

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2022100801

郑煜, 罗杨, 吴永贵, 等. 肠道微生物对蔬菜中铬生物可给性的影响及人体健康风险评估[J]. 环境化学, 2023, 42(4): 1097-1108.

ZHENG Yu, LUO Yang, WU Yonggui, et al. Effect of gut microbiota on bioaccessibility of chromium in vegetables and human health risk assessment[J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (4): 1097-1108.

## 肠道微生物对蔬菜中铬生物可给性的影响及 人体健康风险评估\*

郑煜<sup>1</sup> 罗杨<sup>1</sup> 吴永贵<sup>1,2,3\*\*</sup> 彭小裕<sup>1</sup> 伍建业<sup>1</sup> 彭子乐<sup>1</sup> 罗鉴<sup>1</sup>

(1. 贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳, 550025; 2. 贵州喀斯特环境生态系统教育部野外科学观测研究站, 贵阳, 550025;  
3. 贵州省劣境生态修复技术工程研究中心, 贵阳, 550025)

**摘要** 为更加全面、准确评估蔬菜中重金属铬(Cr)生物可给性及对人体健康风险的影响, 本文利用生物原理提取法(physiologically based extraction test, PBET)联合微生物生态系统(simulator of human intestinal microbial ecosystem, SHIME)模拟实验, 系统分析了贵州某铅锌矿区4种常见蔬菜(辣椒、芥菜、小白菜和甘蓝)在不同食用条件(生和熟)下Cr的含量变化, 探究在肠道微生物影响下蔬菜Cr在不同消化吸收阶段(胃、小肠和结肠)中生物可给性差异, 并对比了各消化阶段的膳食暴露风险. 结果表明, 4种蔬菜样品中Cr的含量(干重)表现为小白菜(13.86±7.33)mg·kg<sup>-1</sup>>芥菜(9.84±1.79)mg·kg<sup>-1</sup>>甘蓝(9.53±1.60)mg·kg<sup>-1</sup>>辣椒(5.28±2.48)mg·kg<sup>-1</sup>; 虽煮熟处理可显著降低4种蔬菜样品中的Cr含量(降低范围54.98%—63.44%,  $P<0.05$ ), 但生熟蔬菜样品中Cr含量仍超过国家食品卫生标准中的标准限值(GB 2762—2017: 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>). 此外, 研究发现结肠阶段中Cr的生物可给性最高, 分别为成人:(22.56%±9.23%)—(36.04%±11.45%); 儿童:(19.74%±8.26%)—(34.53%±10.82%), 分别是小肠阶段的1.10—6.00倍和1.05—5.77倍, 且蔬菜高温处理后增加了结肠阶段Cr的生物可给性(6.11%—21.51%). 对比各消化阶段的危害商指数(HQ)发现, 基于结肠阶段生物可给性计算的HQ累计概率较高, 相比小肠阶段提高了约6.17%—62.12%, 表明结肠阶段中肠道微生物作用下可增加蔬菜中Cr的生物可给性和提高人体健康风险. 因此, 在未来开展人体健康风险评估时, 需综合评估不同食用条件下食物中重金属在结肠阶段中生物可给性的健康风险, 以期为我国膳食重金属暴露的人体健康风险评估提供更多科学参考.

**关键词** 蔬菜, 铬, 生物可给性, 肠道微生物, 健康风险.

## Effect of gut microbiota on bioaccessibility of chromium in vegetables and human health risk assessment

ZHENG Yu<sup>1</sup> LUO Yang<sup>1</sup> WU Yonggui<sup>1,2,3\*\*</sup> PENG Xiaoyu<sup>1</sup>  
WU Jianye<sup>1</sup> PENG Zile<sup>1</sup> LUO Jian<sup>1</sup>

(1. College of Resource and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang, 550025, China; 2. Guizhou Karst Environmental Ecosystem Observation and Research Station, Ministry of Education, Guiyang, 550025, China; 3. Guizhou Hostile Environment Ecological Restoration Technology Engineering Research Centre, Guiyang, 550025, China)

2022年10月8日收稿(Received: October 8, 2022).

\* 国家自然科学基金(52160015), 贵州省科技计划项目(黔科中引地[2022]4022), 贵州省百层次人才项目(黔科合平台人才[2020]6002)和国家重点研发计划项目(2018YFC1802602)资助.

**Supported by** the National Natural Science Foundation of China (52160015), Guizhou Provincial Science and Technology Development Project (QKZYD [2022]4022), Guizhou Hundred Level Talents Project (Guizhou Kehe Platform Talents [2020]6002) and the National Key R&D Projects of China (2018YFC1802602).

\*\* 通信联系人 **Corresponding author**, Tel: 13885131925, E-mail: ygwu72@126.com

**Abstract** To more comprehensively and accurately assess the bioaccessibility of Chromium (Cr) in vegetables and its human health risk, the PBET method combined with SHIME model was used to determine the vegetable concentration of Cr in different treatments (raw and cooked) and the effects of gut microbiota on Cr bioaccessibility. Four common vegetables (pepper, mustard, pakchoi and cabbage) were collected from Lead-Zinc mining region in Guizhou Province. The results showed that the contents (dry weight) of Cr in the four varieties of vegetables were pakchoi ( $13.86 \pm 7.33$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  > mustard ( $9.84 \pm 1.79$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  > cabbage ( $9.53 \pm 1.60$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  > pepper ( $5.28 \pm 2.48$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Although the cooking process could significantly reduce the contents of Cr in vegetables (range of 54.98%—63.44%,  $P < 0.05$ ), the contents of Cr both in raw and cooked vegetable samples were still exceeds limit standard of Cr stipulated in the National Food Hygiene Standard (GB 2762—2017:  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). In addition, the study found that the highest bioaccessibility of Cr in the colon phase, adult: ( $22.56\% \pm 9.23\%$ )—( $36.04\% \pm 11.45\%$ ); child: ( $19.74\% \pm 8.26\%$ )—( $34.53\% \pm 10.82\%$ ), which was 1.10—6.00 times and 1.05—5.77 times higher than those in the small intestine phase, respectively. And the cooking process significantly increased the bioaccessibility of Cr in the colon phase (6.11%—21.51%). Compared with the hazard quotient (HQ) in different digestion phases, the cumulative probability of HQ calculated based on the bioaccessibility of Cr in the colon phase showed higher health risk, which was about 6.17%—62.12% higher than in the small intestinal phase. The result indicated that the gut microbiota in the colon phase could increase the bioaccessibility of Cr in vegetables and improve human health risk. Therefore, it was necessary to comprehensively evaluate the bioaccessibility of heavy metals in foods in the colon phase under different edible conditions in future research, to provide more scientific reference for human health risk assessment of dietary heavy metal exposure.

