

大米中铅的体外生物有效性测定方法的建立

夏 季^{1,2,3} 陈 悦^{1,2,3} 李 慧⁴

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省粮油品质控制及加工技术重点实验室, 江苏 南京 210023; 3. 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心, 江苏 南京 210023; 4. 上海微谱检测认证有限公司南京分公司, 江苏 南京 210023)

摘要: [目的] 建立一种简洁测定铅的生物有效性的方法, 并将其应用于大米中铅的生物有效性评价。[方法] 探究口腔相、胃相和肠相体外消化中的 pH 值、消化酶及消化时间对铅释放量的影响, 并将其与 Caco-2 细胞相结合测定大米中铅的生物有效性及生物利用率。[结果] 在体外模拟胃肠相消化时, 最适体外模拟消化条件为胃相 pH 为 1.5, 加入胃蛋白酶, 消化 2 h; 肠相 pH 为 7.0, 加入胰蛋白酶消化 4 h; 以 Caco-2 细胞的表面微绒毛结构、碱性磷酸酶比值及跨膜电阻值为指标构建体外模拟肠相消化模型, 并以大米为样品, 测得蒸煮前后大米在胃相中铅的生物利用率分别为 64.94%~78.70% 和 57.06%~72.20%, 在肠相中铅的生物利用率分别为 22.94%~33.77% 和 21.23%~27.24%, 在肠相中生物有效性分别为 2.37%~6.28% 和 1.57%~4.09%。[结论] 试验建立的方法可用于大米中铅的生物有效性评价, 蒸煮能够降低大米在胃肠消化吸收过程中铅的生物利用率和生物有效性, 大米中的铅只有极少部分可以通过循环进入身体各处。

关键词: 铅; 大米; 体外消化; 生物利用率; 生物有效性; 重金属检测

Establishment of *in vitro* bioavailability determination method of lead in rice

XIA Ji^{1,2,3} CHEN Yue^{1,2,3} LI Hui⁴

(1. College of Food Science & Engineering, Nanjing University of Finance & Economics, Nanjing, Jiangsu 210023, China; 2. Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing, Nanjing, Jiangsu 210023, China; 3. Cooperative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Security of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210023, China; 4. Shanghai WEIPU Testing Technology Group Co., Ltd., Nanjing, Jiangsu 210023, China)

Abstract: [Objective] To establish an effective and concise method for determining the bioavailability of lead and apply it to the evaluation of lead bioavailability in rice. [Methods] The study investigates the effects of pH, digestive enzymes, and digestion time in *in vitro* digestion on the release of lead in the oral phase, gastric phase, and small intestinal phase. Meanwhile, it determines the bioaccessibility and bioavailability of lead with Caco-2 cells. [Results] The results show that the optimal *in vitro* digestion conditions are pH 1.5 with pepsin addition and digestion for 2 hours in the gastric phase and pH 7.0 and digestion for 4 hours in the small intestinal phase. The ratio of alkaline phosphatase activity, transmembrane resistance, and the surface microvillus structure of Caco-2 cells are used to establish the *in vitro* simulation model of small intestinal phase digestion. Simultaneously, the bioaccessibility of lead in raw and cooked rice is 64.94%~78.70% and 57.06%~72.20%, respectively in the gastric phase and 22.94%~33.77% and 21.23%~27.24%, respectively in the intestinal phase. Meanwhile, the bioavailability in the small intestinal phase is 2.37%~6.28% and 1.57%~4.09%, respectively. [Conclusion] The method established in this study can be used to evaluate the bioavailability of lead in rice. In addition, cooking can reduce the bioaccessibility and bioavailability of lead in rice during gastrointestinal digestion and absorption, and only a small fraction of lead in rice can enter the body

基金项目: 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(编号: PAPD)

通信作者: 夏季(1992—), 男, 南京财经大学实验师, 硕士。E-mail: xiaji1992@foxmail.com

收稿日期: 2025-03-18 改回日期: 2025-08-19

引用格式: 夏季, 陈悦, 李慧. 大米中铅的体外生物有效性测定方法的建立[J]. 食品与机械, 2026, 42(1): 36-42.

Citation: XIA Ji, CHEN Yue, LI Hui. Establishment of *in vitro* bioavailability determination method of lead in rice[J]. Food & Machinery, 2026, 42(1): 36-42.

through the circulation.

