DOI:10.12441/spyswjs.20230411002 [文章编号] 1673-1689(2025)02-0101-11

添加亚硝酸钠和茶多酚的油炸猪肉中碳纳米颗粒对小鼠体内毒性的影响

张琼珠 李庆舒 蒙 瑶 骆 莹 施 琳 袁 莉*

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院,陕西 西安 710119)

摘要:【目的】在冷鲜猪肉中添加亚硝酸钠($NaNO_2$)和茶多酚(TP)后油炸,探究其碳纳米颗粒(CNPs)对小鼠体内毒性的影响。【方法】将无添加物(对照组)、添加$NaNO_2$和添加TP的生猪肉油炸后获得CNPs,分别用剂量为5、15 mg/kg的CNPs对BALB/c雄性小鼠进行灌胃。【结果】CNPs可明显抑制小鼠体质量增加,显著减少血液中红细胞(RBC)数、白细胞(WBC)数、血红蛋白(Hb)质量浓度和血小板(PLT)数(P<0.05);影响小鼠肝脏和肾脏功能;HE染色结果显示,CNPs对肝脏和结肠有明显的损伤作用;显著降低肝脏和结肠中过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)等抗氧化酶的酶活力和总抗氧化能力(T-AOC),增加过氧化产物丙二醛(MDA)、炎症因子白介素1β(IL-1β)和干扰素(IFN-γ)水平(P<0.05)。相较于灌胃从$NaNO_2$浸渍后油炸的猪肉中提取的CNPs的小鼠,灌胃从TP浸渍后油炸的猪肉中提取的CNPs的小鼠的体质量缓慢降低,脏器损伤较轻。此外,肠道微生物分析显示,CNPs可改变小鼠肠道菌群的相对丰度及多样性,尤其是可减少肠道中与抑制结肠炎发生密切相关的*Lactobacillus*的相对丰度,增加与败血症和阑尾炎相关的*Bacteroides*的相对丰度。$NaNO_2$可加剧肠道中*Lactobacillus*相对丰度的减少和*Bacteroides*相对丰度的增加,而TP则可有效缓解上述肠道微生物的相对丰度变化。【结论】相较于对照组,添加$NaNO_2$的生猪肉油炸后产生的CNPs对小鼠的损害更严重;与对照组和添加$NaNO_2$的生猪肉油炸后产生的CNPs相比,添加TP可降低CNPs的体内毒性。这为预防CNPs引起的体内毒性提供了方向,也为评估红肉制品对健康的影响提供了理论依据。

关键词:碳纳米颗粒;高温加工食品;体内毒性;亚硝酸钠;茶多酚

Effect of Adding Sodium Nitrite and Tea Polyphenols on the *in Vivo* Toxicity of Carbon Nanoparticles from Fried Pork in Mice

*ZHANG Qiongzhu LI Qingshu MENG Yao LUO Ying SHI Lin YUAN Li**

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: [**Objective**] The aim of the study is to explore the effect of adding sodium nitrite ($NaNO_2$) and tea polyphenols (TP) in fresh pork on the toxicity *in vivo* of carbon nanoparticles (CNPs) in fried pork. [**Method**] CNPs were obtained from the fried pork prepared from fresh pork without additives (control group), added with $NaNO_2$, and added with TP. BALB/c male mice were gavaged with 5 mg/kg and 15 mg/kg CNPs, respectively. [**Result**] CNPs significantly inhibited the weight gain of mice, reduced the red blood cell (RBC) count, white blood cell (WBC) count, hemoglobin (Hb) mass concentration, and platelet (PLT) count (P<0.05), and affected liver and kidney functions in mice. HE staining showed that CNPs induced significant damage of the liver and

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31972183);陕西省技术创新引导专项项目(2022QFY09-03);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(GK202401006)。

通信作者:袁莉(1986—),女,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事食品营养与安全研究。E-mail:yuanli112086@snnu.edu.cn

收稿日期:2023-04-11 **修回日期:**2023-07-29

colon. CNPs weakened the enzyme activities of antioxidant enzymes such as catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), and total superoxide dismutase (T-SOD) and decreased the total antioxidant capacity (T-AOC) in the liver and colon, while elevating the levels of malondialdehyde (MDA), the inflammatory factors interleukin-1β (IL-1β) and interferon-γ (IFN-γ) (P<0.05). Compared to mice gavaged with CNPs extracted from the raw pork added with $NaNO_2$ after frying, those receiving CNPs from the pork added with TP after frying had slow weight losses and mild organ damage. In addition, gut microbiota analysis revealed that CNPs changed the relative abundance and diversity of intestinal flora in mice, especially reducing the relative abundance of *Lactobacillus* closely associated with the inhibition of colitis and increasing the relative abundance of *Bacteroides* associated with septicemia and appendicitis. $NaNO_2$ aggravated the decrease in relative abundance of *Lactobacillus* and the increase in relative abundance of *Bacteroides*, while TP effectively mitigated the relative abundance changes of the above intestinal microorganisms. [**Conclusion**] The CNPs extracted from the raw pork added with $NaNO_2$ after frying were more damaging to mice than the control group. Compared to both the control group and CNPs extracted from the raw pork added with $NaNO_2$ after frying, the addition of TP can reduce the toxicity of CNPs *in vivo*. The results provide a perspective to prevent the toxicity of CNPs *in vivo* and a theoretical basis for assessing the health hazards of red meat products.

Keywords: carbon nanoparticles; high temperature-processed food; toxicity *in vivo*; sodium nitrite; tea polyphenols

CNPs含有C、H、N和O元素，由于其具有可调谐荧光发射性质[1]和纳米级大小也称为碳量子点或碳点[2]。CNPs结构独特，在医学、环境修复、能源和通讯方面的应用越来越广泛[3]，例如CNPs可作为载体合成多酶纳米颗粒，构建灵敏度更高的直接竞争ELISA检测方法[4]。备受关注的是，研究人员在高温加工食品中也发现了CNPs的存在，如烘焙面包、烤肉（猪肉、鸡肉、鸭肉、牛肉、羊肉等）、咖啡等[5-13]。烤鸡在200、250、300 ℃下分别含有6.71%、12.85%、17.46%的CNPs[7]。可口可乐和百事可乐中分别含有3.3%和4.3%的CNPs[14]。面包、棕榈糖和焦糖中分别含有1.2%、0.55%、0.63%的CNPs[5]。作者在前期研究中发现了油炸猪肉含有CNPs，生猪肉在没有添加任何添加剂、添加$NaNO_2$和添加TP后油炸产生的CNPs分别为0.04%、0.05%、0.04%[15]。

