

# 野生牛肝菌元素含量特征分析及其种类鉴别

苏久艳<sup>1,2</sup>, 张霁<sup>2</sup>, 李杰庆<sup>1</sup>, 段智利<sup>1</sup>, 李涛<sup>3</sup>, 刘鸿高<sup>1</sup>, 王元忠<sup>2</sup>

(1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201) (2. 云南省农业科学院农产品加工研究所, 云南昆明 650221) (3. 玉溪师范学院资源环境学院, 云南玉溪 653100)

**摘要:** 野生牛肝菌的营养价值及暴露风险关系到消费者的健康安全, 并严重影响其市场稳定和贸易出口。本文采用电感耦合等离子体原子发射光谱法和傅里叶变换红外光谱法测定 8 种野生牛肝菌 429 份样品中 12 种元素的含量和光谱数据, 分析元素含量特征及食用健康风险, 同时基于元素含量、红外光谱、初级融合和中级融合数据分别建立偏最小二乘判别分析和支持向量机 (SVM) 判别模型, 比较其鉴别效果。结果显示: 野生牛肝菌富含 Ca、Mg、Na、Zn 等矿质元素, 适量摄入可以补充人体营养需求, 同时也应当注意部分牛肝菌的 Cd 暴露风险; 基于中级融合建立 SVM 判别模型, 其训练集和预测集正确率均为 100%, 能够快速、准确鉴别牛肝菌种类, 有效避免因误采误食导致的中毒事件发生。系统性的对牛肝菌进行元素含量分析、健康风险评估和种类鉴别, 为其品质安全评估和资源的开发利用提供参考。

**关键词:** 野生牛肝菌; 矿质元素; 风险评估; 数据融合; 种类鉴别

文章编号: 1673-9078(2019)02-223-231

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.031

## Analysis of the Element Content Characteristic of Wild Boletaceae Mushrooms and Its Species Identification

SU Jiu-yan<sup>1,2</sup>, ZHANG Ji<sup>2</sup>, LI Jie-qing<sup>1</sup>, DUAN Zhi-li<sup>1</sup>, LI Tao<sup>3</sup>, LIU Hong-gao<sup>1</sup>, WANG Yuan-zhong<sup>2</sup>

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China) (2. Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650221, China) (3. College of Chemistry, Biological and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China)

**Abstract:** The nutritional value and exposure risk of wild Boletaceae are related to consumers' health and safety, and influence market stability and trade exports seriously. In this paper, the contents of 12 kind of element contents in eight wild Boletaceae (429 samples in total) were determined and their corresponding infrared spectra data were collected by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy and Fourier transform infrared spectrometry. The content characteristics of elements and edible health risk were analyzed. Meanwhile, partial least squares discriminant analysis and support vector machine (SVM) discriminant models were established using element contents, infrared spectroscopy, low-level data fusion and mid-level data fusion. The classification results were compared. The results demonstrated that wild Boletaceae were rich in Ca, Mg, Na, Zn and other mineral elements, and moderate intake can supplement the nutritional needs of human body. Meanwhile, attention should also be paid to the risk of heavy metal exposure of some Boletaceae. The SVM discriminant model based on mid-level data fusion has the accuracy of training set and test set of 100%, which could be a promising technique to rapidly and accurately discriminate the species of Boletaceae. It can effectively avoid the occurrence of poisoning incidents caused by accidental ingestion. Analyzing the element contents, assessing the health risk and identifying the species of Boletaceae systematically, can provide a reference for the quality safety assessment and the development and utilization of resources.

**Key words:** wild Boletaceae mushrooms; mineral element; risk assessment; data fusion; species identification

收稿日期: 2018-10-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31660591; 21667031); 云南省教育厅科学研究基金项目 (2018JS275)

作者简介: 苏久艳 (1990-), 女, 硕士, 研究方向: 食用菌资源评价与利用  
通讯作者: 刘鸿高 (1974-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食用菌资源评价与应用研究; 王元忠 (1981-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食用菌真菌资源研究

野生食用菌作为一种云南特色野生资源, 种类繁多, 味道鲜美, 营养丰富, 深受消费者欢迎<sup>[1]</sup>。其富含蛋白质、维生素、矿质元素等多种营养物质, 以及多糖、生物碱、萜类等具有抗氧化、抗肿瘤、增强人体免疫力等药理作用的功效成分, 在人体保健和疾病治疗方面有巨大的发展潜力<sup>[2]</sup>。矿质元素是参与人体多种生理活动的重要营养物质<sup>[3]</sup>, 过多或过少都会导

致人体正常生理功能紊乱,引发疾病,如 Fe 参与血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素等的合成,是一种重要的酶系统组分<sup>[4]</sup>,缺 Fe 会引起缺铁性贫血病<sup>[5]</sup>,Fe 摄入过量会导致慢性铁中毒<sup>[6]</sup>。As、Cd、Pb 等重金属元素能够与人体蛋白质、酶等结合,影响人体正常生理功能,危害健康<sup>[7,8]</sup>。食用菌矿质元素和重金属元素含量受种类、生长环境和年份影响较大,且不同种类牛肝菌所含营养物质的种类及含量存在差异<sup>[9-11]</sup>。菇农通常采用传统经验鉴别牛肝菌种类,由于其种间形态相似度高,误食、烹饪方法不科学等因素导致的中毒事件频繁发生<sup>[12]</sup>。市场上牛肝菌分类模糊,存在混杂与掺假现象,严重损害消费者权益,威胁消费者健康<sup>[13]</sup>。