Keywords: lead; rice; *in vitro* digestion; bioaccessibility; bioavailability; detection of heavy metals

铅是6种常见的有色重金属之一,灰色,柔软,延展性好,在工业领域有着广泛的应用。铅是不可降解的环境污染物,半衰期长,在环境中长期滞留。全膳食结构分析表明,国民膳食中的铅主要来自谷物和蔬菜,中国的茶叶、蔬菜、粮食作物因土壤、环境条件的影响,会不同程度地受到重金属铅的污染^[1]。相较于其他粮食作物,水稻更易从外界环境中吸收并积累铅等重金属。Fang等^[2]对大米和食用菌中常见的铅、镉、砷和汞4种重金属进行了研究并评价其污染程度和食用安全性,发现有4.3%,3.3%,2.2%的水稻样品中铅、镉和砷含量超标。代永霞^[3]对赤峰市市售大米中重金属污染现状进行调查,发现69份样品中有一份铅含量超标,且铅检出率为26.1%。

目前,已确知铅和所有的铅化合物均具有毒性。铅中毒的病理过程涉及神经系统、造血系统、泌尿系统、心血管系统、生殖系统、骨骼系统、内分泌系统、免疫系统、酶系统、胃肠道系统等多系统的机能损减^[4-5]。铅的毒性评价不仅与铅摄入的绝对量有关,更与实际被吸收而发挥作用的铅含量直接密切相关。常见的铅效用评价方法有化学浸提法、植物指示法、微生物测定法、体外消化法、动物一细胞模型法、流行病学调查法等^[5-6]。其中体外消化法和动物一细胞法均是基于对铅的体内吸收环境一胃肠道的模拟来研究铅的代谢和转运规律,常被用于进行比较研究^[7]。

常见的模拟体外消化方法有仅模拟胃部消化的一步消化法,模拟胃相、肠相消化的二步消化法,还有模拟口腔相、胃相、肠相消化的三步消化法。由于人体消化液的组成复杂,消化环境的多样性,国内外众多学者对于体外模拟消化的流程及消化液组成并没有一个统一的标准。Ruby等^[8]研究了胃相pH值对铅等重金属生物利用率的影响,并将体外模拟消化试验与动物试验进行对比,结果发现在胃液pH值为2.5时,体外模拟消化的结果与动物试验结果最具有有一致性。李仪^[9]采用3种体外模拟消化方法测定土壤中铅、铜和锌的生物利用率,并系统探究了消化酶对于胃肠体外消化过程中重金属生物利用率的影响。

人结肠腺癌细胞系(Caco-2)细胞模型的构建是将打散的Caco-2细胞悬液接种在铺有聚碳酸酯膜的小室上侧,经过培养使细胞产生类似肠道细胞的形态学和生物学上的分化,在分化的过程中,Caco-2细胞会在细胞表面产生与小肠刷状缘相关的酶系和微绒毛结构,并在细胞与细胞之间产生紧密的连接。由于其性质稳定,可以维持20 d左右,因此被广泛用于模拟人体对于各种营养物质如糖类、脂肪、小分子蛋白质以及一些人体所需要的矿物质

元素的吸收的研究^[10-11]。近年来,大多数有关铅的毒性以及人体对铅的吸收的研究均集中于动物试验,但体外试验方法较多,尚未有一种统一、简单、高效的方法来评价人体摄入食物中的铅生物有效性。

试验拟模拟铅进入人体被吸收的过程,考察口腔相、胃相和肠相中的pH值、消化酶及消化时间等对铅的生物有效性的影响,并将其与Caco-2细胞相结合,建立一种能够测定铅的生物有效性的方法,旨在为粮食中铅等重金属的食用安全性评价标准提供一些新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

含铅大米:在种植土壤中分别加入0,1,10,40 g/kg的PbCl₂,南京农业大学资源与环境学院盆栽种植;

大米标准物质(GBW10043 辽宁大米):国家标准物质中心;

Caco-2:中科院上海细胞生物学研究所;

尖底离心管:15,50 mL,南京大光明器材有限公司;

430659型细胞冻存管、12孔聚碳酸酯膜转运细胞培养板:美国Coring公司;

人源唾液淀粉酶、猪胃蛋白酶、胰蛋白酶(≥2 500 U/mg)、猪胆盐、胎牛血清:美国Sigma公司;

氯化钾、磷酸二氢钠、碳酸钠、柠檬酸钠、氯化钠、冰醋酸、乳酸、盐酸:优级纯,国药集团化学试剂有限公司;

杜尔贝科改良伊格尔培养基(DMEM):美国Hyclone公司;

青链霉素:青霉素10 000 U/mL,链霉素10 mg/mL,北京索莱宝科技有限公司;

PBS缓冲液:pH 7.2,北京索莱宝科技有限公司;

汉克平衡盐溶液(HBSS)、二甲基亚砜(DMSO):北京索莱宝科技有限公司;

噻唑蓝(MTT):美国Gibco公司;

碱性磷酸酶试剂盒:南京建成生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

二氧化碳细胞培养箱:Forma 8000系列,赛默飞世尔科技有限公司;

冷冻高速离心机:Sorvall Stratos型,赛默飞世尔科技有限公司;

酶标仪:i-mark型,美国伯乐公司;

倒置显微镜:Axio Vert.A1型,卡尔·蔡司股份有限公司;

电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS):7700x型,美国安捷伦公司;

台式扫描电镜:TM 3000型,日本日立公司;