已经证明CNPs会对斑马鱼、小鼠、人体等生物体产生毒性[16-18]。来源于面包中的CNPs通过调节*CYP1A*和*p53*基因表达触发氧化应激，可对人骨髓间充质干细胞hMSCS产生毒性作用[19]。烧鸡中的CNPs可以通过血脑屏障进入大脑，与多巴胺结合并积聚，具有一定的神经毒性[7]。葡萄糖和赖氨酸发生美拉德反应产生的CNPs可通过抑制糖酵解途径和阻断能量供应抑制人肝癌细胞HepG2的增殖[20]。人舌鳞癌细胞与40 mg/mL市售酒精饮料中的CNPs共同孵育24 h后，细胞活力减少了90%[21]。作者前期的研究也发现，油炸猪肉中产生的CNPs对人肝细胞HL-7702有明显的毒性作用，其机制可能是通过阻断S期细胞和增加细胞内ROS水平来诱导细胞凋亡[15]。

$NaNO_2$和TP均具有抗氧化、护色、防腐、保鲜等功能，是常用于肉制品的食品添加剂。油炸食品是我国的传统食品，对人体健康有潜在危害[22]。作者前期的研究表明，不添加任何添加剂、添加$NaNO_2$和TP的生猪肉油炸后的CNPs产量没有显著差异。与对照组相比，由于添加$NaNO_2$的生猪肉油炸后获得的CNPs粒径较小，呈现出明显的细胞毒性，且具有一定的剂量依赖性；而添加TP的生猪肉油炸后获得的CNPs可明显缓解对细胞的损伤作用[15]。然而，添加$NaNO_2$和添加TP后油炸的猪肉中提取的CNPs是否存在体内毒性还有待进一步研究。

对BALB/c雄性小鼠灌胃不同浸渍条件下油炸猪肉产生的CNPs，通过分析检测小鼠体质量、血细胞水平、血脂、肝肾功能、肝脏和结肠中抗氧化酶和炎症因子的水平以及肠道菌群，综合评价CNPs的体内毒性，为揭示食源性CNPs的毒性提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

BCA蛋白质定量试剂盒、谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）、肌酐（CREA）、血清总蛋白（TP）、白蛋白（ALB）、球蛋白（GLO）、总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、高密度脂蛋白（HDL-C）、低密度脂蛋白（LDL-C）、T-SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC、CAT、IFN-γ、IL-1β检测试剂盒：南京建成生物工程研究所；小鼠标准饲料：西安科奥生物科技有限公司。试验已获得陕西师范大学学术委员会科学伦理专门委员会的批准（编号：2022-056）。

1.2　仪器与设备

全波长酶标仪：Multiskan Go型，美国Thermo Fisher Scientific公司；Motic生物显微镜：BA400型，美国Olympus公司；电子天平：BS224S型，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；多功能家用电磁炉：AUX-800型，奥克斯集团有限公司。

1.3　CNPs的提取

生猪肉样品（1 400 g）用蒸馏水洗净，切成1.0 cm×1.0 cm×3.0 cm的肉块。将肉块随机分为3组，每组200 g。其中一组为对照组，其余两组分别加入80 mg/kg（以样品质量计）的$NaNO_2$和200 mg/kg（以样品质量计）的TP，$NaNO_2$和TP的添加剂量按照GB 2760—2024进行计算，并将所有的肉浸泡1 h。用多功能家用电磁炉在220 ℃下油炸10 min，将肉冷却至室温。用乙醇提取油炸猪肉中的CNPs，在室温下搅拌48 h。乙醇粗提物中的大颗粒沉淀物经离心去除后，用旋转蒸发器除去溶剂，将得到的黄色黏性产物溶解在超纯水中。然后，将CNPs水溶液与大量的乙酸乙酯混合，去除大部分疏水杂质。水相分离纯化，在截留相对分子质量为3 500的透析袋中透析72 h，收集透析袋中的溶液，经真空冷冻干燥得到CNPs粉末。所有产物均保存在4 ℃冰箱中备用。

1.4　动物试验设计

购自西安交通大学实验动物中心的70只6周龄健康BALB/c雄性小鼠，均在标准饲养条件下饲养，光照/黑暗周期为12 h/12 h，温度为（22±2）℃，湿度为（60±5）%。小鼠自由饮水和进食，饲料包括质量分数40%的玉米粉、质量分数26%的小麦粉、质量分数10%的麸皮、质量分数10%的鱼粉、质量分数10%的豆饼、质量分数2%的矿物质、质量分数1%的粗粉、质量分数1%的维生素。

小鼠分组处理：用无添加剂的生猪肉油炸后产生的CNPs处理的小鼠命名为NA组，用添加$NaNO_2$和TP的生猪肉油炸后获得的CNPs处理的小鼠分别命名为A_{Na}组和A_{TP}组。7组小鼠经过一周适应训练后，每日分别饲喂次生水（0.2 mL/kg）、CNPs（5、15 mg/kg）、$NaNO_2$（5、15 mg/kg）、TP（5、15 mg/kg），分别命名为对照组、NA-L组、NA-H组、$A_{Na\text{-}L}$组、$A_{Na\text{-}H}$组、$A_{TP\text{-}L}$组、$A_{TP\text{-}H}$组。每隔7 d称小鼠体质量。灌胃4周后，小鼠自由饮水8 h，不喂食。称小鼠体质量后用乙醚麻醉，颈椎脱位处死，取血和肝脏标本。所有试验的操作和流程均按照《实验动物的管理和使用指南》进行。

1.5　血液指标分析

取收集的血液3 mL置于尖底离心管中，3 000 r/min离心10 min，分离血清存放于−20 ℃冰箱中待测。用全自动血细胞分析仪检测血液中RBC、WBC、Hb、PLT的水平。

1.6　血脂指标测定

根据生产商的操作说明，用试剂盒测定TC、TG、HDL-C、LDL-C的水平。

1.7　肝肾功能指标测定

根据生产商的操作说明，用试剂盒测定血清中ALT、AST、ALP、CREA、TP、ALB、GLO的水平。

1.8　组织的病理学观察

将肝脏、脾脏、肾脏、结肠切成2~3 cm的小块，剩余脏器存放于−80 ℃冰箱中待测。将各脏器小块置于质量分数4%的多聚甲醛中固定，经脱水、石蜡包埋、切片，先后用质量分数0.65%苏木精和质量分数0.50%伊红染色后制得HE切片，在光学显微镜下观察各脏器组织的细胞病变状况，并拍照记录。

1.9　肝脏和结肠的抗氧化性和炎症细胞因子测定

解冻肝脏和结肠，准确称取10 mg，加入100 mL无菌生理盐水制成质量分数10%组织匀浆。将匀浆液于5 000 r/min离心10 min，取上清液并稀释至合适浓度，按照试剂盒操作说明书测定肝脏和结肠中MDA、T-AOC、T-SOD、GSH-Px、CAT、IL-1β和IFN-γ的水平。