Zhang 等<sup>[14]</sup>探究疣柄牛肝菌元素含量,子实体中 K、P、Mg 等含量较高,Ba、Cd、Cr 等含量较低。Epova 等<sup>[15]</sup>采用多元分析法筛选特征元素,结合主成分分析成功鉴别欧洲腌制火腿种类,表明元素含量可以作为物种类别鉴别依据。Choong 等<sup>[16]</sup>测定 5 种蘑菇菌核的傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectrometry, FT-IR)信息,分析比较不同菌核的光谱差异,能够鉴别其种类。单一光谱技术获取的样品信息有限,往往不能全面揭示样品信息。矿质元素的种类与含量能够代表样品的矿物质种类与含量信息,FT-IR 侧重于反映其官能团信息。数据融合策略能将不同来源的信息进行优化、整合与分析,实现仪器间互补,整体把握样品特征信息<sup>[17]</sup>。Li 等<sup>[18]</sup>测定美味牛肝菌的中红外光谱信息与矿质元素含量,根据矿质元素的变量投影重要性(Variable importance in projection, VIP)筛选排序,利用不同元素与中红外光谱建立支持向量机(support vector machine, SVM)判别模型,成功对其进行了产地溯源研究。姚森等<sup>[19]</sup>利用 FT-IR、紫外光谱和融合数据建立偏最小二乘判别分析(Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)模型,鉴别疣柄牛肝菌产地,结果显示中高级融合模型的鉴别效果最佳。

本文通过测定 8 种野生牛肝菌的 12 种元素含量,分析其含量特征,对其健康风险进行评估;采集牛肝菌的 FT-IR 信息后分析其光谱特征;基于元素含量、FT-IR 与融合数据分别建立 PLS-DA 和 SVM 鉴别模型,比较鉴别效果,建立一种准确、快速鉴别牛肝菌种类的方法,为其品质安全评估和资源开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

8 种 429 份野生牛肝菌样品均采自云南省,详细信息见表 1。样品采集后清洗干净,50 °C 烘干至恒重,粉碎后过 100 目标标准筛,室温条件下储存备用。

表 1 牛肝菌样品信息

Table 1 Information of boletaceae samples

| 代号 | 种类      | 拉丁名                        | 编号      |
|----|---------|----------------------------|---------|
| A  | 华丽牛肝菌   | <i>Boletus magnificus</i>  | 1-41    |
| B  | 灰褐牛肝菌   | <i>B. griseus</i>          | 42-93   |
| C  | 栗色牛肝菌   | <i>B. unbriniporus</i>     | 94-145  |
| D  | 美味牛肝菌   | <i>B. edulis</i>           | 146-244 |
| E  | 绒柄牛肝菌   | <i>B. tomentipes</i>       | 245-291 |
| F  | 小美牛肝菌   | <i>B. speciosus</i>        | 292-331 |
| G  | 皱盖疣柄牛肝菌 | <i>Leccinum rugosiceps</i> | 332-389 |
| H  | 砖红绒盖牛肝菌 | <i>Xerocomus spadiceus</i> | 390-429 |

### 1.2 仪器与试剂

ICPE-9000 全谱发射光谱仪(日本岛津公司); Mars6 型微波消解仪(美国 CEM 公司); Frontier 型傅里叶变换红外光谱仪(配备 DTGS 检测器,美国 Perkin Elmer 公司); YP-2 型压片机(上海市山岳科学仪器有限公司); AR1140 型万分之一分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); FW-100 型高速粉碎机(天津市华鑫仪器厂); 100 目标标准筛盘(浙江上虞市道墟五四仪器厂)。

茶叶标准物质 GBW07605(地矿部物化探研究所); 65%硝酸和 30%过氧化氢(广东西陇化工股份有限公司); 超纯水(电阻率>18.25 MΩ·cm); UPT-I-10 超纯水机(优谱科技有限公司); 多元素标准储备液(济南众标科技有限公司); 溴化钾(天津市风船化学试剂科技有限公司)。器皿均用 10%硝酸溶液浸泡过夜,超纯水清洗,烘干备用。

### 1.3 元素含量测定

称取 300±0.2 mg 样品于消解罐中,加入 6 mL 硝酸,3 mL 过氧化氢和 1 mL 超纯水,在室温条件下预先消解 2 h,加盖密封,放在微波消解仪中,按表 2 的条件进行消解。待消解完全,将消解液转至 25 mL 比色管,用少量超纯水洗涤消解罐与盖子 3 次,合并洗液,用超纯水定容至 25 mL,摇匀,澄清后待测。按上述消解过程,制备空白对照和茶叶标准物质消解液。取多元素标准储备液,加入 10%的硝酸溶液,配制成不同浓度的标准溶液,建立元素标准曲线,优化仪器参数,测定待测液元素含量,每个样品测定 3 次,取平均值。



表2 微波消解条件

Table 2 Microwave digestion conditions

| 步骤 | 升温时间/min | 温度/℃ | 保持时间/min | 功率/kW |
|----|----------|------|----------|-------|
| 1  | 5        | 120  | 5        | 1.8   |
| 2  | 5        | 150  | 5        | 1.8   |
| 3  | 5        | 170  | 5        | 1.8   |
| 4  | 5        | 180  | 10       | 1.8   |

#### 1.4 红外光谱信息采集

称取  $1.5 \pm 0.2$  mg 牛肝菌粉末和  $150.0 \pm 20.0$  mg 溴化钾粉末, 在红外灯下于玛瑙研钵中充分混合研磨, 将细粉倒入磨具中压制成厚度均匀的透明薄片。傅里叶变换红外光谱仪预热 50 min, 设置扫描范围为  $4000 \sim 400$   $\text{cm}^{-1}$ , 信号累加 16 次, 分辨率  $4$   $\text{cm}^{-1}$ , 样品重复测定 3 次, 取平均光谱。扫描前使用空白溴化钾片扣除  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$  的干扰, 并进行基线校正, 提高分辨率。

#### 1.5 数据分析

元素数据通过 SPSS 21.0 软件求平均值和标准差, 分析其相关性, 结合元素摄入量限量标准, 计算摄入风险, 矿质元素风险评估相关公式如下:

$$Q = 500 \text{ g} * 10\% * C$$

$$\text{RNI}^* = Q / \text{RNI}$$

(1)