生物安全柜:B2型,赛默飞世尔科技有限公司;
恒温振荡器:HLC型,德国Ditabis公司;
超纯水仪:MilliQ型,电阻18.2 MΩ,密理博中国有限公司;

上皮跨膜细胞电阻仪:Millicell-ERS型,密理博中国有限公司。

1.3 方法

1.3.1 体外模拟胃肠消化 根据Raffaniello等^[12]的方法并修改胃肠消化液的组成,详见表1。

表1 体外模拟消化液的组成

Table 1 The composition of in vitro digestion

消化液	组成
口腔相	氯化钾0.900 g、磷酸二氢钠0.900 g、氯化钠8.766 g、唾液淀粉酶0.500 g、蒸馏水100 mL
胃相	柠檬酸钠0.500 g、乳酸0.42 mL、冰醋酸0.50 mL、氯化钠8.766 g、胃蛋白酶1.500 g、蒸馏水100 mL
肠相	碳酸氢钠15.0 g、猪胆盐50 mg、胰蛋白酶150 mg、蒸馏水100 mL

1.3.2 样品制备 取0.500 g大米样品于锥形瓶中,加入5.0 mL超纯水,分别于80,37℃水浴30 min,待流水冷却后备用。

1.3.3 口腔相消化 取1.3.2中的熟制样品与未进行熟制的样品,加入10.0 mL口腔消化液,37℃水浴中振荡10 min,离心15 min后取上清5 mL。

1.3.4 胃肠相消化中pH值对铅生物利用率的影响 用0.1 mol/L的HCl将胃相pH值分别调为0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0后,37℃水浴振荡3 h,4 000 r/min离心15 min,取5 mL上清。

用饱和NaHCO₃将肠相pH值调至5.5,6.0,6.5,7.0,7.5,8.0后,37℃水浴振荡5 h,4 000 r/min离心15 min,取5 mL上清。

1.3.5 胃肠相消化中消化液组成对铅生物利用率的影响 将胃相pH调至最适pH值,分别加入100 mL蒸馏水、胃蛋白酶、胃蛋白酶+无机盐,37℃水浴振荡3 h,4 000 r/min离心15 min,取5 mL上清。

将肠相pH调至最适pH值,分别加入100 mL蒸馏水、胰蛋白酶、胰蛋白酶+猪胆盐,37℃水浴振荡5 h,4 000 r/min离心15 min,取5 mL上清。

1.3.6 胃肠相消化中消化时间对铅生物利用率的影响

将胃相pH调至最适pH值,加入100 mL最适胃相消化液,分别于37℃水浴振荡0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 h,4 000 r/min离心15 min,取5 mL上清。

将肠相pH调至最适pH值,加入100 mL最适肠相消化液,分别于37℃水浴振荡2.5,3.0,3.5,4.0,4.5,5.0 h,4 000 r/min离心15 min,取5 mL上清。

分别将上述上清液过0.22 μm水系滤膜,引入ICP-MS定量分析测定铅含量。

1.3.7 Caco-2细胞培养 取对数期生长的Caco-2细胞,用DMEM培养基配成含胎牛血清10%的细胞培养液,按2 000个/mL接种于12孔聚碳酸酯膜转运细胞培养板中,37℃培养21 d。于第7,14,21天观察细胞形态,并使用细胞电阻仪测定12孔聚碳酸酯膜转运细胞培养板的跨膜电阻值,按照碱性磷酸酶试剂盒说明书测定碱性磷酸酶活力。

取培养21 d的细胞,采用戊二醛固定,按照30%—50%—70%—90%体积分数乙醇梯度脱水后,置于乙酸异戊酯中浸泡数小时,将细胞悬液滴于载玻片上,风干后喷金,扫描电镜观察细胞表面微绒毛结构。

1.3.8 生物有效性测定 将1.3.1中的肠消化液灭酶后,过0.22 μm滤膜后加入培养21 d的12孔聚碳酸酯膜转运细胞培养板中,恒温培养1 h后引入ICP-MS测定铅含量。

1.3.9 铅含量测定 精确称取0.500 g大米样品于聚四氟乙烯消解管中,加入5 mL硝酸,预消解过夜,盖上密封盖,放入微波消解仪中,微波消解仪功率1 000 W,消解程序为120℃维持15 min,升温到150℃维持15 min,升温到180℃维持25 min。消解结束后,将消解管置于赶酸板上赶酸,待冷却后超纯水定容,过0.22 μm水系滤膜,进行ICP-MS分析。ICP-MS参数见表2。

表2 ICP-MS的仪器操作条件

Table 2 Operating conditions of ICP-MS

ICP-MS仪器条件	单位	参数
蠕动泵速率	r/min	0.4
RF功率	W	1 550
等离子体气体流速	L/min	15.0
辅助气体流量	L/min	1.0
雾化器气体流速	L/min	0.1
载气流量	L/min	0.4
同位素监测		²⁰⁸ Pb
采样深度	mm	9.0