1.10 肠道内容物DNA的提取和扩增片段测序

由上海美吉生物医药科技有限公司进行16S rRNA基因测序分析。从粪便样品中提取菌群DNA，对16S rRNA基因的V3—V4高变区进行PCR扩增，并用QuantiFluorTM-ST蓝色荧光定量系统（Promega）检测和定量PCR产物，生成测序文库，然后使用具有250 bp配对末端读数的Illumina MiSeq平台进行16S rDNA高通量测序。

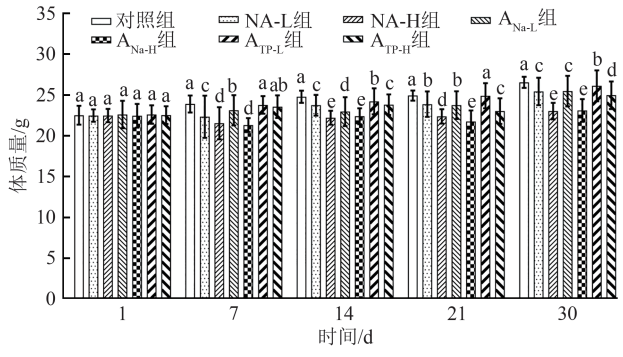
1.11 数据分析

使用QIIME软件对测序数据进行分析，主要包括分类注释、α多样性分析和β多样性分析，并使用R软件进行统计分析和绘图。试验数据采用Microsoft Excel 2010和SPSS 19.0数据处理系统进行统计处理，试验数据以平均数±标准偏差表示。P<0.05表示差异显著，具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 CNPs对小鼠体质量的影响

如图1所示，给予小鼠CNPs 7 d后，$A_{Na\text{-}L}$组、$A_{TP\text{-}L}$组和$A_{TP\text{-}H}$组小鼠体质量的增加量与对照组相比均有不同程度的下降，NA-L组、NA-H组和$A_{Na\text{-}H}$组小鼠的平均体质量较第一天显著降低（P<0.05），其中$A_{Na\text{-}H}$组小鼠体质量下降最多。上述结果说明，CNPs的摄入会抑制小鼠体质量增加。与NA组相比，$A_{Na\text{-}H}$组抑制小鼠体质量增加的效果最为显著，而A_{TP}组抑制小鼠体质量增加的作用较弱。灌胃14 d后，每组小鼠的体质量增长速度与前一周相近。灌胃30 d后，NA-H组和$A_{Na\text{-}H}$组的小鼠体质量增加受到了严重抑制，平均体质量分别增加了0.55 g和0.65 g，仅为对照组平均体质量增加量（4.03 g）的13.65%和16.13%，而$A_{TP\text{-}L}$组和$A_{TP\text{-}H}$组分别增加了3.52 g和2.44 g，是对照组的87.34%和60.55%。



不同字母代表相同时间不同组别间差异显著（P<0.05）。

图1 CNPs对小鼠体质量的影响

Fig. 1 Effect of CNPs on the body weight of mice

2.2 CNPs对小鼠血液指标的影响

血液细胞主要包括RBC、WBC、Hb和PLT，CNPs对小鼠血液指标的影响见图2。CNPs导致小鼠血液中的RBC数、WBC数、Hb质量浓度和PLT数显著减少（P<0.05）。与对照组相比，$A_{Na\text{-}H}$组小鼠血细胞数量减少较多；除PLT外，$A_{TP\text{-}H}$组血细胞数量也显著降低（P<0.05）。结果表明，与NA组相比，A_{Na}组小鼠的血液指标降低明显，而A_{TP}组小鼠的血液指标降低较少。

2.3 CNPs对小鼠血脂的影响

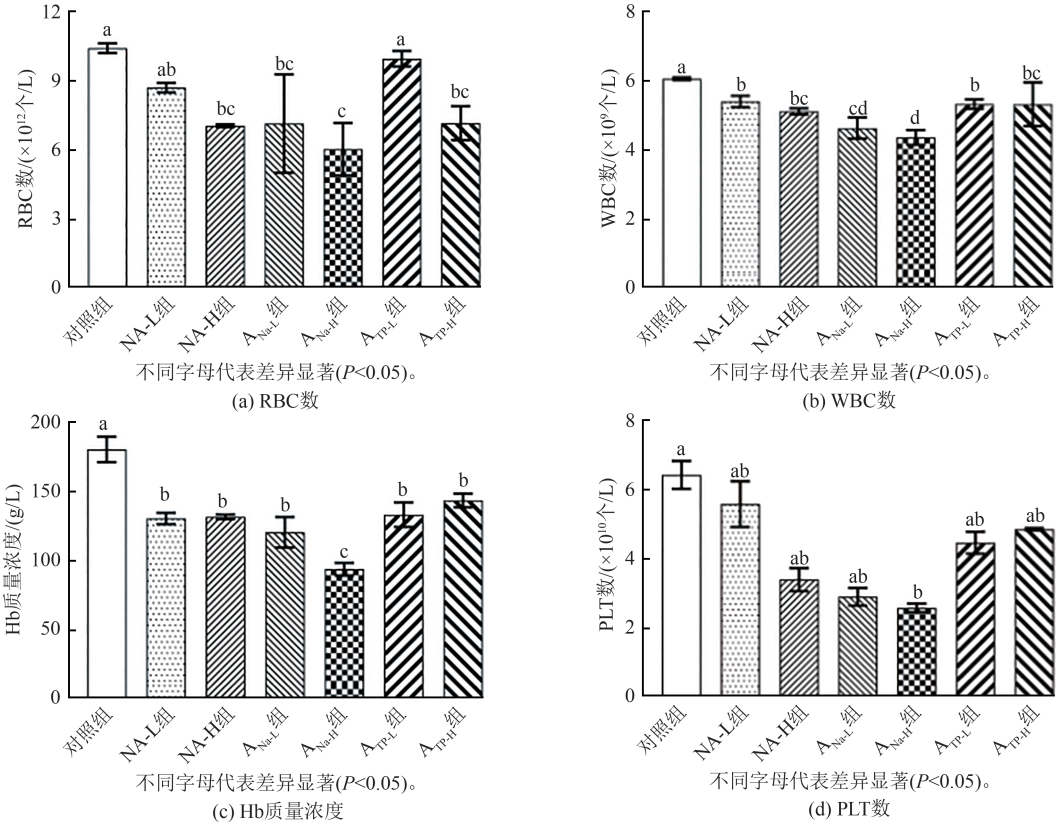
HDL-C是一种将胆固醇运输到肝脏的脂蛋白，它有保护心血管的作用，这与其促进胆固醇逆向转运、抗氧化和抗炎功能有关[23]。如果HDL-C浓度降低，就会有诱发动脉粥样硬化的风险。LDL-C是一种运载胆固醇进入外周组织细胞的脂蛋白颗粒，当其过量时容易引起动脉硬化[24]。