表3 标准物质分析结果

Table 3 Results for certified materials analyses

| 元素 | 相关系数   | 检出限/ (mg/kg) | 标准值/ (mg/kg dw)  | 测定值/ (mg/kg dw)  | 回收率/% |
|----|--------|--------------|------------------|------------------|-------|
| Ba | 0.9999 | 0.0102       | $58 \pm 6$       | $56.5 \pm 7$     | 97    |
| Ca | 0.9992 | 0.1346       | $4300 \pm 400$   | $4031 \pm 386$   | 94    |
| Cd | 0.9999 | 0.0104       | $0.057 \pm 0.01$ | $0.06 \pm 0.02$  | 105   |
| Co | 0.9999 | 0.0129       | $0.18 \pm 0.02$  | $0.185 \pm 0.03$ | 103   |
| Cr | 0.9999 | 0.003        | $0.8 \pm 0.03$   | $0.85 \pm 0.02$  | 106   |
| Cu | 0.9999 | 0.1243       | $17.3 \pm 1.8$   | $16.6 \pm 1.6$   | 96    |
| Mg | 0.9998 | 0.0654       | $1700 \pm 200$   | $1650.1 \pm 190$ | 97    |
| Na | 0.9998 | 1.1213       | $44 \pm 6$       | $44.4 \pm 7.3$   | 101   |
| Ni | 0.9999 | 0.016        | $4.6 \pm 0.5$    | $4.2 \pm 0.4$    | 91    |
| Sr | 0.9999 | 0.0041       | $15.2 \pm 0.7$   | $14.6 \pm 0.5$   | 96    |
| V  | 0.9999 | 0.0215       | (0.86)           | 0.94             | 91    |
| Zn | 0.9997 | 0.1503       | $26.3 \pm 2$     | $25.4 \pm 2$     | 97    |

##### 2.1.1 元素含量测定方法学考察

经查阅相关文献, 利用茶叶标准参考物 (GBW 07605) 检验测定方法的准确性与精密度。如表 3 所示, 12 种元素标准曲线回归方程的相关系数均大于 0.999, 检测限范围为  $0.0030 \sim 1.1213$  mg/kg, 回收率在 91%~106% 之间, 大部分元素的测量值都在规定的标

$$\text{AI}^* = Q / \text{AI} \quad (2)$$

$$\text{UL}^* = Q / \text{UL} \quad (3)$$

其中: C 为牛肝菌矿质元素平均含量, 单位 mg/kg dw; 牛肝菌干重约占鲜重的 10%; Q 为通过牛肝菌摄入的矿质元素量, 单位 mg; RNI 为推荐摄入量 (Recommended nutrient intake), 单位 mg; AI 为适宜摄入量 (Adequate intake), 单位 mg; UL 为耐受最高摄入量 (Tolerable upper intake level), 单位 mg。

通过 OMNIC 9.7 软件对原始光谱进行吸光度转换、纵坐标归一化等预处理。采用 SIMCA-P<sup>+</sup> 13.0 软件对 FT-IR 数据进行标准正态变量、多元散射校正、求导、平滑等优化处理, 减弱无关干扰信息。利用 Origin 8.0 软件绘制平均光谱图。将优化处理后的元素含量数据与 FT-IR 数据串联, 形成新数据矩阵, 完成初级数据融合。利用 SIMCA-P<sup>+</sup> 13.0 软件分别对 FT-IR 和元素含量数据进行 PLS-DA 与 VIP 筛选, 提取潜在变量 (Latent variables, LVs) 和 VIP>1 的变量作为特征变量, 进行中级数据融合。利用元素含量、FT-IR、初级融合和中级融合数据, 通过 SIMCA-P<sup>+</sup> 13.0 和 MATLAB 2017 软件分别进行 PLS-DA 和 SVM 分析, 建立判别模型, 并比较分类结果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法学考察

准参考值范围内, 并且无限接近。同时, 每测定 12 个牛肝菌样品, 测定 2 个标准物质和一个空白样品, 以减少或消除不同样品与仪器所造成的干扰。结果表明, 该方法准确可靠, 可用于该物种元素含量的测定。

### 2.1.2 红外光谱采集方法学考察

为了检测傅里叶变换红外光谱法的稳定性、准确

度与重复性,取一份样品重复称量7次,分别压片后测定红外光谱信息,根据其红外光谱相似度的相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD)值,考察重现性;重复取7次同一份样品进行测定,根据其RSD值,考察精密度;取一片样品分别在0、10、20、30、40、50、60 min时测定红外光谱(每次测定完立即放到红外线下,防止受潮),根据其RSD值,考察稳定性。经测定红外光谱稳定性、精确度、重复性的匹配值分别为99.88%~99.95%、99.90%~99.93%和98.79%~99.86%,并且RSD值分别为0.0220%、0.0039%、0.4835%。结果表明,该试验方法重复性高、稳定性好、精密度高,检测数据可靠,可用于红外光谱信息的采集。

## 2.2 牛肝菌元素含量分析

由表4可知,8种牛肝菌的Ca、Mg、Na和Zn含量较高,其次为Ba、Cd、Cr、Cu和Ni,Co、Sr

和V含量较低,与Falandyz<sup>[9]</sup>和Zhang<sup>[14]</sup>等的研究结果相似。Ca、Mg、Na和Zn含量分别高达323.33(灰褐牛肝菌)、878.23(华丽牛肝菌)、589.98(砖红绒柄牛肝菌)和190.39 mg/kg dw(小美牛肝菌)。不同种类牛肝菌中Ba、Cu与Ni含量差异较小,其平均值分别为40.44、45.05和28.41 mg/kg dw;Cd含量在灰褐牛肝菌中最高(90.11 mg/kg dw),在其他种中含量较低,最高与最低含量间相差11.48倍;Cr含量差异较大,美味牛肝菌中含量最高,为117.23 mg/kg dw,绒柄牛肝菌最低,为23.76 mg/kg dw。砖红绒柄牛肝菌中Co含量高达13.42 mg/kg dw,绒柄牛肝菌中Co含量最低为2.35 mg/kg dw,两者相差近6倍;牛肝菌中Sr与V含量较少,其平均值分别为11.57和15.52 mg/kg dw。牛肝菌会根据其生长需求对所需元素种类与含量进行调节<sup>[20]</sup>,因此,元素含量在牛肝菌中分布存在显著的物种差异。Cd、Co、Mg等元素含量在不同种类牛肝菌中差异较大,可作为种类鉴别的特征元素。