1.3.10 铅生物利用率及生物有效性测定 分别按式(1)、式(2)计算大米中铅的生物利用率和生物有效性。

$$BAC = \frac{M_{\text{消化液}} \times v}{M_{\text{大米}} \times m} \times 100\%, \quad (1)$$

$$BAV = \frac{1 - M_{\text{细胞}} \times V_{\text{细胞}}}{M_{\text{大米}} \times m} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

BAC——铅的生物利用率,%;

BAV——铅的生物有效性,%;

$M_{\text{消化液}}$ ——消化液中铅质量浓度,mg/L;

V ——消化液体积,mL;

$M_{\text{大米}}$ ——大米中总铅含量,mg/kg;

m ——大米质量, g;

$M_{\text{细胞}}$ ——Caco-2 细胞洗脱液中铅质量浓度, mg/L;

$V_{\text{细胞}}$ ——洗脱溶液体积, mL;

$M_{\text{大米}}$ ——大米中总铅含量, mg/kg。

1.4 统计分析方法

试验均重复 3 次, 采用 SAS(version V8) 软件进行数据统计分析, 采用 SPSS(version 17.0) Duncan's 新复极差检测数据的差异性, 分析水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 高铅大米的筛选

由表 3 可知, 盆栽得到的 3 种不同大米的铅含量分别为 0.876, 0.373, 0.098 mg/kg, 空白对照组中铅含量为 0.059 mg/kg。为了验证方法的准确性, 同时测定了大米标准物质中铅含量为 (0.069 ± 0.015) mg/kg, 与国家标准物质中心给出的大米中铅含量范围 0.05~0.10 mg/kg 一致。在后续试验过程中, 大米中的铅有一部分会以沉淀等方式损失, 如果大米中的铅含量较低, 会影响试验结果的准确性。大米中铅含量越高, 越有利于后续大米中铅的生物利用率和生物有效性的测定。因此, 选用铅含量最高的大米样品用于后续试验。

2.2 口腔相及胃相体外模拟消化条件的筛选

在对口腔相消化后的上清液测定中, 铅含量均低于检出限; 这主要是由于在口腔相中, 中性环境不利于游离铅的释放, 同时唾液淀粉酶对与铅结合的蛋白也没有消化作用^[12], 导致口腔相中游离铅含量极低, 故在后续试验中不再讨论口腔相中铅的生物利用率。这与 Omar 等^[5]、李仪^[9]的研究结果一致。

由图 1(a) 可知, 在 pH 从 3.0 降至 1.5 的过程中, 游离铅含量随之升高, 由 282.5 mg/g 增加到 418.6 mg/g, 随着 pH 值的继续降低, 铅释放量趋于平缓。胃相作为重金属的主要溶解场所, 随着胃相中 pH 值的逐渐降低, 游离铅含量呈先增加后趋于不变的趋势, 这是由于随着 pH 值由中性逐渐改变至酸性, 大米中的一部分结合铅随之溶解

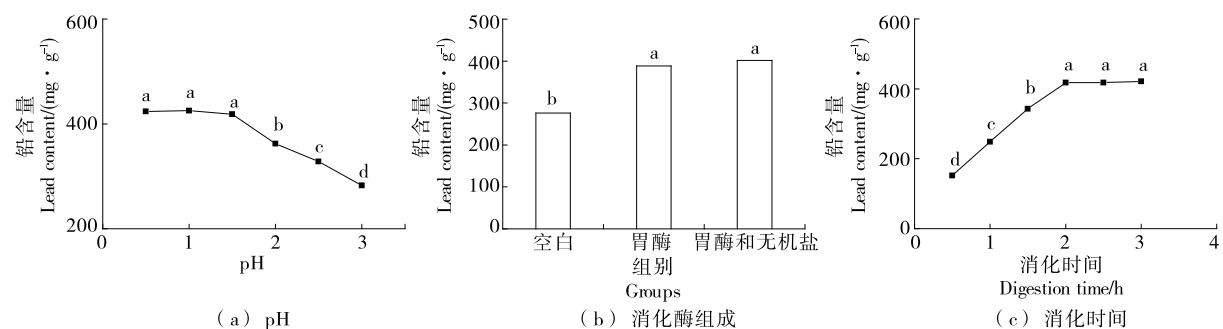
表 3 样品中的铅含量

样品	Pb 含量/(mg·kg ⁻¹)
空白组大米	0.059±0.014
高铅大米	0.876±0.008
中铅大米	0.373±0.014
低铅大米	0.098±0.016
大米标准物质	0.069±0.015