如表1所示，CNPs可导致HDL-C浓度降低，TC和TG浓度增加，而对LDL-C浓度没有显著影响（P>0.05）。相较于对照组，$A_{Na\text{-}H}$组HDL-C浓度的降低和TC浓度的升高最为显著（P<0.05）。摄入CNPs也会导致小鼠体内TG浓度增加，但各组的增加幅度均较小，与对照组相比无显著差异。以上结果表明，CNPs的摄入会导致小鼠体内血脂指标的异常，有诱发小鼠心血管疾病的潜在风险，尤其是高剂量$NaNO_2$的摄入会加剧这些异常。

2.4 CNPs对小鼠肝肾功能的影响

ALB和GLB是评价慢性肝损伤和肝炎的有效指标。通过检测TP、ALB、GLB水平可反映肝脏的合成功能，ALT、AST和ALP是肝细胞损伤的重要指标。CREA是反映肾功能的重要指标，血清CREA的上升意味着肾脏受到损害。通过测定TP、ALB、GLB、ALT、AST、ALP和CREA的水平可以评价CNPs对小鼠肝、肾的影响。

由表2可知，灌胃CNPs后，TP、ALB和GLB水平没有显著变化，说明CNPs对小鼠肝脏的合成功能未造成显著影响。$A_{Na\text{-}L}$组和$A_{Na\text{-}H}$组的ALT水平提升较多，特别是$A_{Na\text{-}H}$组的ALT水平有明显升高，说明经$NaNO_2$灌胃，小鼠的肝脏细胞受到一定程度损伤。各处理组的AST和ALP水平与对照



不同字母代表差异显著(P<0.05)。

(a) RBC数　(b) WBC数　(c) Hb质量浓度　(d) PLT数

图2　CNPs对小鼠血液指标的影响

Fig. 2　Effects of CNPs on blood indicators of mice

表1　小鼠血脂指标

Table 1　Blood lipid levels of mice

单位：mmol/L

组别	TC浓度	TG浓度	HDL-C浓度	LDL-C浓度
对照组	3.26±0.05^{b}	1.72±0.50^{a}	3.68±0.13^{a}	0.49±0.02^{a}
NA-L组	3.30±0.45^{b}	1.99±0.78^{a}	2.81±0.30^{c}	0.48±0.08^{a}
NA-H组	3.38±0.14^{ab}	2.12±0.82^{a}	2.76±0.16^{c}	0.50±0.02^{a}
A_{Na-L}组	3.68±0.20^{ab}	2.24±0.29^{a}	2.91±0.16^{c}	0.49±0.05^{a}
A_{Na-H}组	3.97±0.20^{a}	2.43±0.76^{a}	2.73±0.11^{c}	0.52±0.04^{a}
A_{TP-L}组	3.38±0.37^{ab}	2.10±0.44^{a}	3.10±0.23^{b}	0.46±0.03^{a}
A_{TP-H}组	3.42±0.57^{ab}	2.19±0.81^{a}	2.80±0.16^{c}	0.51±0.05^{a}

注：同列不同字母表示差异显著（P<0.05）。

组相比无显著差异。与对照组相比，NA-H组和A_{NA-H}组CREA浓度显著高于对照组，其他组无显著差异。上述结果表明，摄入CNPs可引起小鼠肝肾功能异常，尤其是添加了高剂量的$NaNO_2$。

2.5　HE染色法观察组织切片

为了进一步探究CNPs对小鼠脏器组织损伤的影响，采用HE染色法对小鼠的肾脏、结肠、脾脏、肝脏进行了组织病理学检测。如图3所示，CNPs未对小鼠肾脏和脾脏产生明显的损伤作用，而对小鼠结肠和肝脏产生了不同程度的损伤作用。在结肠切片中，对照组小鼠结肠黏膜完整，腺体排列整齐，凹陷明显；其他组小鼠结肠明显肿胀，腺体变形，炎性细胞浸润出血，其中A_{Na-H}组损伤严重，A_{TP-H}组与NA-H组没有明显差异。在肝脏切片中，经CNPs处理的肝细胞排列紊乱，肝细胞数目明显减少，细胞间距明显增加，其中以A_{Na-H}组

表 2 小鼠血清生化指标

Table 2 Serum biochemical levels of mice

组别	TP 质量浓度/（g/L）	ALB 质量浓度/（g/L）	GLB 质量浓度/（g/L）	ALT 水平/（U/L）	AST 水平/（U/L）	ALP 水平/（U/L）	CREA 浓度/（μmol/L）
对照组	58.1±3.1^{a}	37.5±2.2^{a}	22.3±1.0^{a}	46.3±1.5^{bc}	106.0±3.6^{a}	90.0±1.8^{ab}	19.5±0.6^{c}
NA-L 组	57.6±4.8^{a}	36.4±3.0^{a}	21.2±2.0^{a}	51.8±1.5^{ab}	114.0±4.9^{a}	85.5±6.4^{b}	20.4±0.8^{bc}
NA-H 组	60.4±1.3^{a}	39.0±1.7^{a}	21.4±1.7^{a}	54.0±2.3^{ab}	131.0±2.8^{a}	94.5±4.9^{ab}	22.2±0.3^{b}
$A_{Na\text{-}L}$ 组	58.3±1.2^{a}	36.7±1.4^{a}	21.6±0.3^{a}	50.4±2.1^{ab}	117.0±3.1^{a}	87.0±4.2^{b}	20.4±0.5^{bc}
$A_{Na\text{-}H}$ 组	61.5±4.1^{a}	39.1±3.2^{a}	22.4±1.1^{a}	60.9±1.3^{a}	122.0±2.1^{a}	104.0±2.8^{a}	25.9±0.6^{a}
$A_{TP\text{-}L}$ 组	59.3±5.4^{a}	37.6±3.6^{a}	21.7±1.8^{a}	48.1±2.1^{bc}	105.0±2.6^{a}	82.5±6.4^{b}	20.8±0.7^{bc}
$A_{TP\text{-}H}$ 组	59.7±3.2^{a}	37.1±2.3^{a}	22.6±0.9^{a}	45.9±2.1^{bc}	118.0±1.6^{a}	93.0±5.4^{ab}	21.7±0.6^{bc}