表4 牛肝菌元素含量

Table 4 The element contents of *Boletaceae* (mg/kg dw, mean±SD)

| 代号 | A             | B             | C             | D             |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Ba | 29.52±8.23    | 40.61±13.02   | 29.33±21.77   | 61.87±46.81   |
| Ca | 122.02±75.03  | 323.33±151.64 | 135.64±71.96  | 238.37±124.06 |
| Cd | 14.08±11.82   | 90.11±69.05   | 8.64±5.24     | 37.2±53.56    |
| Co | 5.68±2.03     | 3.11±0.92     | 2.78±2.13     | 5.27±4.03     |
| Cr | 74.47±13.26   | 97.93±60.51   | 40.27±41.75   | 117.23±123.70 |
| Cu | 40.78±9.81    | 41.55±17.29   | 55.09±8.98    | 37.05±12.05   |
| Mg | 878.23±90.66  | 666.33±243.18 | 492.27±197.29 | 614.15±179.81 |
| Na | 107.31±16.98  | 390.38±261.51 | 327.85±205.64 | 314.52±243.74 |
| Ni | 10.31±6.30    | 29.24±7.12    | 31.95±16.29   | 28.53±12.51   |
| Sr | 13.76±18.29   | 12.08±6.35    | 5.94±4.86     | 22.8±40.36    |
| V  | 18.29±16.23   | 14.77±6.97    | 15.11±8.19    | 20.8±13.58    |
| Zn | 146.51±24.87  | 138.87±45.21  | 117.46±37.08  | 107.06±26.18  |
| 代号 | E             | F             | G             | H             |
| Ba | 22.62±8.17    | 39.09±7.01    | 31.55±14.66   | 52.29±18.01   |
| Ca | 206.88±272.62 | 102.68±23.96  | 140.89±67.01  | 275.97±178.05 |
| Cd | 8.72±5.95     | 22.4±8.32     | 7.85±7.14     | 16.75±12.09   |
| Co | 2.35±0.68     | 6.55±3.42     | 2.74±1.12     | 13.42±13.57   |
| Cr | 23.76±14.89   | 68.62±47.51   | 54.51±49.94   | 103.73±83.54  |
| Cu | 56.46±18.25   | 50.83±14.11   | 42.62±19.7    | 44.12±16.71   |
| Mg | 454.49±161.29 | 844.28±82.96  | 450.63±164.5  | 652.7±196.07  |
| Na | 286.54±121.44 | 115.09±45.81  | 223.83±182.34 | 589.98±438.19 |
| Ni | 21.18±23.57   | 21.58±8.41    | 34.15±32.06   | 47.14±47.54   |
| Sr | 4.59±5.37     | 5.09±0.71     | 7.03±3.61     | 10.73±8.23    |
| V  | 6.81±3.17     | 15.60±5.90    | 9.16±3.12     | 21.83±6.37    |
| Zn | 118.4±19.97   | 190.39±61.95  | 95.85±16.08   | 116.21±51.17  |

表5 牛肝菌元素相关系数表

Table 5 Correlation coefficient of elements in *Boletaceae*

| 元素 | Ba      | Ca     | Cd     | Co     | Cr      | Cu      | Mg     | Na      | Ni     | Sr     | V     | Zn |
|----|---------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|-------|----|
| Ba | 1       |        |        |        |         |         |        |         |        |        |       |    |
| Ca | 0.505   | 1      |        |        |         |         |        |         |        |        |       |    |
| Cd | 0.366   | 0.701  | 1      |        |         |         |        |         |        |        |       |    |
| Co | 0.569   | 0.235  | -0.118 | 1      |         |         |        |         |        |        |       |    |
| Cr | 0.906** | 0.561  | 0.564  | 0.557  | 1       |         |        |         |        |        |       |    |
| Cu | -0.641  | -0.350 | -0.432 | -0.252 | -0.827* | 1       |        |         |        |        |       |    |
| Mg | 0.212   | -0.175 | 0.214  | 0.422  | 0.447   | -0.339  | 1      |         |        |        |       |    |
| Na | 0.463   | 0.786* | 0.242  | 0.503  | 0.380   | -0.076  | -0.363 | 1       |        |        |       |    |
| Ni | 0.465   | 0.486  | 0.038  | 0.476  | 0.299   | -0.076  | -0.458 | 0.845** | 1      |        |       |    |
| Sr | 0.750*  | 0.407  | 0.388  | 0.193  | 0.809*  | -0.825* | 0.256  | 0.145   | -0.020 | 1      |       |    |
| V  | 0.769*  | 0.236  | 0.188  | 0.720* | 0.816*  | -0.546  | 0.571  | 0.327   | 0.231  | 0.665  | 1     |    |
| Zn | -0.105  | -0.318 | 0.184  | 0.136  | 0.022   | 0.187   | 0.795* | -0.479  | -0.500 | -0.238 | 0.144 | 1  |

注: \*在 0.05 水平 (双侧) 上显著相关; \*\*在 0.01 水平 (双侧) 上显著相关。

表6 牛肝菌矿质元素风险评估

Table 6 Risk assessment of mineral elements in different kinds of *Boletaceae*

| 代号 | Ca    |       | Cu    |       | Mg    | Na    | Zn    |       |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|    | RNI*  | UL*   | RNI*  | UL*   | RNI*  | AI*   | RNI*  | UL*   |
| A  | 0.008 | 0.003 | 2.549 | 0.255 | 0.133 | 0.004 | 0.586 | 0.183 |
| B  | 0.020 | 0.008 | 2.597 | 0.26  | 0.101 | 0.013 | 0.555 | 0.174 |
| C  | 0.008 | 0.003 | 3.443 | 0.344 | 0.075 | 0.011 | 0.47  | 0.147 |
| D  | 0.015 | 0.006 | 2.316 | 0.232 | 0.093 | 0.010 | 0.428 | 0.134 |
| E  | 0.013 | 0.005 | 3.529 | 0.353 | 0.069 | 0.010 | 0.474 | 0.148 |
| F  | 0.006 | 0.003 | 3.177 | 0.318 | 0.128 | 0.004 | 0.762 | 0.238 |
| G  | 0.009 | 0.004 | 2.664 | 0.266 | 0.068 | 0.007 | 0.383 | 0.12  |
| H  | 0.017 | 0.007 | 2.758 | 0.276 | 0.099 | 0.02  | 0.465 | 0.145 |