并释放至消化液中, 但是随着 pH 值的继续降低, 可溶性的铅离子完全释放, 溶液中铅含量趋于不变。Hamel 等^[13]研究发现, 在一定范围内, 生物可接受性会随着固液比的增加而增大。当固液比继续增大后, 其对生物利用率的影响趋于平缓。由图 1(b) 可知, 加入无机盐和胃蛋白酶组与加入胃蛋白酶组铅含量无显著差异, 表明无机盐的添加在胃相消化中对铅释放量没有显著影响, 与 Oomen 等^[14]的结论一致。铅主要在水稻籽粒的蛋白质中积累, 大米中铅主要与蛋白结合, 在胃相消化过程中加入胃蛋白酶可以促进食物中蛋白的水解, 有助于结合铅离子的释放和游离。随着消化时间的延长铅含量增加, 消化时间超过 2 h 后铅含量趋于稳定, 表明经过 2 h 的消化后, 能够释放到溶液中的游离铅离子已经达到最大, 继续增加消化时间并不会增加溶液中铅的含量。因此, 胃相消化最适宜的体外模拟消化条件为 pH 1.5, 加入胃蛋白酶, 消化 2 h。

2.3 肠相体外模拟消化条件的筛选

由图 2(a) 可知, 在 pH 值由 5.5 升至 7.0 的过程中, 铅的释放量随之降低, 随着 pH 值的继续升高, 铅释放量的降低趋于平缓, 由 237.8 mg/g 降到 176.6 mg/g。在胃相中溶解的铅只有在肠相中吸收并被转运至肠相中, 才可以通过血液循环被人体吸收, 而肠相通常是指小肠中的消化。在肠相中, 随着 pH 值的升高, 铅的释放量随之降低, 在胃相中溶解的铅会因为 pH 值的变化而产生沉淀, 这与游离的重金属元素如铅、镉等会在碱性环境下重新以螯



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 不同因素对模拟消化中胃相铅含量的影响

Figure 1 Effects of different factors on lead content in gastric phase in *in vitro* digestion

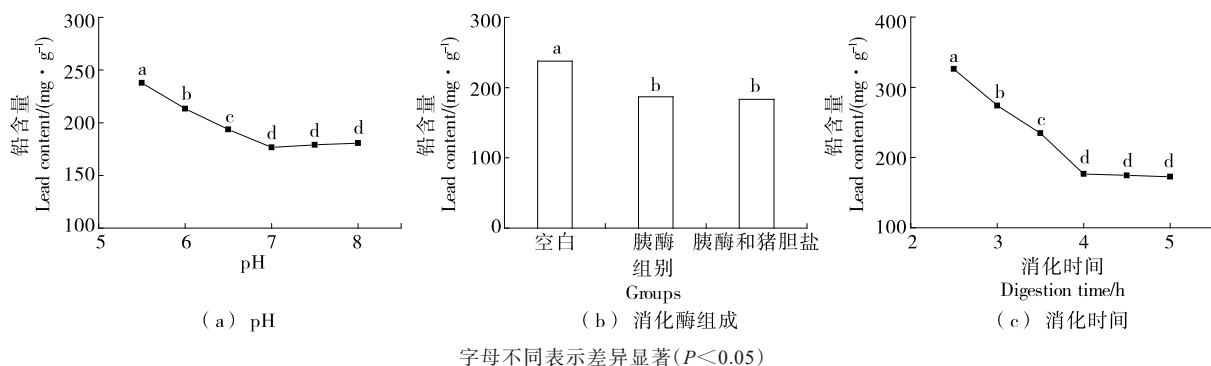


图2 不同因素对体外模拟消化中肠相铅含量的影响

Figure 2 Effects of different factors on lead content in intestinal phase in *in vitro* digestion

化合物的形式存在有关^[14]。由图2(b)可知,加入胰蛋白酶和空白的3组中铅含量没有显著差异,表明消化酶的加入对于肠相中重金属的释放没有显著影响,这与 Oomen 等^[15]的结论一致。因此,肠相消化最适宜的体外模拟消化条件为 pH 7.0,加入胰蛋白酶,消化 4 h。

2.4 Caco-2 细胞体外模型的建立及指标测定

将培养后的细胞在倒置显微镜($\times 20$)下观察,刚复苏的细胞一般会在 6~8 d 铺满培养板底部,在培养板上生长的 Caco-2 细胞呈贴壁生长状态,彼此相互联结在一起,形态扁平且呈多角型,如图 3(a)~图 3(c)所示。取转运板培养了 21 d 的 Caco-2 细胞,通过扫描电镜观察细胞表面[见图 3(d)],在细胞周围出现了刷状缘微绒毛结构,这是 Caco-2 细胞分化后形成的典型结构,具备体外模拟将药物通过小肠转运吸收至人体的功能^[16-17]。