**Keywords** vegetables, chromium, bioaccessibility, gut microbiota, health risk.

铬(chromium, Cr)是一种广泛存在于自然环境中的过渡金属元素,同时也是一种毒性较强的重金属污染物,可通过物质循环过程进入食物链后在人体内蓄积,从而导致人体机能出现功能性障碍和不可逆性损伤,对人体健康构成潜在威胁<sup>[1-2]</sup>.随着工业的快速发展,重金属 Cr 及其化合物作为重要的基础原料被广泛应用于电镀、印染、鞣革、化工等行业,但由于生产过程中大量含 Cr 废弃物的随意排放,造成土壤 Cr 污染问题日益严重<sup>[3]</sup>.污染土壤中 Cr 元素进入人体的途径包括无意口部摄入、饮食摄入、呼吸和皮肤接触等,其中通过食物链传递作用形成的饮食摄入常被认为是土壤 Cr 进入人体的主要途径<sup>[4]</sup>.作为人们日常饮食中重要的组成部分,蔬菜在为人体提供多种维生素和矿物质的同时,也成为土壤 Cr 元素迁移与生物富集过程中重要的载体.长期摄入受重金属 Cr 污染的蔬菜会导致 Cr 元素积累在肺、肝、肾和分泌腺中,对人体肝、肾等器官和 DNA 造成损伤,甚至可能会产生致癌效应<sup>[5-6]</sup>.因此,开展蔬菜中重金属 Cr 的人体健康风险的科学评估具有重要意义.

近年来,体外试验(食物基质中污染物溶解于胃肠消化液中且能被人体所吸收最大部分,即生物可给性)被国内外学者广泛应用于食物中重金属的人体健康风险研究中<sup>[7]</sup>.因体外试验(*in vitro*)具有较强的可控性和重复性,且试验周期短和实际应用中不受限制等优点,在国际上已逐步形成了一套较为完善的人体健康风险评估体系<sup>[8]</sup>.但目前大多数应用 *in vitro* 开展的健康风险评估主要基于胃和小肠阶段中重金属生物可给性,未考虑到结肠阶段.通常认为,小肠作为人体的主要吸收器官,食物基质中重金属溶出后基本被小肠中的肠壁细胞吸收<sup>[9]</sup>;但食物基质中未溶出的重金属可随食糜进入人体的大肠,即人体结肠阶段.人体结肠中存在大量的肠道微生物(至少约 1000 种不同类型的微生物,菌落总数达到  $1 \times 10^{14}$ ),这些微生物具有较强的代谢能力,在人体消化过程中对于食物残渣中重金属元素的代谢具有影响<sup>[10]</sup>.由此可见,未考虑结肠阶段食物中重金属生物可给性的人体健康风险评估方法是不够全面的. SHIME 模型是一种体外条件下动态模拟人体胃肠环境及微生物生态系统<sup>[11]</sup>.目前,国内外学者利用该体外模型报道了肠道微生物对土壤和稻米中 Cr 的代谢影响<sup>[12-13]</sup>,但有关利用 SHIME 模型研究肠

道微生物对于矿区常见蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性及人体健康风险的影响鲜有报道。

本文的主要研究内容为: (1)以铅锌矿区 4 种蔬菜为研究对象, 分析蔬菜样品在生和煮熟两种不同条件下重金属 Cr 的含量; (2)采用体外方法(PBET<sup>[14]</sup>联合 SHIME 模型)测定蔬菜中 Cr 在胃、小肠和结肠阶段的生物可给性, 并分析两名不同宿主肠道微生物对 Cr 的代谢影响; (3)运用人体健康风险评估模型评估当地居民膳食暴露风险, 并对比基于 Cr 总量和生物可给性的人体健康风险。研究结果将对更全面地进行膳食重金属暴露的健康风险评估起到推动作用, 也对今后开展基于肠道微生物的人群健康效应研究提供参考。

## 1 材料与方法(Materials and methods)

### 1.1 样品的采集分析

供试蔬菜样品于 2020 年 9 月采自贵州某铅锌矿区内周边居民蔬菜种植地(104° 13'—105° 1'E, 26° 47'—27° 27' N)。在设置的采样区内采用五点取样法, 通过连根拔起的采摘方式随机采集点位上的大小均匀的蔬菜植株(5—10 株)并避开遭受病虫害的样本, 现场混合均匀后取 1 kg 作为该采样点的 1 个蔬菜样本并贴上标签, 装入便携式冷藏箱中。采集的样品包含辣椒(*Capsicum annuum* L.)( $n=14$ )、芥菜(*Brassica juncea*(L.) Czern. et Coss)( $n=10$ )、小白菜(*Brassica chinensis* L.)( $n=7$ )和甘蓝(*Brassica oleracea* var. *capitata* L.)( $n=4$ )4 种当地居民常见种植和经常食用的蔬菜, 共计 35 个蔬菜样品。

当日运回的新鲜蔬菜样品在实验室用去离子水清洗掉表面土壤和浮尘后, 分取可食用部分后再用去离子水清洗 3 次, 室温沥干表面附着水份, 然后称取蔬菜可食用部分于 100 °C 纯水中煮沸 5 min, 作为熟蔬菜样品<sup>[15]</sup>; 同时将生鲜蔬菜样品可食用部分置于 100 °C 烘箱中杀青 15 min, 随后将生熟两种蔬菜样品分别置于 70 °C 烘箱中低温烘干、切碎、研磨、过 100 目筛网后装入密封保存袋备用<sup>[16]</sup>。

蔬菜样品的消解方法根据国家标准(GB 5009.123—2014), 经 HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>(9:1, V:V, 优级纯)溶液消解, 并采用电感耦合等离子体发射光谱(inductively coupled plasma optical emission spectrometer, ICP-OES)(ICAP 7400, Thermo Scientific 公司, 美国)测定样品中 Cr 含量。为确保实验数据的准确可靠性, 同一批次消解过程中加入国家标准物质(GBW10036, 中国计量科学研究院, Cr: 0.105 mg·kg<sup>-1</sup>)、空白样品和并行样品进行质量控制, 标准物质的平均回收率为 98.9%(92.3%—102.8%), 其结果符合质控要求。

### 1.2 *in vitro* 实验

本研究使用的 *in vitro* 实验方法为 PBET 法(胃和小肠阶段)结合 SHIME 模型(结肠阶段), 其中结肠阶段中肠道微生物样本来源于两名健康宿主(1 名 6 岁儿童与 1 名 24 岁成人)的新鲜粪便样品(两名自愿者在本实验开始前 6 个月均未服用抗生素等药物)。将含有大量结肠微生物的新鲜粪便菌液分别接种于 SHIME 模型的结肠阶段, 并利用智能溶出仪(RC-6)进行培养。培养期间, 每天定时向溶出罐中输入食物营养液, 同时实时调节 pH 和搅拌速率, 恒温水浴槽维持 37 °C 恒温状态。每 6 小时向溶出罐中通入氮气以保证定植过程中的厌氧环境。经过 3 周至 4 周的培养, 结肠阶段肠道微生物的发酵活性(乙酸(1748.10±51.11) mg·L<sup>-1</sup>, 丙酸(530.60±22.07) mg·L<sup>-1</sup>)和群落组成(包含(8.69±0.12) lg CFU·mL<sup>-1</sup> 总好氧菌、(7.62±0.09) lg CFU·mL<sup>-1</sup> 总厌氧菌)符合后续开展的实验要求<sup>[17-18]</sup>。实验具体步骤如下:

(1)胃阶段: 准确称取 3 g 蔬菜样品于灭菌离心管中, 加入模拟胃消化液(内含柠檬酸、苹果酸、乳酸、冰乙酸和氯化钠)与胃蛋白酶, 并使用盐酸(优级纯)调节 pH 至 1.5。每个蔬菜样品设置 3 个平行, 置于 37 °C 恒温水浴振荡箱中匀速振荡 1 h, 胃模拟消化结束后吸取反应液, 并使用 0.22 μm 无机微孔滤膜过滤, 4 °C 保存待测。

(2)小肠阶段: 向胃模拟阶段结束后的消化液中加入模拟小肠消化液(内含胰蛋白酶和胆汁盐), 并使用饱和的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液调节反应液的 pH 值至 7.0, 继续置于 37 °C 恒温水浴振荡箱中匀速振荡, 4 h 后吸取小肠反应液, 过 0.22 μm 无机微孔滤膜, 4 °C 保存待测。

(3)结肠阶段: 将小肠模拟阶段结束后的消化液和蔬菜残渣迅速转移至无菌厌氧血清瓶内, 分别从成人和儿童 SHIME 模型的结肠阶段中吸取含有人体肠道微生物的结肠液加入, 并立即通入氮气冲洗, 以保证厌氧条件; 继续置于 37 °C 恒温水浴振荡箱中匀速振荡, 48 h 后吸取结肠消化液, 过 0.22 μm 无

机微孔滤膜, 4 ℃ 保存待测。

模拟胃、小肠和结肠阶段反应液中的重金属 Cr 含量采用 ICP-OES 进行测定, 每个消化阶段设置空白样品和平行样品进行质量控制, 同时在分析过程中为确保仪器的稳定性, 重复测量标准样品 (BY400032, Cr: 1.80 mg·L<sup>-1</sup>) 24 次, 平均回收率为 (103.52%±0.57%), 结果符合质控要求。

蔬菜中重金属 Cr 在模拟胃、小肠与结肠阶段的生物可给性 (BA) 由公式 (1) 计算<sup>[19]</sup>:

$$BA(\%) = \frac{C_1 \times V}{C_2 \times M} \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $C_1$  为胃、小肠和结肠阶段中重金属 Cr 浓度 (mg·L<sup>-1</sup>),  $V$  为各阶段消化液的总体积 (L),  $C_2$  为蔬菜样品总 Cr 浓度 (mg·kg<sup>-1</sup>),  $M$  为蔬菜样品称取质量 (kg)。

### 1.3 蔬菜中 Cr 的人体健康风险评估

为了评估蔬菜中 Cr 的膳食健康风险, 采用美国环境保护署开发的健康风险评估模型 (USEPA), 并根据蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性对评估计算方法进行修正, 基于每日摄入量 (EDI) 和危害商指数 (HQ), 对不同暴露人群 (成人和儿童) 的健康风险进行评估。同时, 考虑到评估过程中所选用的暴露参数的区域特性和人种特征会造成评估结果具有不确定性, 因此, 引入蒙特卡罗 (Monte Carlo) 随机模拟, 即将风险评估过程与概率模型相联系, 以降低风险评估结果的不确定性<sup>[20]</sup>。

蔬菜中 Cr 的估计每日摄入量 (EDI) 由公式 (2) 计算<sup>[21-22]</sup>:

$$EDI = \frac{C_i \times BA \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT} \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $C_i$  为蔬菜中重金属 Cr 含量 (mg·kg<sup>-1</sup>); BA 为蔬菜中 Cr 的生物可给性 (%); IR 为蔬菜人均摄入量 (kg); EF 为暴露频率 (d·a<sup>-1</sup>); ED 为暴露周期 (a); BW 为人群平均体重 (kg); AT 为平均暴露时间 (d), 具体参数取值见表 1。

蔬菜中 Cr 的危害商指数 (HQ) 由公式 (3) 计算<sup>[21, 23]</sup>:

$$HQ = \frac{EDI}{RfD} \quad (3)$$

式中, EDI 取值为公式 (2) 中计算结果, RfD 为蔬菜中 Cr 每日参考剂量 3.0×10<sup>-3</sup> mg·kg<sup>-1</sup><sup>[24]</sup>, 当 HQ>1 时, 认为食用该蔬菜存在健康风险。由于熟蔬菜更能反映人的真实饮食摄入情况, 因而选用熟蔬菜中 Cr 的含量与生物可给性来进行健康风险评估。

表 1 风险暴露计算参数及其分布类型

Table 1 Parameters used in the risk calculation and distribution pattern

变量 Variable	定义 Define	参考值 Reference value		分布类型 Distribution pattern	数据来源 Data sources
		成人 (>18岁)	儿童 (2—18岁)		
IR/(g·d <sup>-1</sup> ) 摄入率 Uptake rate	辣椒 Pepper	2.88	1.44	对数正态分布	Yang等 <sup>[25]</sup> ; 吴永宁等 <sup>[26]</sup>
	芥菜 Mustard	200.00	100.00		
	小白菜 Pakchoi	111.60	55.80		
	甘蓝 Cabbage	300.0	150.00		
ED/a	暴露周期 Exposure cycle	0—24	0—6	均匀分布	
BW/kg	体重质量 Weight quality	0.00, 60.61, 3.19	9.52, 29.14, 28.97	对数正态分布	环境保护部 <sup>[27-28]</sup>
AT/d	平均暴露时间 Mean exposure time	ED×365		单点分布	
EF/(d·a <sup>-1</sup> )	暴露频率 Exposure frequency	180, 350, 365		三角分布	Huang等 <sup>[29]</sup>
C/(mg·kg <sup>-1</sup> )	重金属含量 Heavy metal content	本研究		对数正态分布	本研究
BA/%	生物可给性 Bioaccessibility	本研究			

### 1.4 数据分析

本研究使用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS20 (IBM) 对数据进行统计分析; 图制作由 Origin2017 和 SigmaPlot (16.0) 软件完成。为了最大限度地减少健康风险评估过程中暴露参数的不确定性, 运用