### 2.3 牛肝菌元素相关性分析

元素间的相互作用是样品元素含量存在差异的影响因素之一,表5为 Pearson 相关系数 ( $r$ ) 矩阵,  $r > 0$  代表两种元素为正相关,一种元素促进另一种元素的吸收;  $r < 0$  代表两种元素为负相关,一种元素对另一种元素的吸收可能存在抑制作用。牛肝菌中元素的相关性分析结果显示 Ba-Cr ( $r=0.906$ ) 与 Na-Ni ( $r=0.845$ ) 呈极显著正相关 ( $p < 0.01$ ), Ba-Sr ( $r=0.750$ )、Ba-V ( $r=0.769$ )、Ca-Na ( $r=0.786$ )、Co-V ( $r=0.720$ )、Cr-Sr ( $r=0.809$ )、Cr-V ( $r=0.816$ ) 为显著正相关 ( $p < 0.05$ ), Cr-Cu ( $r=-0.827$ )、Cu-Sr ( $r=-0.825$ ) 为显著负相关 ( $p < 0.05$ )。牛肝菌元素间存在着复杂的相互作用关系,主要为正相关,表明牛肝菌元素间的相互作用以协同作用为主。

### 2.4 牛肝菌健康风险评估

#### 2.4.1 牛肝菌矿质元素风险评估

根据中国居民膳食营养素参考摄入量 (2018 版) 相关规定, RNI 和 AI 用于评估矿质元素摄入不足的风险, UL 用于评估矿质元素摄入过量的风险。中国居民膳食指南 (2016 版) 推荐蔬菜日摄入量为 300~500 g, 取最大值 500 g, 根据公式 (1)、(2) 和 (3) 分别计算相应的比值 RNI\*、AI\* 和 UL\*, 比值小于 1 时食用安全, 大于 1 时表明存在潜在的健康风险。由表 6 可知, 每天食用 500 g 新鲜牛肝菌, 摄入 Ca、Mg、Na 和 Zn 的量均明显低于 RNI、AI 与 UL, 没有健康风险, 摄入 Cu 的量高于 RNI, 低于 UL, 在安全范围以内。牛肝菌矿质元素含量丰富, 适当食用可以补充人体所需的大量元素与微量元素。

#### 2.4.2 牛肝菌重金属 Cd 风险评估

依据 FAO/WHO 重金属摄入量限量标准, Cd 暂定每周可耐受摄入量 (Provisionally tolerable weekly intake, PTWI) 不能超过  $0.007 \text{ mg/kg}^{[21]}$ , 一个 60 kg

成年人每周允许最大摄入量为： $60 \text{ kg} \times 0.007 \text{ mg/kg} = 0.42 \text{ mg}$ 。一个成年人每周摄入  $300 \text{ g}$  新鲜牛肝菌<sup>[22]</sup>，则通过牛肝菌摄入的 Cd 量为： $300 \text{ g} \times 10\% \times \text{Cd 含量}$ 。由表 7 可知，成年人食用  $300 \text{ g}$  新鲜牛肝菌，通过灰褐牛肝菌和美味牛肝菌摄入的 Cd 分别是其每周允许最大摄入量的 6.43 与 2.67 倍，存在严重暴露风险，小美牛肝菌和砖红绒盖牛肝菌 Cd 摄入量均值也超过安全水平，其他 4 种牛肝菌 Cd 摄入量均值在安全范围内。从牛肝菌 Cd 含量的角度来看，部分牛肝菌存在暴露风险，建议消费者适量食用。

表 7 成年人每周 Cd 摄入量均值 (mg)

| Table 7 Weekly Cd average intake for adults (mg) |      |      |      |      |
|--|------|------|------|------|
| 代号   | A    | B    | C    | D    |
| Cd 摄入量   | 0.42 | 2.70 | 0.26 | 1.12 |
| 代号   | E    | F    | G    | H    |
| Cd 摄入量   | 0.26 | 0.67 | 0.24 | 0.50 |

### 2.5 红外光谱分析

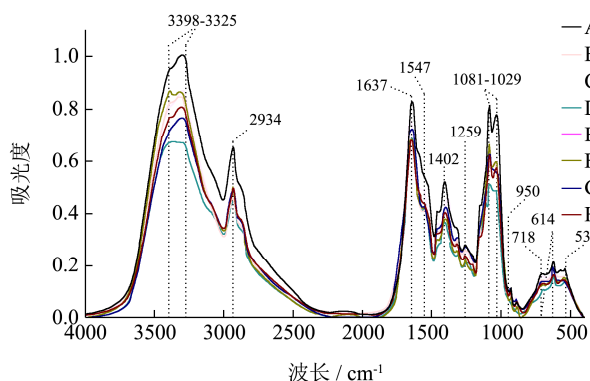


图 1 牛肝菌平均红外光谱图

Fig.1 The FT-IR average spectra of *Boletaceae* samples

不同种类牛肝菌平均光谱如图 1，在  $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$  波段内有明显特征吸收峰，具有指纹特性。 $3398$ 、 $3325 \text{ cm}^{-1}$  附近的强吸收峰归属为多糖、蛋白质、纤维素的 O-H 伸缩振动和蛋白质、氨基酸的 N-H 伸缩振动； $2934 \text{ cm}^{-1}$  附近主要为多糖、蛋白质等的甲基对称伸缩振动； $1637 \text{ cm}^{-1}$  附近吸收峰归属为蛋白质酰胺 I 带和 C=O 伸缩振动。所有牛肝菌样品在  $1547$ 、 $1453$ 、 $1402$ 、 $1315$ 、 $1259$ 、 $1081$ 、 $1029 \text{ cm}^{-1}$  等波数附近有明显吸收峰，但其吸收峰强度有差异。 $1547 \text{ cm}^{-1}$  附近为蛋白质酰胺 II 带的 C=O 伸缩振动吸收峰； $1453 \text{ cm}^{-1}$  附近归属为亚甲基弯曲振动； $1402$ 、 $1315$ 、 $1259 \text{ cm}^{-1}$  等附近为多糖、蛋白质等的 C-O-H 弯曲振动和亚甲基变形振动； $1081$ 、 $1029 \text{ cm}^{-1}$  附近为蛋白质、糖类的 C-O 和 C-C 伸缩振动。 $950 \sim 530 \text{ cm}^{-1}$  波段有多个弱吸收峰，主要为糖类异构体特征峰<sup>[23,24]</sup>。特征峰分析结果显示，8 种牛肝菌原始光谱的总体特征较为相似，