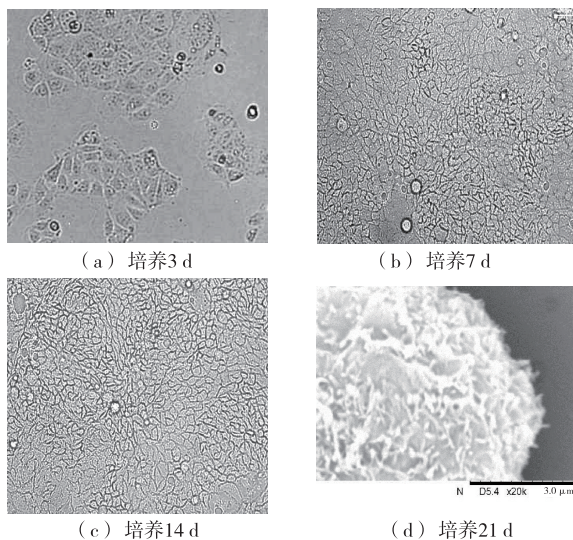


图3 倒置显微镜观察 Caco-2 细胞形态的变化及其表面微绒毛结构

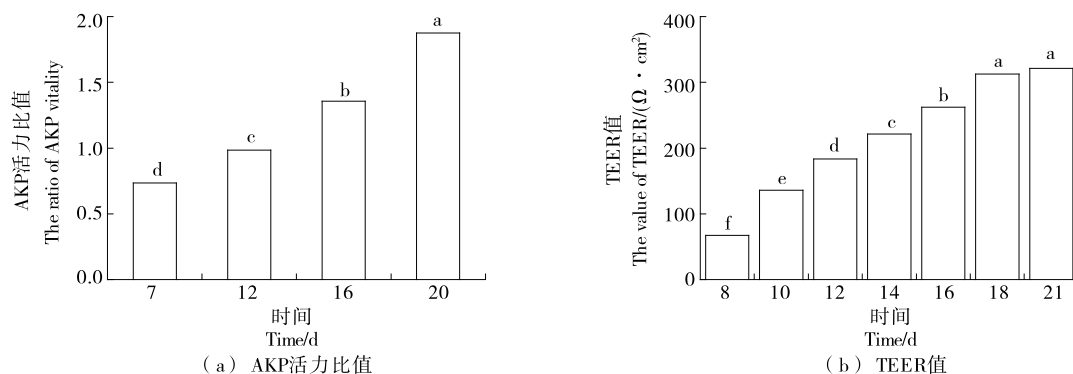
Figure 3 Morphological changes of Caco-2 cells observed under inverted microscope and surface microvillus structures($\times 20$)

碱性磷酸酶(AKP)活力比值及跨膜电阻(TEER)值均是评价细胞模型完整性的重要指标^[18]。如图4所示,第7天细胞的 AKP 活力比值为 0.74,随着时间的延长,AKP 活力比值逐渐增加,第20天 AKP 活力比值达到了 3.88。AKP 活力比值越高,提示小肠上皮细胞的分化越完全,其形成的细胞单层的极性越强。相较于第7天,第20天的 AKP 活力比值提升约 5 倍,表明细胞已实现高度分化,且细胞单层基本形成。同时,第8~18天 TEER 值从 $67.2 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 增加到 $312.6 \Omega \cdot \text{cm}^2$,第18~21天 TEER 值稳定在 $320 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 左右。TEER 值是验证 Caco-2 单层细胞紧密性的重要指标之一,细胞培养第21天 TEER 值稳定在 $320 \Omega \cdot \text{cm}^2$,远高于 $200 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 的推荐阈值^[19-20],表明此时细胞单层紧密性较好,已分化成熟并形成了功能性的单层屏障。

结合 AKP 活力比值、TEER 值及显微结构表征结果可判定,培养第21天细胞已分化形成类似小肠壁的转运结构,可满足后续胃肠相消化转运试验的要求。

2.5 大米中的铅生物利用率及生物有效性

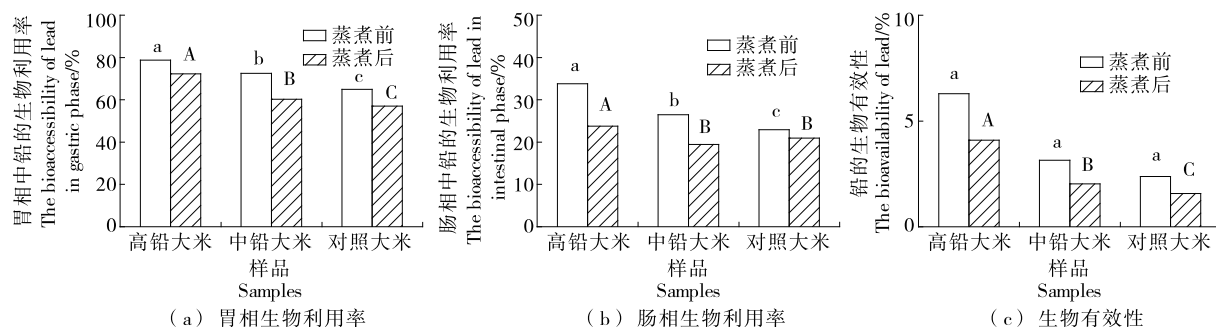
由图5可知,高铅大米组、中铅大米组 and 对照组大米蒸煮后在胃相消化阶段的生物利用率分别为 72.21%, 60.22%, 57.06%, 在肠相消化阶段的生物利用率分别为 23.77%, 19.46%, 20.94%, 均比蒸煮前的生物可接受性低。无论是在高铅组、中铅组还是对照组,胃相消化阶段铅的生物利用率均比肠相消化阶段高。胃相消化过后的消化液进入肠相消化阶段后,由于肠相的 pH 值比胃相高,依靠电荷间的相互作用吸附在胃蛋白酶表面的铅离子会发生水解反应,从而形成沉淀,还有一部分会与消化液中成分螯合形成沉淀,使肠相中大米铅的生物利用率降低^[21-22]。铅主要随食物和饮水进入人体,在消化道内铅主要经由十二指肠吸收。食物中的铅约有 5%~10% 经由肠道吸收进入人体组织。模拟胃肠消化后的大米消化液,经 Caco-2 细胞单层转运,蒸煮前高铅大米组、中铅大米组和对照组大米在消化液中铅的生物有效性分别为 6.28%, 3.15%, 2.37%, 蒸煮后分别为 4.09%, 2.03%, 1.57%。经蒸煮后大米中铅的生物有效性显著下降,主要是由于蒸煮过程中,