Crystal Ball(11.1, Oracle)软件中的蒙特卡罗模拟进行迭代计算。

## 2 结果与讨论(Results and discussion)

### 2.1 蔬菜中重金属 Cr 的含量

从铅锌矿区采集到的 4 种蔬菜样品中 Cr 含量(干重)如表 2 所示, 表现为小白菜( $13.86 \pm 7.33$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  > 芥菜( $9.84 \pm 1.79$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  > 甘蓝( $9.53 \pm 1.60$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  > 辣椒( $5.28 \pm 2.48$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 不同种类蔬菜间 Cr 的吸收积累量存在差异( $P < 0.05$ ), 其中叶类蔬菜表现出较强的富集能力, 这与前人的研究结果相似<sup>[30]</sup>. 这可能是归因于叶片不仅是叶菜类蔬菜重要的可食部分, 同时也是植物器官中具有较为吸收敏感的一个器官, 叶面的蒸腾作用能有效促进蔬菜根部对土壤 Cr 的吸收并转运至地上部分<sup>[4]</sup>; 同时叶类蔬菜对大气颗粒物中 Cr 具有较强的捕获率, 来源于大气降尘和土壤扬尘中的这类元素沉降到叶片表面后, 部分会通过气孔进入叶菜中富集<sup>[31]</sup>. 通过对比国家食品污染物限量标准(GB2762—2017)发现, 4 种蔬菜 Cr 含量均远超国家限定阈值( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). 此外, 蔬菜采用高温水煮方式进行处理后的 Cr 含量范围为( $1.93 \pm 0.76$ )—( $5.07 \pm 0.61$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . 与生蔬菜中 Cr 含量对比分析发现, 高温水煮方式可以显著降低各类蔬菜 Cr 的平均含量水平( $P < 0.05$ ). 其中, 辣椒和小白菜经高温水煮后的平均下降比例较高, 约为 63.44%, 其次为芥菜和甘蓝, 平均下降比例分别约为 60.90% 和 54.98%. Zhuang 等<sup>[32]</sup> 和 Xu 等<sup>[15]</sup> 的研究也发现, 高温水煮方式对蔬菜中重金属的含量水平影响较大, 其主要原因是由于高温水煮过程可以使植物组织软化, 导致水煮过程中 Cr 可以从蔬菜中析出至烹饪水中, 从而降低了蔬菜中 Cr 含量。

表 2 4 种蔬菜中重金属 Cr 含量(干重)

Table 2 Total concentrations of Cr in the four vegetables (dry weight)

蔬菜名称 Vegetable name	含量/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Contents	
	生 Raw	熟 Cooked
辣椒 Pepper	$5.28 \pm 2.48^{\text{Ad}}$	$1.93 \pm 0.76^{\text{Bd}}$
芥菜 Mustard	$9.84 \pm 1.79^{\text{Ab}}$	$3.84 \pm 0.79^{\text{Bc}}$
小白菜 Pakchoi	$13.86 \pm 7.33^{\text{Aa}}$	$5.07 \pm 0.61^{\text{Ba}}$
甘蓝 Cabbage	$9.53 \pm 1.60^{\text{Ac}}$	$4.29 \pm 0.33^{\text{Bb}}$
标准限值 Limits	$0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (GB 2762—2017)	

注: 表中数据为样本均值±标准偏差; 不同大写字母表示蔬菜样品 Cr 含量在生熟处理间差异性显著( $P < 0.05$ ), 不同小写字母表示不同蔬菜样品 Cr 含量差异性显著( $P < 0.05$ ).

Note: The data were expressed as sample mean±standard deviation; Different capital letters indicate that the significant difference of contents of Cr between the raw and cooked treatments of vegetable samples ( $P < 0.05$ ); Different lowercase letters that indicate significant differences of contents of Cr between the different vegetables ( $P < 0.05$ ).

### 2.2 胃和小肠阶段蔬菜中 Cr 的生物可给性

通过 PBET 法结合 SHIME 模型对 4 种蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性进行研究发现(图 1), 胃阶段中生蔬菜中 Cr 生物可给性的平均值( $8.77\% \pm 4.07\%$ )—( $12.78\% \pm 2.56\%$ )略高于小肠阶段( $5.42\% \pm 2.60\%$ )—( $11.12\% \pm 3.23\%$ ). 这一结果与前人的研究结果相似<sup>[5]</sup>. 多项研究结果表明, 胃肠的消化环境特征是影响重金属生物可给性的重要因素, 胃液的酸性环境有助于提高重金属 Cr 的溶解性<sup>[33-34]</sup>; 但从胃转移至小肠阶段, 添加的  $\text{NaHCO}_3$  使消化液 pH 值从 1.5 升至 7.0, 同时伴随  $\text{CO}_2^{-3}$  的增加, 导致肠液中溶解的 Cr 容易在弱碱性环境中发生共沉淀或再吸附反应, 降低了 Cr 的移动性, Cr 生物可给性出现降低的趋势<sup>[35]</sup>. 同时, 胃肠消化液中的消化酶对重金属的生物可给性也具有重要影响<sup>[36]</sup>. 胃蛋白酶作为一种蛋白质能够释放  $\text{H}^+$ , 使其表面带负电荷后能够通过络合作用与胃液中带正电荷的金属 Cr 离子形成复合物, 这有助于 Cr 保持溶解状态<sup>[37]</sup>, 特别是胃液的酸性环境有利于提高胃蛋白酶活性, 在一定程度上能够促进胃液中络合物的形成, 从而可以进一步提高蔬菜中 Cr 的溶解度及其生物可给性; 胰蛋白酶也是一种蛋白质, 对 Cr 离子的作用与胃蛋白酶相同<sup>[38]</sup>, 但肠液的弱碱性环境并不利于金属离子络合物

的形成,且依靠电荷吸附在胃蛋白酶表面的Cr离子进入肠液后容易发生水解生成沉淀,从而使其溶解度和生物可给性降低.通过与生蔬菜中Cr的生物可给性对比发现,经高温水煮后蔬菜中Cr在胃阶段( $23.89\% \pm 13.35\% - 34.86\% \pm 6.44\%$ )和小肠阶段( $13.15\% \pm 4.23\% - 26.80\% \pm 4.88\%$ )生物可给性的平均值整体高于生蔬菜,平均升高比例范围分别约为55.17%—63.33%和52.81%—58.78%,这可能归因于高温水煮过程会造成植物细胞壁膨胀、果胶溶解/解聚和细胞分离,导致食物基质遭到破坏<sup>[39-40]</sup>,因此可以进一步促进蔬菜中Cr在胃肠消化过程的溶出释放,提高其生物可给性.