注：同列不同字母表示差异显著（P<0.05）。

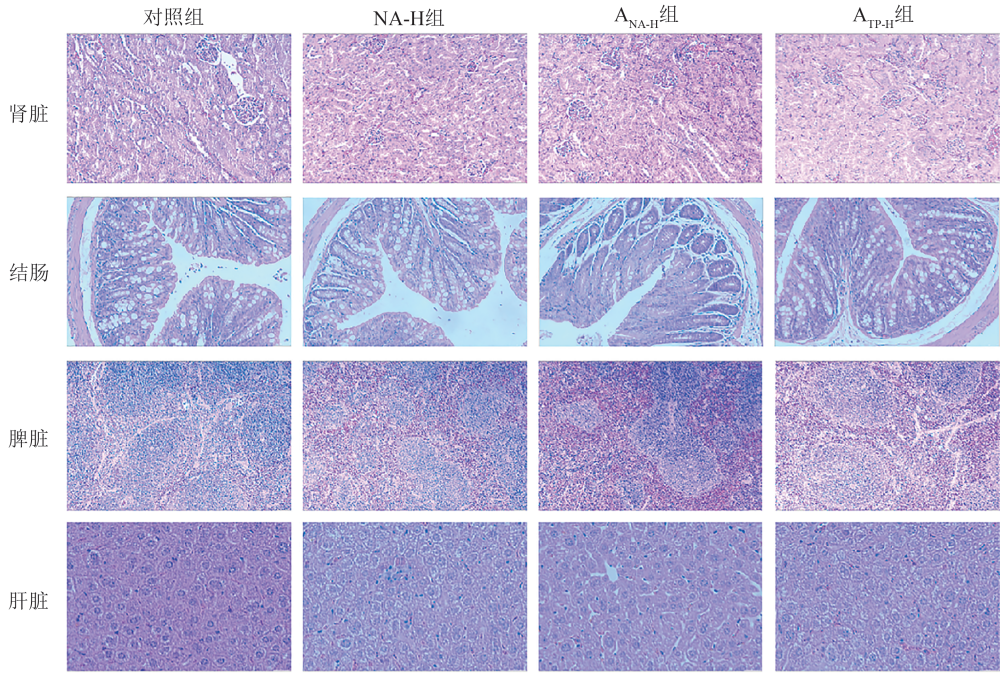


图 3 CNPs 对小鼠脏器组织影响的病理学观察（40×）

Fig. 3 Pathological observation of the effect of CNPs on mouse organs（40×）

最为明显，而 $A_{TP\text{-}H}$ 组的肝组织较为正常。HE 染色结果也表明，$A_{Na\text{-}H}$ 组小鼠肝细胞损伤较重，而 $A_{TP\text{-}H}$ 组小鼠肝细胞损伤程度与 NA-H 组没有明显差异，甚至损伤程度低于 NA-H 组。

2.6 CNPs 对小鼠肝脏和结肠组织中抗氧化酶的酶活力和氧化产物的影响

经 HE 染色切片观察到 CNPs 对小鼠肝脏、结肠的损伤，进一步测定肝脏、结肠的抗氧化酶的酶活力，以此来评价 CNPs 对小鼠肝脏和结肠组织的损伤作用。超氧化物歧化酶（SOD）能够间接反映机体内清除自由基的能力；CAT 主要参与机体内的活性氧代谢；GSH-Px 能够催化分解机体内产生的过氧化氢，T-AOC 能反映机体抗氧化能力的强弱。因此，检测小鼠肝脏和结肠内的 T-SOD、CAT、GSH-Px、T-AOC 的水平能够反映小鼠体内抗氧化能力。MDA 是机体内形成的脂质过氧化物，测定 MDA 水平可反映出细胞损伤的程度。

如图 4（a）~（h）所示，摄入 CNPs 后，肝脏和结肠组织中抗氧化酶的酶活力显著降低（P<0.05），包括 T-SOD、CAT 和 GSH-Px。与对照组相比，$A_{Na\text{-}H}$ 组肝脏、结肠的 T-AOC 水平分别下降了 42.86%、72.57%。如图 4（i）~（j）所示，NA 组小鼠肝脏和结肠组织中的 MDA 质量摩尔浓度显著提高（P<0.05），尤其是 $A_{Na\text{-}H}$ 组，肝脏中的 MDA 质量摩尔浓度是对照组的近 4 倍。结果表明，CNPs 可