主要为蛋白质、多糖和碳水化合物的吸收峰，共有峰的峰形、峰位大致相同，峰高具有差异，表明不同种类牛肝菌化学组分基本相同，而化学成分的积累程度存在差异，与杨天伟<sup>[25]</sup>、Yao<sup>[23]</sup>等的研究结果相同。

### 2.6 特征变量提取

由元素 VIP 得分图 (图 2a) 可知，Cd、Co、Mg、Na 和 Zn 的 VIP 得分大于 1，能够代表元素信息的重要特征，可以作为种类鉴别的特征变量，此结果与 2.2 牛肝菌元素含量分析部分 (不同种类牛肝菌 Cd、Co、Mg 等元素的含量存在较大差异) 的结果一致。对 FT-IR 进行 PLS-DA，提取  $Q^2$  最大时的 LVs 作为特征变量。 $R^2Y$  表示累积贡献，值越大，包含信息越多， $Q^2$  评价模型的预测性能， $Q^2$  值达到最大值时，预测模型性能最好<sup>[26,27]</sup>。图 2b 为 FT-IR 的 LVs 提取结果，前 30 个 LVs 累计贡献率为 91.95%，能够代表 FT-IR 中与种类鉴别有关的主要信息。组合两种数据的特征变量，形成新数据集，用于中级数据融合。

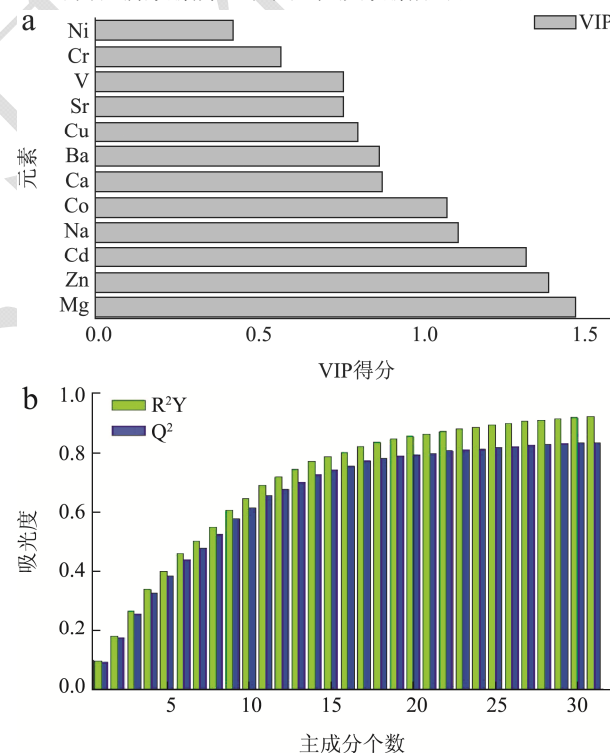


图 2 特征变量提取结果图

Fig.2 The results of feature variable extraction

注：a：元素的 VIP 得分图；b：红外光谱的 LVs 图。

### 2.7 偏最小二乘判别分析

PLS-DA 是一种连接两个数据矩阵 X 和 Y，实现对不同组样本优化分离的化学计量学方法，在分析高度共线数据和受干扰数据方面具有明显优势<sup>[26]</sup>。Kennard-stone 算法筛选 289 个 (2/3) 样品作为训练集，

其余 140 个 (1/3) 样品作为预测集, 训练集数据建立牛肝菌种类鉴别模型, 预测集数据用于验证模型的预测能力。模型参数交叉验证均方差 (Root mean squares error of cross-validation, RMSECV)、校正均方根误差 (Root mean square error of estimation, RMSEE) 与预测集正确率用于评价模型预测性能, RMSEE 与 RMSECV 越小, 模型的稳定性和预测效果越好<sup>[27]</sup>。

利用元素含量、FT-IR、初级融合和中级融合数据分别建立 PLS-DA 判别模型, 鉴别牛肝菌种类。结果如表 8 所示, 模型鉴别效果为中级融合>FT-IR>初级融合>元素含量。利用单一的元素含量信息鉴别牛肝菌种类, 建模效果不理想, 可能是由于牛肝菌元素含量信息受其种类、产地、生长环境、人类活动等诸多因素影响。FT-IR 与元素含量数据预测集正确率分别为 87.14%和 41.43%, 前者分类效果优于后者, 且相较于后者, FT-IR 的 RMSEE 与 RMSECV 较小, 其模型稳定性更好。初级融合预测集正确率低于 FT-IR 和中级融合, 将数据进行简单串联, 影响建模效果。中级融合鉴别效果最佳, 训练集和预测集正确率分别达到 98.96%和 100%。

表 8 PLS-DA 对不同数据集的分类结果

**Table 8 The results of PLS-DA on different data matrixes**

| 数据集来源 | RMSEE    | RMSECV   | 训练集正确率/% | 预测集正确率/% |
|-------|----------|----------|----------|----------|
| 元素含量  | 0.269622 | 0.273633 | 39.45    | 41.43    |
| FT-IR | 0.179002 | 0.217603 | 85.12    | 87.14    |
| 初级融合  | 0.177525 | 0.211567 | 74.05    | 75       |
| 中级融合  | 0.110381 | 0.154015 | 98.96    | 100      |