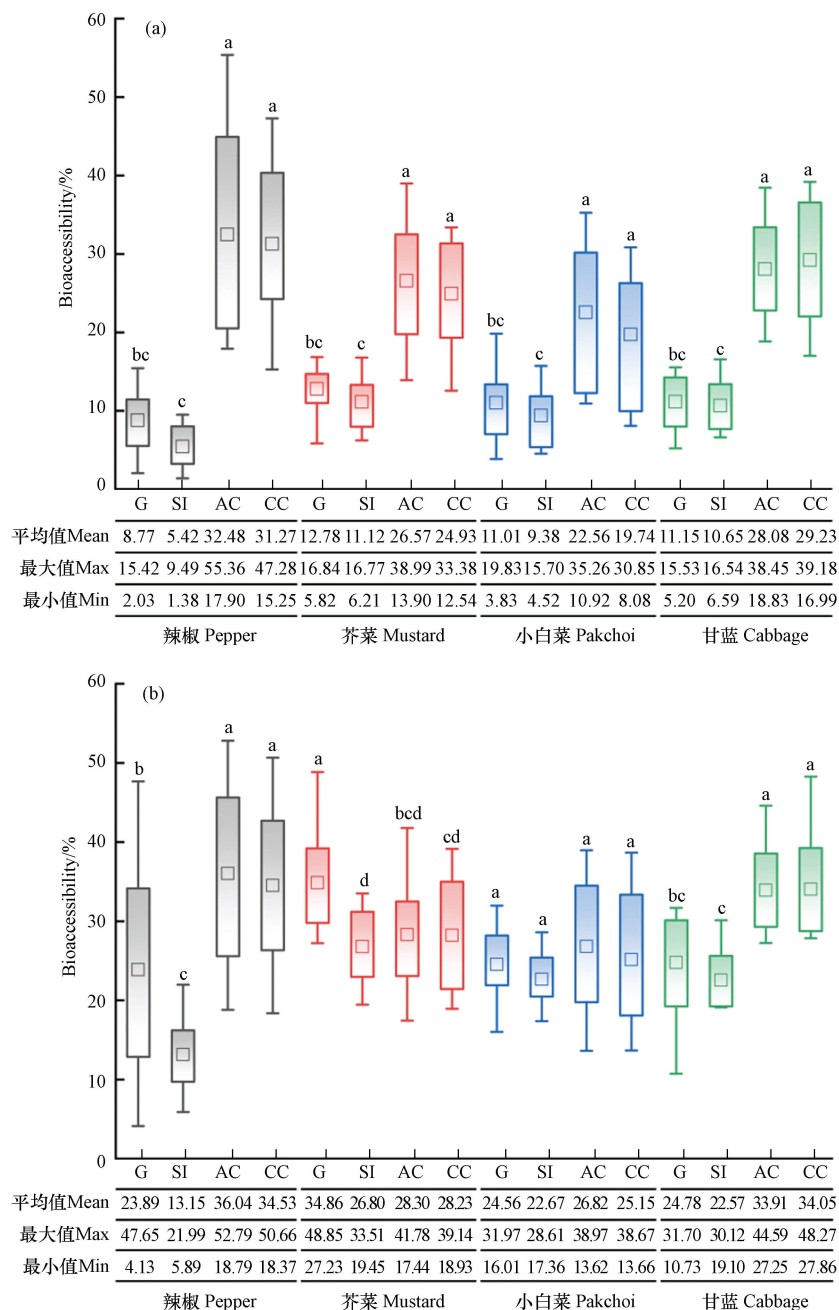


图1 生(a)熟(b)蔬菜中Cr在胃、小肠、成人结肠和儿童结肠阶段的生物可给性

注: G-胃, SI-小肠, AC-成人结肠, CC-儿童结肠; 不同字母表示同一蔬菜中重金属Cr在不同阶段(胃、小肠和结肠)生物可给性的差异性显著( $P < 0.05$ )

Fig.1 Bioaccessibility of Cr in raw (a) and cooked (b) vegetables in gastric, small intestine, adult colon and child colon phase

Note: G-gastric, SI-small intestine, AC-adult colon, CC-child colon; The different letters means the significant differences of bioaccessibility of Cr in vegetables in the gastric, small intestinal and colon phases ( $P < 0.05$ )

### 2.3 结肠阶段蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性

由小肠至结肠阶段, 生熟两种处理蔬菜样品中 Cr 生物可给性的平均值范围分别为成人: (22.56%±9.23%)—(36.04%±11.45%); 儿童: (19.74%±8.26%)—(34.53%±10.82%) (图 1), 分别是小肠阶段的 1.10—6.00 倍和 1.05—5.77 倍, 结果表明结肠阶段中肠道微生物作用下显著增加了蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性 ( $P<0.05$ ), 且蔬菜高温处理后又增加了结肠阶段 Cr 的生物可给性 (6.11%—21.51%)。对比小肠阶段, 结肠中含有丰富的肠道微生物, 这些肠道微生物具有较强的代谢能力, 食糜中未被胃肠道消化酶所消化完全的蛋白质和碳水化合物可被肠道微生物所代谢利用<sup>[41]</sup>。因此, 肠道微生物在代谢蔬菜残渣中有机质时, 也可将吸附在残渣中的重金属 Cr 释放进入消化液中, 增加结肠阶段中 Cr 的生物可给性, 从而导致结肠阶段高于小肠阶段。此外, 蔬菜中重金属 Cr 在消化阶段中的生物可给性还取决于不同的化学形态<sup>[42]</sup>, 且受到人体肠道微生物的影响。例如人体肠道中的硫酸盐还原菌(SRB)、铁还原菌(IRB)和乳酸杆菌等可诱导 Cr(VI)还原为 Cr(III)形式<sup>[43-45]</sup>。Cr(III)能够以溶解态在酸性溶液中稳定存在<sup>[46]</sup>, 而肠道微生物在代谢过程中所产生的代谢产物(如短链脂肪酸、支链脂肪酸和氨类等)会影响人体肠道环境, 其中短链脂肪酸(SCAFs)主要包括乙酸、丙酸、丁酸等有机酸可降低肠道的 pH 值<sup>[41,47]</sup>, 从而可能促使 Cr(III)的溶解, 导致结肠阶段中 Cr 的生物可给性高于小肠阶段。对比两名自愿者(成人和儿童)结肠阶段中 Cr 的生物可给性发现, 在大多数蔬菜样品中, 成人结肠阶段 Cr 的生物可给性高于儿童, 这可能是由于宿主肠道微生物的代谢差异所致。Yin 等<sup>[48]</sup>研究也报道了两个健康的不同宿主(成人和儿童)肠道微生物对土壤中 As 的代谢具有差异。综上, 结肠阶段中肠道微生物可增加蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性, 且受宿主肠道微生物代谢差异的影响。

食物基质中的污染物水平被认为是影响生物可给性的主要因素之一, 前人研究中报道了大量食物中重金属含量与胃和小肠阶段生物可给性之间的剂量比例关系<sup>[23,49]</sup>, 但未考虑到结肠阶段中肠道微生物对于重金属生物可给性的影响。本研究发现, 生熟不同处理蔬菜样品中重金属 Cr 含量与结肠阶段生物可给性呈显著负相关( $P<0.01$ ), 相关系数  $R^2$ : 0.383—0.483, 即高 Cr 含量蔬菜在结肠阶段未表现出较高的生物可给性(图 2), 这可能是由于结肠阶段肠道微生物的作用影响了蔬菜中重金属 Cr 的溶出释放。Yin 等<sup>[12]</sup>研究结果也展示了土壤 Cr 含量与结肠阶段(成人和儿童)生物可给性呈负相关。同样, Wang 等<sup>[50]</sup>使用小鼠模型发现小白菜、空心菜和苋菜中重金属镉含量与生物有效性之间存在显著的负相关关系( $R^2=0.430$ ,  $P<0.05$ )。表明在考虑结肠阶段中肠道微生物作用下高 Cr 含量蔬菜不会表现出较高的生物可给性。