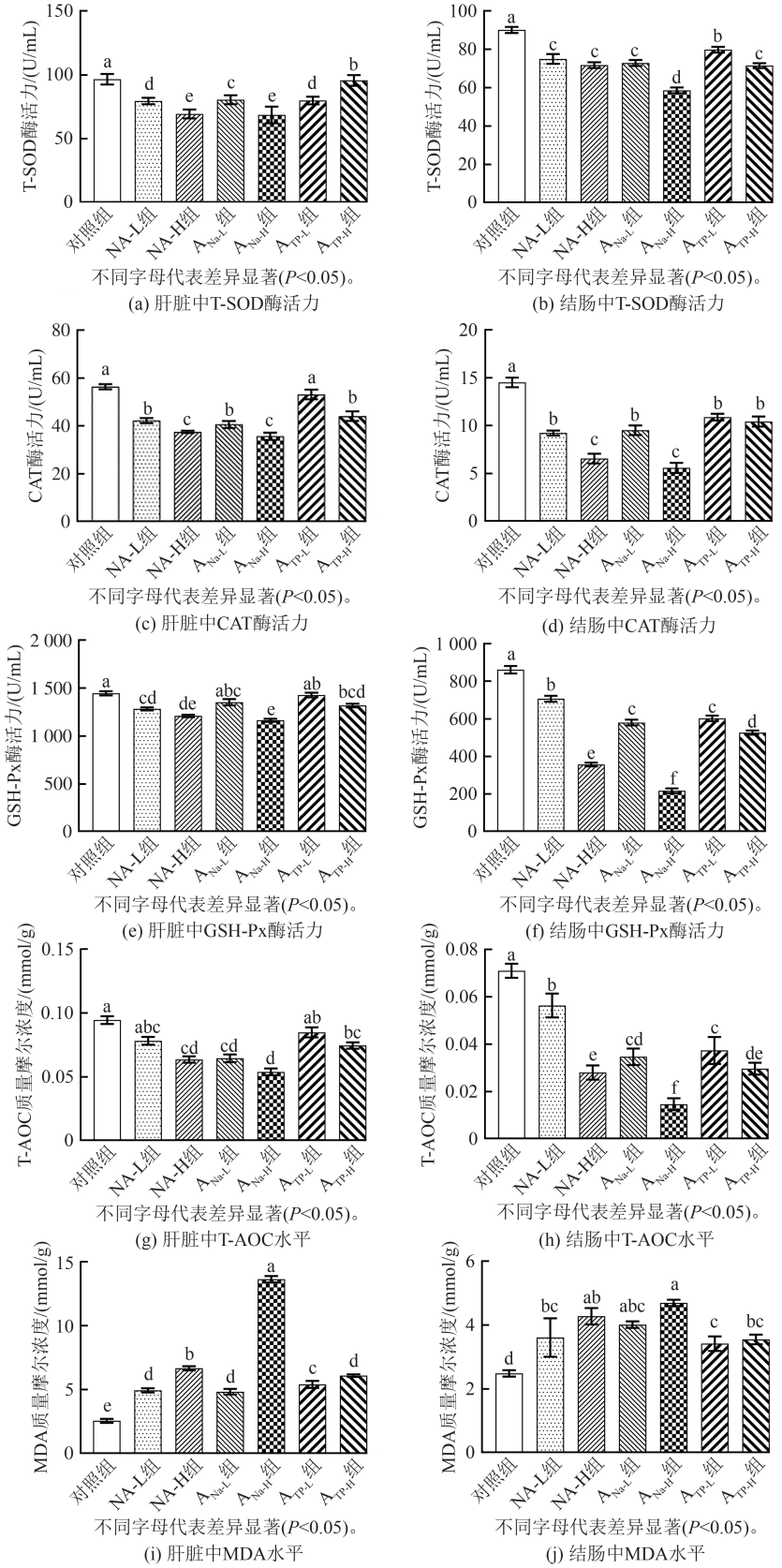


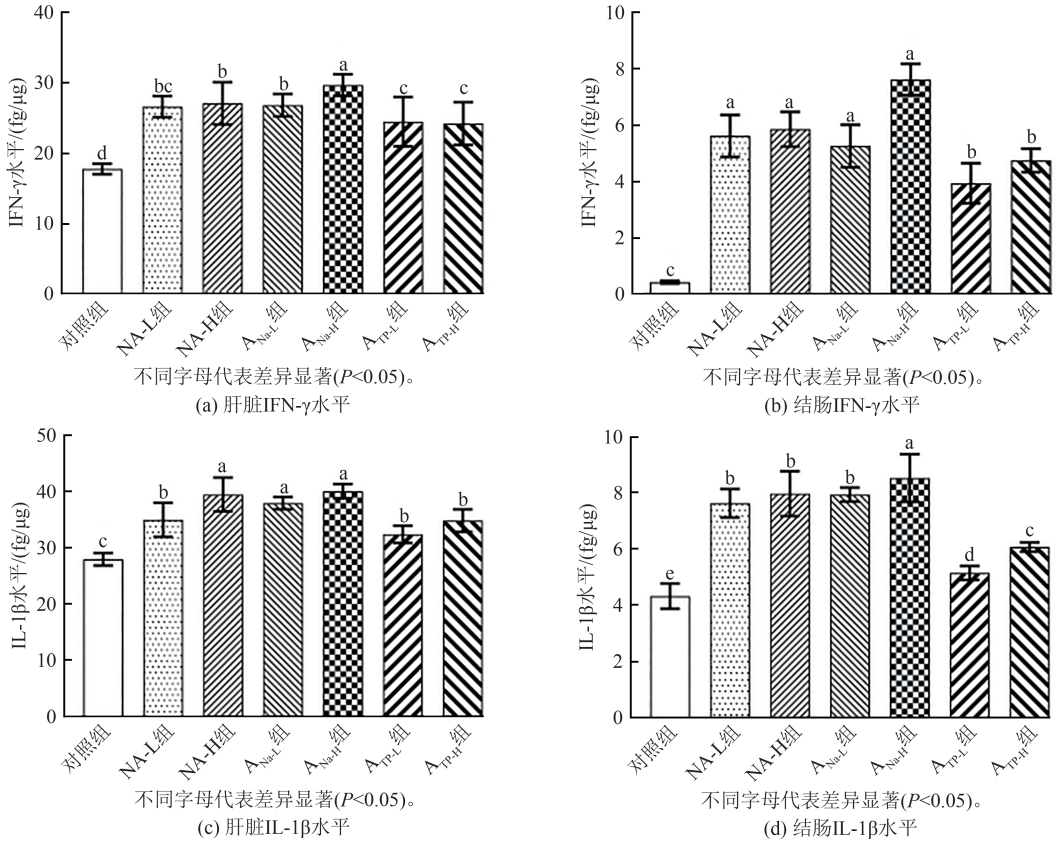
图4　CNPs对肝脏和结肠中抗氧化酶酶活力和氧化产物水平的影响

Fig. 4　Effects of CNPs on the enzyme activities of antioxidant enzymes and levels of oxidation products in the liver and colon

降低抗氧化酶的酶活力，增加脂质过氧化产物的水平。与NA组和A_{TP}组相比，$A_{Na\text{-}H}$组小鼠体内抗氧化酶的酶活力下降最多，表明$NaNO_2$对小鼠肝脏和结肠的氧化损伤最严重。

2.7 CNPs对肝脏、结肠组织中IFN-γ和IL-1β的影响

IFN-γ和IL-1β是由多种细胞产生的细胞因子，在传递信息、激活和调节免疫细胞、扩大免疫调节作用等方面发挥着重要作用。如图5(a)~(b)所示，CNPs显著增加了小鼠肝脏和结肠中IFN-γ水平(P<0.05)。与$A_{TP\text{-}H}$组相比，$A_{Na\text{-}H}$组肝脏和结肠组织中IFN-γ水平分别显著提高了22.23%和61.22%(P<0.05)。如图5(c)~(d)所示，与对照组相比，NA组大鼠肝脏和结肠组织中IL-1β水平显著升高(P<0.05)。与NA-H组相比，$A_{Na\text{-}H}$组小鼠结肠组织中IL-1β水平显著升高(P<0.05)；肝脏和结肠组织中，$A_{TP\text{-}H}$组的IL-1β水平分别显著降低了10.15%和22.5%(P<0.05)。结果表明，CNPs可导致小鼠肝脏和结肠组织产生一定的炎症反应，其中$A_{Na\text{-}H}$组具有较严重的炎症反应。



不同字母代表差异显著(P<0.05)。
(a) 肝脏IFN-γ水平

不同字母代表差异显著(P<0.05)。
(b) 结肠IFN-γ水平

不同字母代表差异显著(P<0.05)。
(c) 肝脏IL-1β水平

不同字母代表差异显著(P<0.05)。
(d) 结肠IL-1β水平

图5 CNPs对肝脏、结肠组织IFN-γ和IL-1β水平的影响

Fig. 5 Effects of CNPs on the levels of IFN-γ and IL-1β in the liver and colon

2.8 α多样性分析

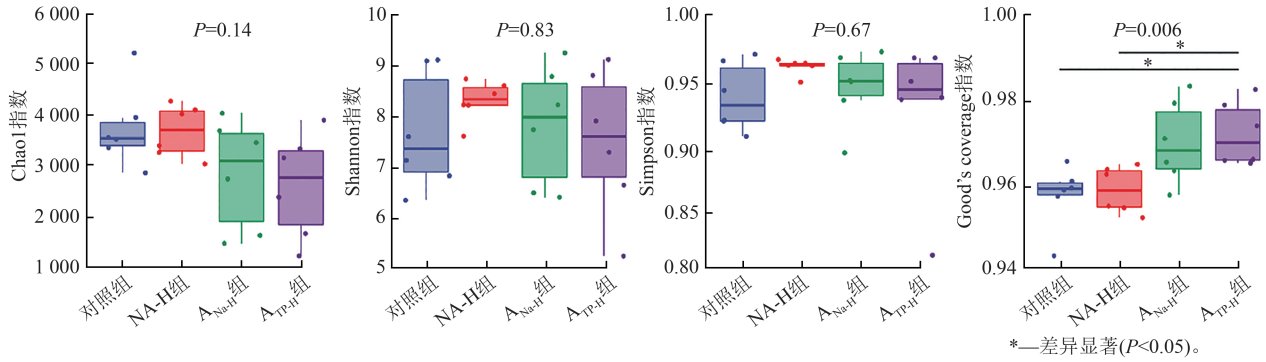
α多样性指数用于表征物种在生境内的多样性，是指局部均匀生境下评价物种丰富度、多样性和均匀度等方面的指标，也被称为生境内多样性。为了能较为全面地评估小鼠体内微生物群落的α多样性，以Chao1指数表征丰富度[25]，以Observed species指数评估群落中物种的数目，以Shannon指数和Simpson指数表征多样性[26]。