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图4 Caco-2细胞AKP活力比值及跨膜电阻值的变化

Figure 4 Variations of ratio of AKP activity and transmembrane resistance of Caco-2 cells



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图5 蒸煮前后大米在胃相和肠相中铅的生物利用率及大米消化液中铅的生物有效性

Figure 5 Bioaccessibility of lead in raw/cooked rice in gastric phase and intestinal phase and bioavailability of lead in rice-digesting fluid

高温使吸水后的大米溶胀、分裂并发生糊化,不仅改变了大米的食用品质,也改变了大米中淀粉与蛋白的存在状态,使得直链淀粉和支链淀粉的比例发生变化;高比例的支链淀粉可以与大米蛋白形成致密的稳定结构,减少与蛋白结合的铅离子的释放与游离^[23-24],从而降低铅的生物有效性。蒸熟后的大米在肠相消化吸收过程中,有害重金属铅的生物有效性明显降低,大米中的铅实际被人体吸收的部分仅为铅总量的1.57%~6.28%,表明蒸煮是降低人体对大米中铅吸收的有效方法。

3 结论

通过优化体外消化过程中的pH值、消化时间和消化液组成等建立了体外模拟消化模型;以Caco-2细胞的跨膜电阻值、碱性磷酸酶活性,以及扫描电镜观察细胞的微绒毛结构来评价Caco-2细胞的完整性;建立的体外模拟消化/Caco-2细胞模型可以简单、高效、准确地测定食物中铅的生物利用率和生物有效性。将建立的体外模拟消化模型应用于大米中铅的生物有效性测定,发现在胃相中铅的生物利用率比肠相的高,肠相的中性、偏碱性环境会使得游离铅形成沉淀,降低消化液中的铅浓度。蒸煮后

的大米在胃肠消化吸收过程中,有害重金属铅的生物利用率和生物有效性比蒸煮前均有明显降低,只有少量的铅会经小肠被人体吸收,蒸煮是降低人体对大米中铅吸收效率的有效方法。为了进一步明确人体对铅的吸收情况以及铅的毒性作用机理,后续将采用动物试验,建立斑马鱼、小鼠等动物模型来深入探究铅在动物体内的吸收、转运机制。

参考文献

- [1] SACHDEVA C, THAKUR K, SHARMA A, et al. Lead: tiny but mighty poison[J]. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2018, 33(2): 132-146.
 - [2] FANG Y, SUN X Y, YANG W J, et al. Concentrations and health risks of lead, cadmium, arsenic, and mercury in rice and edible mushrooms in China[J]. Food Chemistry, 2014, 147: 147-151.
 - [3] 代永霞. 赤峰市市售大米中重金属污染现状调查[J]. 中国卫生工程学, 2025, 24(1): 36-37, 40.
- DAI Y X. Investigation on heavy metal pollution in rice sold in Chifeng city[J]. Chinese Journal of Public Health Engineering,