### 2.8 支持向量机判别分析

SVM 是一种有监督的模式识别技术, 能有效防止过拟合现象, 分类精确度高<sup>[28]</sup>。用惩罚参数、核函数参数和预测集正确率评价分类模型性能。图 3 为基于元素含量、FT-IR、初级融合和中级融合数据的 SVM 判别模型对不同种类牛肝菌的实际分类和预测分类图, 分别有 44、4、5、0 个样品分类错误, 中级融合技术结合 SVM 模型对牛肝菌种类分类效果最佳, 达到了 100%, 优于 Yao 等<sup>[29]</sup>的牛肝菌种类鉴别结果。

表 9 为 SVM 判别模型对不同数据集的分类结果, 元素含量、FT-IR 与初级融合预测集正确率分别为 68.57%、97.14%和 96.43%, 初级融合的鉴别效果低于 FT-IR, 无效信息相互叠加, 降低了初级融合的分类效果<sup>[19]</sup>。中级融合训练集和预测集正确率均为 100%, 表明中级融合结合 SVM 判别模型能够准确鉴别牛肝菌种类。

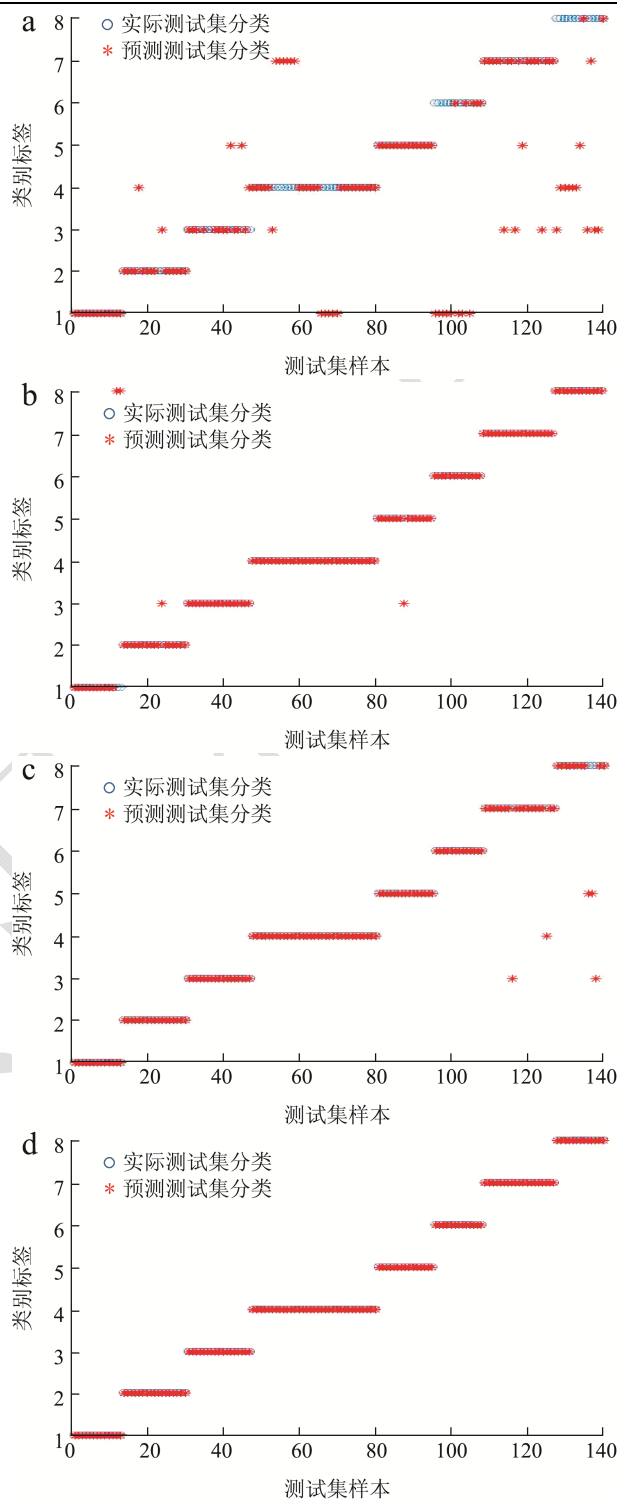


图 3 SVM 对测试集的实际分类和预测分类图

**Fig.3 The plot of actual and predicted category of test samples by SVM**

注: (a)元素含量; (b)FT-IR; (c)低级融合; (d)中级融合。

比较表 8 和表 9 可知, 元素含量数据对牛肝菌的鉴别效果最差, 初级融合预测集正确率低于 FT-IR, 中级融合的鉴别效果最佳, SVM 判别模型的鉴别效果优于 PLS-DA 模型。采用中级数据融合建立 SVM 判别模型, 能够快速、准确地鉴别牛肝菌种类。

表9 SVM 对不同数据集的分类结果

Table 9 The results of SVM on different data matrixes

| 数据集来源 | 惩罚参数     | 核函数参数                   | 训练集正确率/% | 预测集正确率/% |
|-------|----------|-------------------------|----------|----------|
| 元素含量  | 181.0193 | $9.5367 \times 10^{-7}$ | 58.82    | 68.57    |
| FT-IR | 65536    | $6.1035 \times 10^{-5}$ | 88.93    | 97.14    |
| 初级融合  | 524288   | $2.6974 \times 10^{-6}$ | 88.93    | 96.43    |
| 中级融合  | 2        | 0.125                   | 100      | 100      |

### 3 结论

本文采用电感耦合等离子体原子发射光谱法和傅里叶变换红外光谱法,测定8种429份野生牛肝菌的元素含量和FT-IR数据,通过分析其元素含量特征,评价其营养价值与暴露风险;运用数据融合策略,建立PLS-DA和SVM判别模型,比较元素含量、FT-IR与融合数据对不同种类牛肝菌的鉴别效果。结果表明:牛肝菌矿物质含量丰富,适量食用,可以补充人体所需的多种矿质元素,但部分牛肝菌存在Cd暴露风险;利用中级融合数据分别建立PLS-DA与SVM判别模型,训练集正确率分别为98.96%与100%,预测集正确率均为100%,明显优于其他技术,表明中级融合结合SVM判别模型,能够快速、准确鉴别牛肝菌种类。系统性的对牛肝菌进行元素含量特征分析、营养价值评价、风险评估和种类鉴别,可为消费者选择更具营养价值且质量安全的牛肝菌提供参考,同时为市场质量控制和食用菌资源的开发利用提供理论依据。