### 2.4 蔬菜中 Cr 膳食暴露的人体健康风险评估

利用 USEPA 的风险评估模型, 并借助蒙特卡罗模型迭代模拟降低风险评估模型中各参数的不确定性<sup>[20]</sup>, 以计算出基于熟蔬菜中 Cr 总量和 3 个消化阶段中 Cr 生物可给性的 HQ 和 HQ 的累积概率, 结果见表 3、图 3。当只考虑 4 种蔬菜中重金属 Cr 总量而不考虑生物可给性时, 成人的 HQ 指数范围为 ( $1.17\times 10^{-2}\pm 2.68\times 10^{-7}$ )—( $1.45\times 10^0\pm 3.95\times 10^{-5}$ ), 儿童为 ( $1.25\times 10^{-2}\pm 5.50\times 10^{-6}$ )—( $2.27\times 10^0\pm 1.21\times 10^{-3}$ )。结果表明, 除甘蓝外其余 3 种蔬菜的平均 HQ 值均未超过安全阈值 1, 但根据累计概率发现所有 HQ 值中分别约有 36.19%(成人)和 37.83%(儿童)超过了 1, 且儿童的危险商指数整体高于成人。当用生物可给性修正风险评估结果后, 基于成人和儿童胃阶段 (23.89%±13.35%)—(34.86%±6.44%)、小肠阶段 (13.15%±4.23%)—(26.80%±4.88%)与结肠阶段 (25.15%±9.48%)—(36.04%±11.45%) 4 种熟蔬菜的平均生物可给性(图 1b)计算出的平均 HQ 值 ( $1.53\times 10^{-3}\pm 3.90\times 10^{-8}$ )—( $5.19\times 10^{-1}\pm 1.52\times 10^{-5}$ )整体降低至安全阈值内, 但累计概率统计发现所有 HQ 值中仍有 3.96%—16.68%(成人)和 2.81%—18.37%(儿童)超过了风险阈值 1, 表明生物可给性修正后可降低蔬菜中 Cr 的健康风险, 但食用所引起的健康风险仍然不可忽视。此外, 对比小肠和结肠阶段的数据发现, 基于结肠阶段计算的暴露风险指数和累计概率较高, 相比小肠阶段提高了约 6.17%—62.12%。这一结果与本文中蔬菜 Cr 在消化阶段中生物可性的变化规律相同, 即结肠阶段大于小肠阶段。尹乃毅等<sup>[51]</sup>研究也得到类似的结果, 他们发现土壤中重金属镉

(Cd)、铬(Cr)和镍(Ni)在结肠阶段的健康风险高于小肠阶段. 表明结肠阶段中肠道微生物可增加蔬菜中Cr的生物可给性和提高人体健康风险. 综上, 在蔬菜Cr暴露所引起的人体健康风险中, 人体肠道微生物对Cr的代谢起着重要作用.

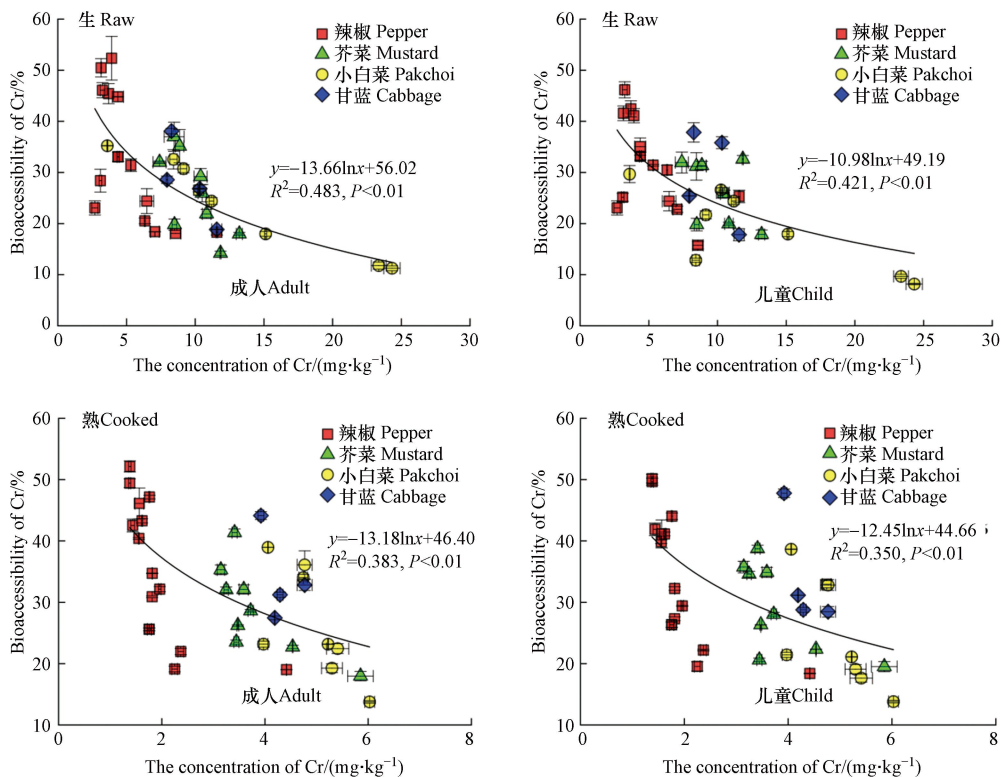


图 2 生熟蔬菜样品中Cr含量与结肠阶段(成人和儿童)Cr的生物可给性之间的相关关系  
注: 图中数据为样本均值±标准偏差

Fig.2 The regression relationship between the total concentration of Cr in raw and cooked vegetable samples and the bioaccessibility of Cr in colon phase (adult and child)

Note: Data in the figure are the ± standard deviation of the sample mean

表 3 蔬菜中重金属Cr的健康风险评估

Table 3 Health risk assessment of Cr in vegetables

蔬菜名称 Vegetable name	HQ							
	总量 Total contents		(胃)生物可给性 (Gastric) Bioaccessibility		(小肠)生物可给性 (Small intestine) Bioaccessibility		(结肠)生物可给性 (Colon) Bioaccessibility	
	成人 Adults	儿童 Children	成人 Adults	儿童 Children	成人 Adults	儿童 Children	成人 Adults	儿童 Children
辣椒 Pepper	$1.17 \times 10^{-2} \pm 2.68 \times 10^{-7}$	$1.25 \times 10^{-2} \pm 5.50 \times 10^{-6}$	$2.83 \times 10^{-3} \pm 8.74 \times 10^{-8}$	$3.85 \times 10^{-3} \pm 8.09 \times 10^{-8}$	$1.53 \times 10^{-3} \pm 3.90 \times 10^{-8}$	$1.89 \times 10^{-3} \pm 1.45 \times 10^{-7}$	$2.25 \times 10^{-3} \pm 7.90 \times 10^{-8}$	$4.99 \times 10^{-3} \pm 5.31 \times 10^{-7}$
芥菜 Mustard	$8.79 \times 10^{-1} \pm 2.51 \times 10^{-5}$	$9.93 \times 10^{-1} \pm 6.66 \times 10^{-5}$	$3.01 \times 10^{-1} \pm 8.98 \times 10^{-6}$	$4.09 \times 10^{-1} \pm 1.19 \times 10^{-5}$	$2.28 \times 10^{-1} \pm 6.76 \times 10^{-6}$	$2.82 \times 10^{-1} \pm 1.70 \times 10^{-5}$	$2.43 \times 10^{-1} \pm 7.37 \times 10^{-6}$	$3.08 \times 10^{-1} \pm 2.87 \times 10^{-5}$
小白菜 Pakchoi	$6.48 \times 10^{-1} \pm 1.80 \times 10^{-5}$	$7.89 \times 10^{-1} \pm 6.83 \times 10^{-5}$	$1.57 \times 10^{-1} \pm 4.52 \times 10^{-6}$	$2.10 \times 10^{-1} \pm 6.26 \times 10^{-6}$	$1.44 \times 10^{-1} \pm 4.13 \times 10^{-6}$	$1.51 \times 10^{-1} \pm 4.27 \times 10^{-6}$	$1.64 \times 10^{-1} \pm 5.11 \times 10^{-6}$	$1.69 \times 10^{-1} \pm 5.28 \times 10^{-6}$
甘蓝 Cabbage	$1.45 \times 10^0 \pm 3.93 \times 10^{-5}$	$2.27 \times 10^0 \pm 1.21 \times 10^{-3}$	$3.59 \times 10^{-1} \pm 1.12 \times 10^{-5}$	$4.90 \times 10^{-1} \pm 1.45 \times 10^{-5}$	$3.28 \times 10^{-1} \pm 9.39 \times 10^{-6}$	$3.38 \times 10^{-1} \pm 9.59 \times 10^{-6}$	$4.85 \times 10^{-1} \pm 1.40 \times 10^{-6}$	$5.19 \times 10^{-1} \pm 1.52 \times 10^{-5}$