- 2025, 24(1): 36-37, 40.
- [4] AGLAN H S, GEBREMEDHN S, SALILEW-WONDIM D, et al. Regulation of Nrf2 and NF- κ B during lead toxicity in bovine granulosa cells[J]. Cell and Tissue Research, 2020, 380(3): 643-655.
- [5] OMAR N A, PRAVEENA S M, ARIS A Z, et al. Health Risk Assessment using *in vitro* digestion model in assessing bioavailability of heavy metal in rice: a preliminary study[J]. Food Chemistry, 2015, 188: 46-50.
- [6] 李晓玲, 童巧珍, 石雨荷, 等. 龙牙百合不同器官重金属含量分布特征及健康风险评估[J]. 食品与机械, 2025, 41(7): 56-64. LI X L, TONG Q Z, SHI Y H, et al. Characteristics of heavy metal content distribution in different organs of *Lilium brownii* and its health risk assessment[J]. Food & Machinery, 2025, 41(7): 56-64.
- [7] 王晶, 匡楚玉, 夏智慧, 等. 蒸汽爆破燕麦体外消化特性及其对高脂诱导小鼠肥胖的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(5): 121-126. WANG J, KUANG C Y, XIA Z H, et al. *In vitro* digestion characteristics of steam-exploded oats and their effects on obesity induced by high-fat diet in mice[J]. Food & Machinery, 2025, 41(5): 121-126.
- [8] RUBY M V, DAVIS A, SCHOOF R, et al. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test[J]. Environmental Science & Technology, 1996, 30(2): 422-430.
- [9] 李仪. 土壤和灰尘中铜锌铅生物可接受性的体外消化方法研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013: 55-56. LI Y. A study on the bioaccessibility of Cu, Zn and Pb in soils and dusts[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013: 55-56.
- [10] UEMURA I, TAKAHASHI-SUZUKI N, KITA F, et al. Establishment of an *in-vitro* inflammatory bowel disease model using immunological differentiation of Caco-2 cells[J]. MethodsX, 2024, 13: 102952.
- [11] DU C D, WANG P Y, LI Y, et al. Investigation of selenium and selenium species in Cardamine violifolia using *in vitro* digestion coupled with a Caco-2 cell monolayer model[J]. Food Chemistry, 2024, 444: 138675.
- [12] RAFFANIELLO R D, LEE S Y, TEICHBERG S, et al. Distinct mechanisms of zinc uptake at the apical and basolateral membranes of caco-2 cells[J]. Journal of Cellular Physiology, 1992, 152(2): 356-361.
- [13] HAMEL S C, BUCKLEY B, LIOY P J. Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid[J]. Environmental Science & Technology, 1998, 32(3): 358-362.
- [14] OOMEN A G, HACK A, MINEKUS M, et al. Comparison of five *in vitro* digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants[J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(15): 3 326-3 334.
- [15] OOMEN A G, ROMPELBERG C J M, BRUIL M A, et al. Development of an *in vitro* digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 44(3): 281-287.
- [16] 杜冉, 陈忠琴, 谭明堂, 等. 牡蛎锌结合肽的稳定性及其跨 Caco-2 细胞模型的吸收转运机制[J]. 广东海洋大学学报, 2024, 44(3): 103-111. DU R, CHEN Z Q, TAN M T, et al. Stability of oyster zinc-binding peptides and their mechanism of absorption and transport across Caco-2 cell monolayers[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2024, 44(3): 103-111.
- [17] 钟浩, 徐洁, 陈玲, 等. 体外肠道细胞模型及其在评价花青素吸收转运中的研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(5): 303-313. ZHONG H, XU J, CHEN L, et al. Research progress in *in vitro* intestinal cell models and their applications in evaluating anthocyanin absorption and transport[J]. Food Science, 2024, 45(5): 303-313.
- [18] 叶钰滢, 王鸿鑫, 刘栩沂, 等. 黄芩多糖脂质体的制备及其在 Caco-2 细胞模型的转运特性研究[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(10): 4 606-4 615. YE Y Y, WANG H X, LIU X Y, et al. Preparation of astragalus polysaccharide liposomes and its transport characteristics in Caco-2 cell model[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 51(10): 4 606-4 615.
- [19] BHUSHANI J A, KARTHIK P, ANANDHARAMAKRISHNAN C. Nanoemulsion based delivery system for improved bioaccessibility and Caco-2 cell monolayer permeability of green tea catechins[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 56: 372-382.
- [20] 方勇, 夏季, 李红梅, 等. 基于体外模拟消化/Caco-2 细胞模型测定大米中铅的生物有效性[J]. 食品科学, 2016, 37(16): 199-204. FANG F, XIA J, LI H M, et al. Determination of the bioavailability of lead in rice by *in vitro* simulate digestion/caco-2 cell model[J]. Food Science, 2016, 37(16): 199-204.
- [21] LEE S J, LEE S Y, CHUNG M S, et al. Development of novel *in vitro* human digestion systems for screening the bioavailability and digestibility of foods[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 22: 113-121.
- [22] FU J, CUI Y S. *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.
- [23] 孙瑞. 重庆市江津区富硒优质大米筛选评价及加工影响研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021: 24-26. SUN R. Study on screening evaluation and processing effect of selenium-enriched high-quality rice in Jiangjin, Chongqing[D]. Chongqing: Southwest University, 2021: 24-26.
- [24] 李明远. 蒸煮大米的品质与质构变化规律及消化性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2022: 20-22. LI M Y. Study on changes of quality and texture of cooked rice and its digestibility evaluation[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2022: 20-22.