Chao1指数、Shannon指数和Simpson指数见图6(a)~(c)，与对照组相比，3种不同的CNPs增加了小鼠肠道菌群的多样性。与NA-H组相比，$A_{TP\text{-}H}$组和$A_{Na\text{-}H}$组的肠道微生物区系相对丰度均有不同程度的下降，但3组间差异不显著(P>0.05)。Good's coverage指数分析结果见图6(d)，添加$NaNO_2$和TP可显著提高CNPs对小鼠肠道菌群的物种覆盖率，丰富小鼠肠道菌群种类。

2.9 β多样性分析

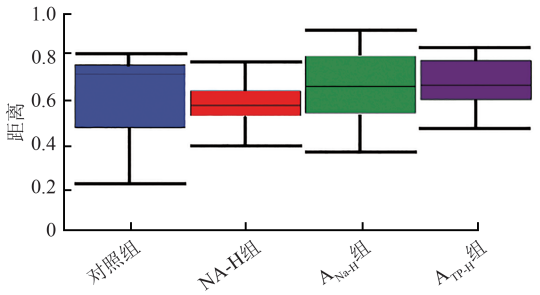
β多样性指数主要用于不同生境间物种多样性

的比较，即样本间的差异。如图6(e)所示，4组间的微生物结构没有显著差异(P>0.05)。在NMDS分析(应力值为0.091 5)中也有类似的结果，见图6(f)。正常小鼠肠道菌群主要由*Lactobacillus*、

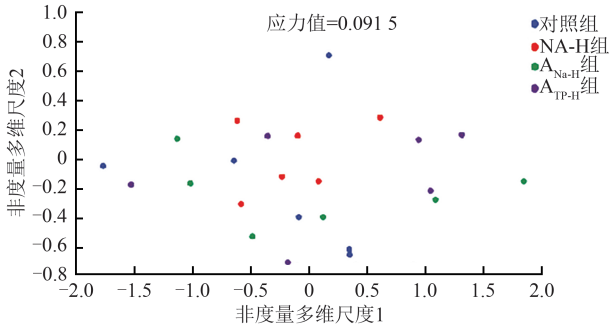


(a) Chao1指数　(b) Shannon指数　(c) Simpson指数　(d) Good's coverage指数

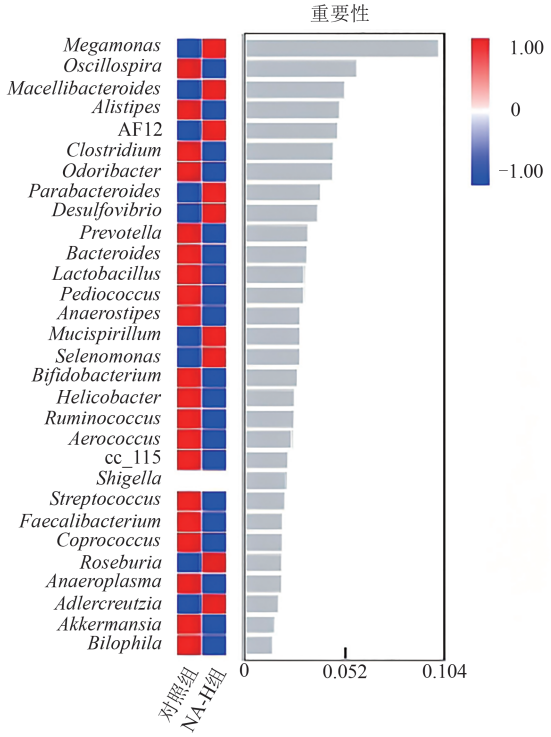
*—差异显著(P<0.05)。



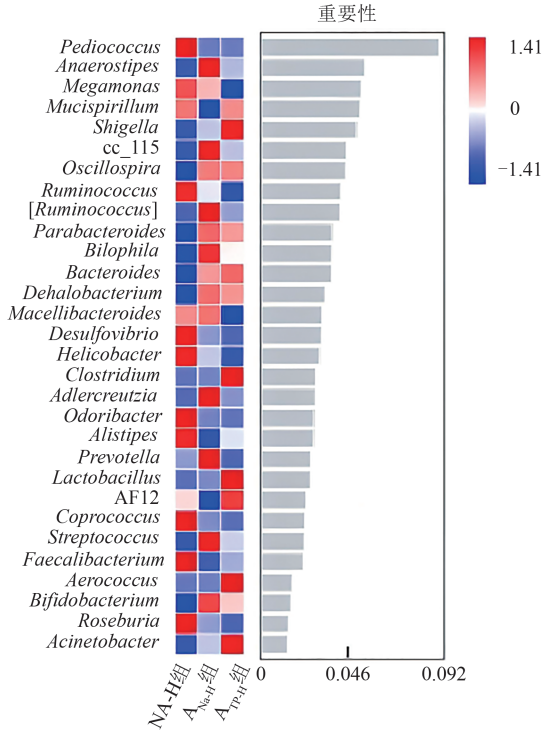
(e) 距离分析



(f) 非度量多维尺度分析



(g) 肠道微生物组成(属水平)



(h) 肠道微生物组成(属水平)

图6　小鼠肠道菌群的α多样性指数和β多样性指数

Fig. 6　α diversity indexes and β diversity indexes of intestinal flora in mice

Macellibacteroides、*Odoribacter* 和 *Alistipes* 组成。如图6(g)~(h)所示，与对照组相比，NA-H组肠道菌群的组成发生了显著变化(P<0.05)。在共有优势菌属中，NA-H 组的 *Lactobacillus*、*Bacteroides*、*Odoribacter* 和 *Alistipes* 等益生菌的相对丰度均低于对照组。此外，与 NA-H 组相比，A_{TP-H} 组的 *Lactobacillus* 相对丰度显著升高；与 A_{TP-H} 组相比，A_{Na-H} 组 *Lactobacillus* 相对丰度显著降低。

