是肠道部位,食品铝都有相对较高的生物有效性,即具有较强的可能毒性。为了进一步证明食品铝的上述迁移分配规律,取市售千层饼(面制品)在同样条件下进行实验,结果见表 2,胃肠消化液中的生物可给性分别为 22.9%和 31.0%;脂质体亲和态的含量分别为 47.2 $\mu\text{g/g}$ 和 31.2 $\mu\text{g/g}$,生物有效性分别是 101.9%和 69.4%。被测食品中铝在胃肠溶液中的溶出率为 31.0%~42.5%,单层脂质体亲和态占比为 69.4%~76.8%。食品基质、加工过程等的差异使铝元素在肠胃中的迁移规律产生了一些变化,但是仍然可以说明从食品中摄入的铝元素的总量并不能真实反映铝元素的生物可给性和生物有效性。

基于上述实验,对 JECFA 建立的铝的每周耐受摄入量(provisional tolerable weekly intake, PTWI 值)(2 mg/kg·bw·week)的可行性进行探讨,若一个人体重 60 kg,那么此人平均每天铝的摄入量即不能超过 17 mg。在胃肠中食品铝的溶出率按照 30%计算,脂质体亲和态铝占比约为 75%(76.8%),则 17 mg 的铝中将有 3.8 mg 可能进入血液循环。人体内的血容量大约是体重的 7%~8%,60 kg 的人的血容量约为 4.2~4.8 L,由此计算血铝浓度将达到 792~905 $\mu\text{g/L}$,这是一个非常高的血铝浓度值,会给人体健康带来严重危害。因此,建议在大量模型实验基础上,将铝元素的人体每周耐受摄入量的计算方式重新定义,而非以经验值计算^[19]。即:

表 2 千层饼中铝的迁移分配实验结果
Table 2 The experimental results of migration and distribution of aluminum determined in lasagna

样品铝含量 ($\mu\text{g/g}$)	溶出率/%		水溶态铝含量/ $(\mu\text{g/g})$		脂质体亲和态铝含量/ $(\mu\text{g/g})$	
	胃液	胃肠液	胃液	胃肠液	胃液	胃肠液
159.8	22.9	31.0	0	0	47.2	31.2

周耐受摄入量 =

$$\left(\frac{\text{血铝安全浓度水平} \times \text{人体血液体积}}{\text{食品铝的人体消化系统溶出率} \times \text{进入体液循环的比例}} \right) \times 7$$

人体重

4 结论与讨论

仿生胃肠消化、仿脂质体生物膜亲合吸附模型对食品中铝在人体内的迁移分配及消化吸收的研究结果表明, 食品铝在胃肠体系有较高的生物可给性和生物有效性, 分别达到 20% 和 40% 以上, 但其并非指摄入的食品铝的总含量。PTWI 值应在大量模型实验基础上, 进行重新计算和定义, 以期科学评估人体对铝的摄入安全性提供有价值参考和后期系统研究的思路。

参考文献

- [1] YıldızE, SaçmacıŞ, Saçmacı M, *et al.* Synthesis, characterization and application of a new fluorescence reagent for the determination of aluminum in food samples [J]. *Food Chem*, 2017, 237: 942–947.
- [2] Finglas, Paul M. *Encyclopedia of food sciences and nutrition* [J]. *Pediatr Res*, 2003, 43: 46–46.
- [3] Dubey S, Agrawal M, Gupta AB. Advances in coagulation technique for treatment of fluoride-contaminated water: A critical review [J]. *Review Chem Eng*, 2018, 1–29.
- [4] Ogimoto M, Suzuki K, Haneishi N, *et al.* Aluminium content of foods originating from aluminium-containing food additives [J]. *Food Addit Contam B*, 2016, 9(3): 185–190.
- [5] Mohammed FS, Zubaidy E, Bassioni G. Effect of pH, salinity and temperature on aluminum cookware leaching during food preparation [J]. *Int J Electrochem Sc*, 2011, 6(12): 6424–6441.
- [6] Huser BJ, EgemoseS, Harper H, *et al.* Longevity and effectiveness of aluminum addition to reduce sediment phosphorus release and restore lake water quality [J]. *Water Res*, 2016, 97: 122–132.
- [7] Inan-Eroglu E, Ayaz A. Is aluminum exposure a risk factor for neurological disorders? [J]. *J Res Med Sci*, 2018, 23(1): 51–58.
- [8] Versantvoort CH, Oomen AG, Vand KE, *et al.* Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food [J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43(1): 31–40.
- [9] Franková A, Drábek O, Havlík J, *et al.* The effect of beverage preparation method on aluminium content in coffee infusions [J]. *J Inorg Biochem*, 2009, 103(11): 1480–1485.
- [10] 孙亚真, 尤芳芳, 王丽莉, 等. 面制食品中铝含量两种方法测定结果的比较 [J]. *食品工业*, 2016, 37(2): 174–176.
Sun YZ, You FF, Wang LL, *et al.* Comparison of the results of aluminum content in flour foods by two different methods [J]. *Food Ind*, 2016, 37(2): 174–176.
- [11] Ziola-Frankowska A, Frankowski M. Speciation analysis of aluminium in plant parts of *betula pendula* and in soil [J]. *J Environ Sci*, 2018, 65(3): 153–161.
- [12] GB 5009.182-2017 食品安全国家标准 食品中铝的测定[S].
GB 5009.182-2017 National food safety standard-Determination of aluminum in food [S].
- [13] 陈素彬. 微波消解-ICP-MS 法测定米粉中铝含量的优化改进[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(10): 145–149.
Chen SB. Improvement of microwave digestion-ICP-MS method for determination of aluminum content in rice flour [J]. *Food Res Dev*, 2017, 38(10): 145–149.
- [14] 罗诚, 申磊, 吴泽君. ICP-MS 法测定市售红薯粉条中铝和钛[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(10): 240–245.
Luo C, Shen L, Wu ZJ. Determination of aluminum and titanium in sweet potato vermicelli by ICP-MS [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39(10): 240–245.
- [15] 孙宁. 分光光度法与 ICP-MS 法测定面粉中铝含量[J]. *粮油食品科技*, 2017, 25(1): 51–53.
Sun N. Determination of aluminum content in flour products by spectrophotometry and ICP-MS [J]. *Sci Technol Cere Oils Foods*, 2017, 25(1): 51–53.
- [16] 黎施展. 电感耦合等离子体质谱法检测蔬菜中的 5 种有害金属元素[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(10): 150–153.
Li SZ. Determination of five harmful elements in vegetable by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Food Res Dev*, 2017, 38(10): 150–153.
- [17] 徐笠, 陆安祥, 王纪华, 等. 食物中重金属的生物可给性和生物有效性的研究方法和应用进展[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(1): 89–97.
Xu L, Lu AX, Wang JH, *et al.* Research methods and applications of bioaccessibility and bioavailability of heavy metals in food [J]. *Asian J Ecotoxicol*, 2017, 12(1): 89–97.
- [18] 陈丽惠, 李顺兴, 牟洋, 等. 仿生技术在转基因大豆中镍形态分析和生物可给性评价中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(11): 3075–3078.
Chen LH, Li SX, Mou Y, *et al.* Application of bionic technology to

speciation analysis and bioavailability assessment of nickel in transgenic soybean [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2013, 33(11): 3075–3078.

- [19] Ma N, Liu ZP, Yang DJ, *et al.* Risk assessment of dietary exposure to aluminum in Chinese population [J]. *Food Addit Contam A*, 2016, 33(10): 1557–1562.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



张 境, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: zhangj674842@yeah.net