注: 图中数据为样本均值±标准偏差.

Note: The data in the figure are the ± standard deviation of the sample mean.



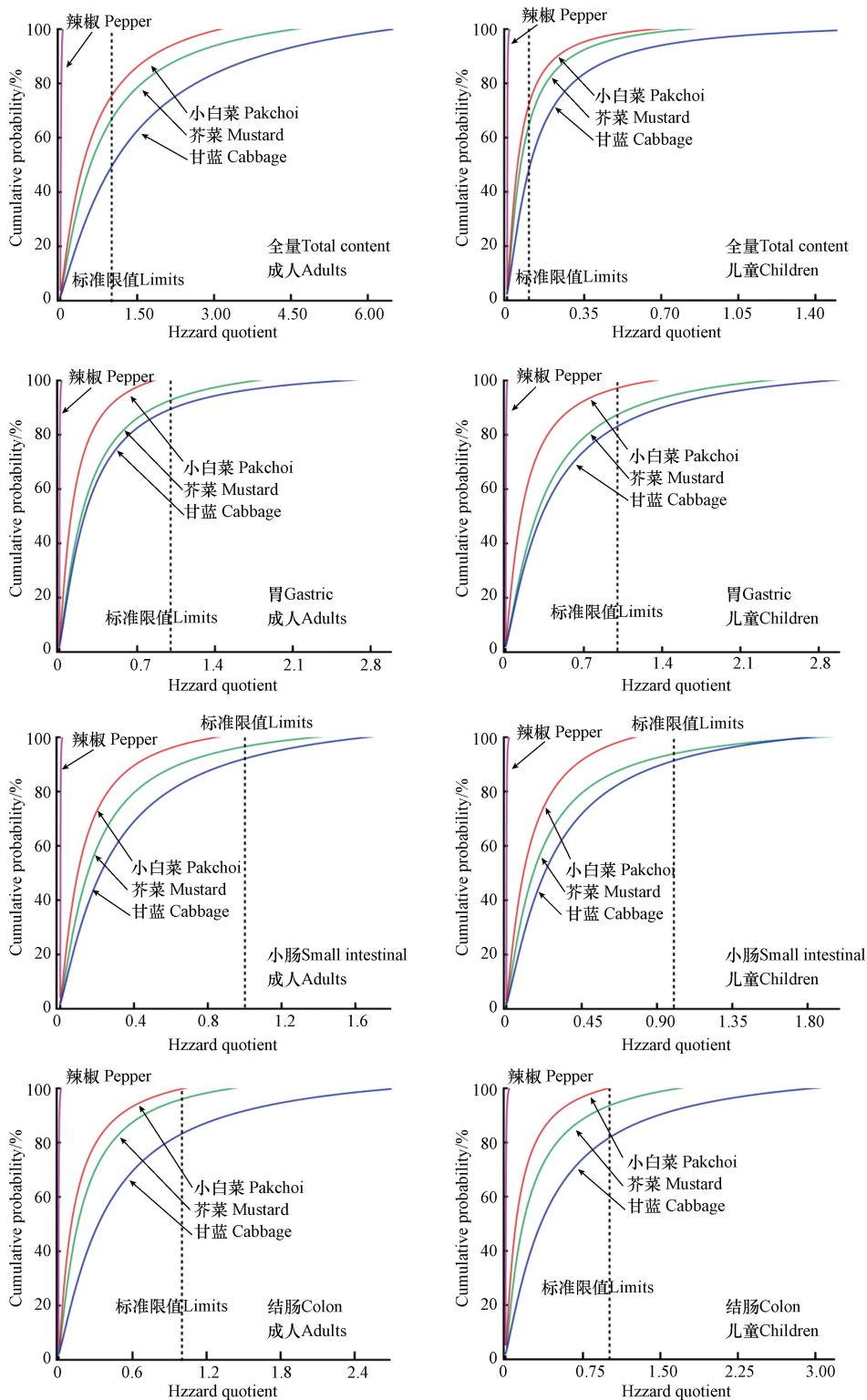


图 3 基于蒙特卡罗模拟成人和儿童暴露于 Cr 的危害商指数的累计概率分布

Fig.3 Cumulative probability distribution of the hazard quotient index based on Monto Carlo simulation of adults and children exposure to Cr

### 3 结论(Conclusion)

(1)从贵州省某铅锌矿区采集的 4 种蔬菜样品, 在生和熟不同条件下样品中 Cr 含量均超过了我国国家食品卫生标准中的标准限值(GB 2762—2017,  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 虽然煮熟处理显著降低了蔬菜样品中 Cr 含量( $P < 0.05$ ), 但却明显增加了各消化阶段中 Cr 的生物可给性.

(2) 结肠阶段, 4 种蔬菜中重金属 Cr 的生物可给性高于胃和小肠阶段, 且两名宿主(成人和儿童)结肠阶段中 Cr 的生物可给性具有差异. 表明肠道微生物可促进蔬菜中 Cr 的溶出释放, 且受宿主肠道微生物代谢差异的影响.

(3) 人体健康风险评估中, 对比了各消化阶段的膳食暴露风险发现, 基于结肠阶段生物可给性计算的健康风险较高. 表明在蔬菜 Cr 暴露所引起的人体健康风险中, 肠道微生物对 Cr 的代谢起着重要作用. 因此, 在未来开展人体健康风险评估时, 考虑食物中重金属在结肠阶段生物可给性的健康风险评估结果将可能更加科学和准确.