3 结论

通过给 BALB/c 小鼠灌胃油炸猪肉中的 CNPs，研究了 CNPs 的体内毒性。食源性 CNPs 显著抑制小鼠体质量的增长速度，并引起肝脏和肾脏的功能异常、氧化损伤和炎症损伤。CNPs 还可以降低 *Lactobacillus*、*Bacteroides*、*Odoribacter* 和 *Alistipes* 的相对丰度。此外，与对照组相比，油炸前在生猪肉中添加 $NaNO_2$ 会加剧小鼠的毒性效应，而在生猪肉中添加 TP 可有效减轻无添加和添加 $NaNO_2$ 的生猪肉中的 CNPs 的损害。由此可见，不宜过多摄入添加 $NaNO_2$ 的红肉和加工肉，这为探索 TP 在食品工业中的应用提供了新方向。

参考文献

[1] 袁莉，李庆舒，邓红. 食品中碳纳米粒子的研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2021，40(11)：22-29.
YUAN L，LI Q S，DENG H. Research progress of foodborne carbon nanoparticles [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40 (11)：22-29.(in Chinese)

[2] SUN Y P，ZHOU B，LIN Y，et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence [J]. Journal of the American Chemical Society，2006，128(24)：7756-7757.

[3] PENG H B，ZHANG D，LI H，et al. Organic contaminants and carbon nanoparticles：sorption mechanisms and impact parameters[J]. Journal of Zhejiang University：Science A，2014，15(8)：606-617.

[4] 韦达理，曾昆，康启鑫，等. 基于碳纳米管信号放大的卡那霉素高灵敏分析方法的建立[J]. 食品与生物技术学报，2020，39(7)：28-35.
WEI D L，ZENG K，KANG Q X，et al. High sensitivity analysis of kanamycin based on signal amplification of carbon nanotubes[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2020，39(7)：28-35.(in Chinese)

[5] SK M P，JAISWAL A，PAUL A，et al. Presence of amorphous carbon nanoparticles in food caramels [J]. Scientific Reports，2012，2：383.

[6] ZHAO X，SHAN S H，LI J Q，et al. Assessment of potential toxicity of foodborne fluorescent nanoparticles from roasted pork[J]. Nanotoxicology，2019，13(10)：1310-1323.

[7] SONG X Y，WANG H T，ZHANG R，et al. Bio-distribution and interaction with dopamine of fluorescent nanodots from roasted chicken[J]. Food & Function，2018，9(12)：6227-6235.

[8] CONG S，BI J R，SONG X Y，et al. Ultrasmall fluorescent nanoparticles derived from roast duck：their physicochemical characteristics and interaction with human serum albumin [J]. Food & Function，2018，9(4)：2490-2495.

[9] LI Y，BI J R，LIU S，et al. Presence and formation of fluorescence carbon dots in a grilled hamburger[J]. Food & Function，2017，8(7)：2558-2565.

[10] WANG H T，XIE Y S，LIU S，et al. Presence of fluorescent carbon nanoparticles in baked lamb：their properties and potential application for sensors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2017，65(34)：7553-7559.

[11] JIANG C K，WU H，SONG X J，et al. Presence of photoluminescent carbon dots in Nescafe® original instant coffee：applications to bioimaging [J]. Talanta，2014，127：68-74.

[12] WANG Z Y，LIAO H，WU H，et al. Fluorescent carbon dots from beer for breast cancer cell imaging and drug delivery [J]. Analytical Methods，2015，7(20)：8911-8917.

[13] CAO L，SONG X Y，SONG Y K，et al. Fluorescent nanoparticles from mature vinegar：their properties and interaction with dopamine[J]. Food & Function，2017，8(12)：4744-4751.

[14] LI S，JIANG C K，WANG H T，et al. Fluorescent nanoparticles present in Coca-Cola and Pepsi-Cola：physiochemical properties，cytotoxicity，biodistribution and digestion studies[J]. Nanotoxicology，2018，12(1)：49-62.

[15] LI Q S，YUAN L，LIU Y F. Effects of adding sodium nitrite and tea polyphenols on the characterizations and

cytotoxicity of carbon nanoparticles from fried pork[J]. Food Chemistry，2021，365：130464.

[16] LI J Y，YING G G，JONES K C，et al. Real-world carbon nanoparticle exposures induce brain and gonadal alterations in zebrafish（*Danio rerio*）as determined by biospectroscopy techniques[J]. Analyst，2015，140(8)：2687-2695.

[17] INOUE K I，YANAGISAWA R，KOIKE E，et al. Effects of carbon black nanoparticles on elastase-induced emphysematous lung injury in mice[J]. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology，2011，108(4)：234-240.

[18] PERIASAMY V S，ATHINARAYANAN J，ALFAWAZ M A，et al. Carbon nanoparticle induced cytotoxicity in human mesenchymal stem cells through upregulation of *TNF3*，*NFKBIA* and *BCL2L1* genes[J]. Chemosphere，2016，144：275-284.

[19] AL-HADI A M，PERIASAMY V S，ATHINARAYANAN J，et al. The presence of carbon nanostructures in bakery products induces metabolic stress in human mesenchymal stem cells through *CYP1A* and *p53* gene expression[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology，2016，41：103-112.

[20] LI D M，NA X K，WANG H T，et al. Fluorescent carbon dots derived from Maillard reaction products：their properties，biodistribution，cytotoxicity，and antioxidant activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2018，66(6)：1569-1575.

[21] LIAO H，JIANG C K，LIU W Q，et al. Fluorescent nanoparticles from several commercial beverages：their properties and potential application for bioimaging[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2015，63(38)：8527-8533.

[22] 陆秦. 油炸食品安全标准法治化建设研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2023，42(6)：7-12.
LU Q. Progress in legalization of fried food safety standards[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42(6)：7-12.（in Chinese）

[23] 王治洲，项红，夏士林，等. 高密度脂蛋白对中性粒细胞功能调节作用的研究进展[J]. 生理学报，2017，69(6)：852-860.
WANG Z Z，XIANG H，XIA S L，et al. Research progress in the modulating effect of high-density lipoprotein on neutrophil function[J]. Acta Physiologica Sinica，2017，69(6)：852-860.

[24] DI L，MAISEYEU A. Low-density lipoprotein nanomedicines：mechanisms of targeting，biology，and theranostic potential[J]. Drug Delivery，2021，28(1)：408-421.

[25] CHAO A，YANG M C K. Stopping rules and estimation for recapture debugging with unequal failure rates[J]. Biometrika，1993，80(1)：193-201.

[26] 许晴，张放，许中旗，等. Simpson指数和Shannon-Wiener指数若干特征的分析及“稀释效应”[J]. 草业科学，2011，28(4)：527-531.
XU Q，ZHANG F，XU Z Q，et al. Some characteristics of Simpson index and the Shannon-Wiener index and their dilution effect[J]. Pratacultural Science，2011，28(4)：527-531.（in Chinese）

（责任编辑：闫林红）