### 参考文献

- [1] Liu Y T, Chen D, You Y X, et al. Nutritional composition of boletus mushrooms from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activities [J]. Food Chemistry, 2016, 211: 83-91
- [2] Rathore H, Prasad S, Sharma S. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review [J]. Pharma Nutrition, 2017, 5(2): 35-46
- [3] Kalač P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93(2): 209-218
- [4] Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health [J]. Journal of Research in Medical Sciences, 2014, 19(2): 164-174
- [5] Dimitrijevic M V, Mitic V D, Cvetkovic J S, et al. Update on element content profiles in eleven wild edible mushrooms from family *Boletaceae* [J]. European Food Research and Technology, 2016, 242(1): 1-10
- [6] Fraga C G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health [J]. Molecular Aspects of Medicine, 2005, 26(4-5): 235-244
- [7] Liu B R, Huang Q, Cai H J, et al. Study of heavy metal concentrations in wild edible mushrooms in Yunnan Province, China [J]. Food Chemistry, 2015, 188: 294-300
- [8] Širić I, Humar M, Kasap A, et al. Heavy metal bioaccumulation by wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(18): 18239-18252
- [9] Falandysz J, Zhang J, Wiejak A, et al. Metallic elements and metalloids in *Boletus luridus*, *B. magnificus* and *B. tomentipes* mushrooms from polymetallic soils from SW China [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 142: 497-502
- [10] Brzezicha-Cirocka J, Mędyk M, Falandysz J, et al. Bio- and toxic elements in edible wild mushrooms from two regions of potentially different environmental conditions in eastern Poland [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(21): 21517-21522
- [11] Brzostowski A, Jarzyńska G, Kojta A K, et al. Variations in metal levels accumulated in Poison Pax (*Paxillus involutus*) mushroom collected at one site over four years [J]. Journal of Environmental Science and Health Part A, 2011, 46(6): 581-588
- [12] 吴素蕊,罗晓莉,刘蓓,等.野生食用菌研究开发浅析及建议[J].食品科技,2010,35(4):100-103  
WU Su-ru, LUO Xiao-li, LIU Bei, et al. Analyse and advise to research and development of wild edible fungi [J]. Food Science and Technology, 2010, 35(4): 100-103
- [13] Casale M, Bagnasco L, Zotti M, et al. A NIR spectroscopy-based efficient approach to detect fraudulent additions within mixtures of dried *porcini* mushrooms [J]. Talanta, 2016, 160: 729-734
- [14] Zhang D, Zhang Y, Morawska E, et al. Trace elements in *Leccinum scabrum* mushrooms and topsoils from Kłodzka Dale in sudety mountains, Poland [J]. Journal of Mountain Science, 2013, 10(4): 621-627
- [15] Epova E N, Bérail S, Zuliani T, et al.  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratio



- and multielemental signatures as indicators of origin of European cured hams: The role of salt [J]. *Food Chemistry*, 2018, 246: 313-322
- [16] Choong Y K, Lan J, Lee H L, et al. Differential identification of mushrooms sclerotia by IR macro-fingerprint method [J]. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, 152: 34-42
- [17] Khaleghi B, Khamis A, Karray F O, et al. Multisensor data fusion: A review of the state-of-the-art [J]. *Information Fusion*, 2013, 14(1): 28-44
- [18] Li Y, Zhang J, Li T, et al. Geographical traceability of wild *Boletus edulis* based on data fusion of FT-MIR and ICP-AES coupled with data mining methods (SVM) [J]. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, 177: 20-27
- [19] 姚森,李涛,刘鸿高,等.多光谱数据融合技术对绒柄牛肝菌产地的鉴别研究[J].*食品科学*,2018,39(8):212-217  
YAO Sen, LI Tao, LIU Hong-gao, et al. Geographic identification of *Boletus tomentipes* by multi-spectral information fusion [J]. *Food Science*, 2018, 39(8): 212-217
- [20] Jarzyńska G, Falandysz J. Trace elements profile of Slate Bolete (*Leccinum duriusculum*) mushroom and associated upper soil horizon [J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2012, 121: 69-75
- [21] JECFA. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Sixty-first Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [M] // WHO. WHO Technical Report Series 922. Geneva. 2004
- [22] Krasieńska G, Falandysz J. Mercury in Orange Birch Bolete *Leccinum versipelle* and soil substratum: bioconcentration by mushroom and probable dietary intake by consumers [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(1): 860-869
- [23] Yao S, Li T, Li J Q, et al. Geographic identification of *Boletus* mushrooms by data fusion of FT-IR and UV spectroscopies combined with multivariate statistical analysis [J]. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 198: 257-263
- [24] Li Y, Wang Y Z. Synergistic strategy for the geographical traceability of wild *Boletus tomentipes* by means of data fusion analysis [J]. *Microchemical Journal*, 2018, 140: 38-46
- [25] 杨天伟,张霁,史云东,等.红外光谱结合多元统计分析快速鉴别不同种类牛肝菌[J].*食品科学*,2015,36(24):116-121  
YANG Tian-wei, ZHANG Ji, SHI Yun-dong, et al. Infrared spectroscopy combined with multivariate statistical analysis to quickly identify different species of bolete mushrooms [J]. *Food Science*, 2015, 36(24): 116-121
- [26] Gromski P S, Muhamadali H, Ellis D I, et al. A tutorial review: metabolomics and partial least squares-discriminant analysis-a marriage of convenience or a shotgun wedding [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 879: 10-23
- [27] Yao S, Li T, Liu H G, et al. Traceability of Boletaceae mushrooms using data fusion of UV-visible and FT-IR combined with chemometrics methods [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(6): 2215-2222
- [28] Barbosa R M, De Paula E S, Paulelli A C, et al. Recognition of organic rice samples based on trace elements and support vector machines [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2016, 45: 95-100
- [29] Yao S, Li J Q, Li T, et al. Discrimination of Boletaceae mushrooms based on data fusion of FT-IR and ICP-AES combined with SVM [J]. *International Journal of Food Properties*, 2018, 21(1): 255-266