### 参考文献 (References)

- [ 1 ] YANG Z H, ZHANG X M, JIANG Z, et al. Reductive materials for remediation of hexavalent chromium contaminated soil - A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 773: 145654.
- [ 2 ] 骆和东, 吴雨然, 姜艳芳. 我国食品中铬污染现状及健康风险 [J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(6): 717-721.  
LUO H D, WU Y R, JIANG Y F. The contamination situation of chromium in food and risk assessment in China [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2015, 27(6): 717-721 (in Chinese).
- [ 3 ] COETZEE J J, BANSAL N, CHIRWA E M N. Chromium in environment, its toxic effect from chromite-mining and ferrochrome industries, and its possible bioremediation [J]. *Exposure and Health*, 2020, 12(1): 51-62.
- [ 4 ] CHEN H L, AROCENA J M, LI J B, et al. Assessments of chromium (and other metals) in vegetables and potential bio-accumulations in humans living in areas affected by tannery wastes [J]. *Chemosphere*, 2014, 112: 412-419.
- [ 5 ] WANG P F, YIN N Y, CAI X L, et al. Variability of chromium bioaccessibility and speciation in vegetables: The influence of in vitro methods, gut microbiota and vegetable species [J]. *Food Chemistry*, 2019, 277: 347-352.
- [ 6 ] 李君, 柳晓琳, 吴鹏. 铬污染地区蔬菜铬含量状况分析 [J]. 现代预防医学, 2014, 41(21): 3876-3878.  
LI J, LIU X L, WU P. Assessment of content of Cr on vegetables from polluted area [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2014, 41(21): 3876-3878 (in Chinese).
- [ 7 ] 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 A X, WANG J H, et al. Research methods and applications of bioaccessibility and bioavailability of heavy metals in food [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(1): 89-97 (in Chinese).
- [ 8 ] 郑顺安, 韩允奎, 刘代丽, 等. 土壤汞生物可给性的影响因素研究: 基于体外模拟(in vitro)法 [J]. 环境化学, 2019, 38(12): 2665-2671.  
ZHENG S A, HAN Y L, LIU D L, et al. Influence of soil properties on the Hg bioaccessibility in polluted soils investigated by in vitro digestion approaches [J]. *Environmental Chemistry*, 2019, 38(12): 2665-2671 (in Chinese).
- [ 9 ] IN J G, FOULKE-ABEL J, ESTES M K, et al. Human mini-guts: New insights into intestinal physiology and host-pathogen interactions [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2016, 13(11): 633-642.
- [ 10 ] 高渊, 陆晨希, 袁鹏, 等. 肠道微生物与环境健康关系的研究进展与展望 [J]. 环境化学, 2021, 40(1): 1-10.  
GAO Y, LU C X, YUAN P, et al. Research progress and prospect of relationship between gut microbiota and environmental health [J]. *Environmental Chemistry*, 2021, 40(1): 1-10 (in Chinese).
- [ 11 ] van de WIELE T, BOON N, POSSEMIERS S, et al. Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 51(1): 143-153.
- [ 12 ] YIN N Y, ZHAO Y L, WANG P F, et al. Effect of gut microbiota on in vitro bioaccessibility of heavy metals and human health risk assessment from ingestion of contaminated soils [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 279: 116943.
- [ 13 ] 耿紫琪, 王鹏飞, 付雅祺, 等. 稻米中铬的生物可给性及其对人体的健康风险评估 [J]. 生态毒理学报, 2020, 15(6): 205-211.  
GENG Z Q, WANG P F, FU Y Q, et al. Bioaccessibility of chromium in rice and its human health risk assessment [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(6): 205-211 (in Chinese).
- [ 14 ] INTAWONGSE M, DEAN J R. Use of the physiologically-based extraction test to assess the oral bioaccessibility of metals in vegetable plants grown in contaminated soil [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 152(1): 60-72.
- [ 15 ] XU F F, SONG J, LI Y Q, et al. Bioaccessibility and bioavailability adjusted dietary exposure of cadmium for local residents from a high-level environmental cadmium region [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420: 126550.
- [ 16 ] 侯胜男, 汤琳, 郑娜, 等. 典型锌冶金区蔬菜重金属的生物可给性及健康风险评估 [J]. 环境科学学报, 2018, 38(1): 343-349.  
HOU S N, TANG L, ZHENG N, et al. Bioaccessibility and health risk assessment of heavy metals in vegetables of typical mining area [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(1): 343-349 (in Chinese).
- [ 17 ] CHI H F, ZHANG Y C, WILLIAMS P N, et al. In vitro model to assess arsenic bioaccessibility and speciation in cooked shrimp [J].

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(18): 4710-4715.
- [18] YIN N Y, ZHANG Z N, CAI X L, et al. In vitro method to assess soil arsenic metabolism by human gut microbiota: Arsenic speciation and distribution [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(17): 10675-10681.
- [19] 崔岩山, 陈晓晨. 土壤中镉的生物可给性及其对人体的健康风险评估 [J]. *环境科学*, 2010, 31(2): 403-408.  
CUI Y S, CHEN X C. Bioaccessibility of soil cadmium and its health risk assessment [J]. *Environmental Science*, 2010, 31(2): 403-408(in Chinese).
- [20] 方晴, 洗萍, 蒙政成. 基于蒙特卡罗模拟的农用地土壤健康风险评价 [J]. *环境工程*, 2021, 39(2): 147-152.  
FANG Q, XIAN P, MENG Z C. Environmental health risk assessment model of agricultural land based on Monte Carlo simulation and its application [J]. *Environmental Engineering*, 2021, 39(2): 147-152(in Chinese).
- [21] 徐笠, 刘洋, 杨婧婧, 等. 利用体外实验方法评估稻米中镉的生物可给性和健康风险 [J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(5): 219-226.  
XU L, LIU Y, YANG J J, et al. Bioaccessibility of cadmium in rice and its health risk assessment by in vitro method [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(5): 219-226(in Chinese).
- [22] 林承奇, 蔡宇豪, 胡恭任, 等. 闽西南土壤-水稻系统重金属生物可给性及健康风险 [J]. *环境科学*, 2021, 42(1): 359-367.  
LIN C Q, CAI Y H, HU G R, et al. Bioaccessibility and health risks of the heavy metals in soil-rice system of southwest Fujian Province [J]. *Environmental Science*, 2021, 42(1): 359-367(in Chinese).
- [23] LUO Y, DUAN Z B, WU Y G. Risk assessment for oral bioaccessibility of lead and cadmium in the potato growing in smelter-impacted soil [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2021, 106(2): 363-369.
- [24] MNISI R L, NDIBEWU P P, MAFU L D, et al. Bioaccessibility and risk assessment of essential and non-essential elements in vegetables commonly consumed in Swaziland [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 144: 396-401.
- [25] YANG Y G, LI F L, BI X Y, et al. Lead, zinc, and cadmium in vegetable/crops in a zinc smelting region and its potential human toxicity [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 87(5): 586.
- [26] 吴永宁, 赵云峰, 李敬光. 第五次中国总膳食研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2018: 64-112.  
WU Y N, ZHAO Y F, LI J G. The fifth China total diet study [M]. Beijing: Science Press, 2018: 64-112(in Chinese).
- [27] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册(成人卷) [M]. 北京: 中国环境出版社, 2013: 219-258.  
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Exposure factors handbook of Chinese population (Adult Volume) [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2013: 219-258(in Chinese).
- [28] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册(儿童卷) [M]. 北京: 中国环境出版社, 2013: 55-81.  
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Exposure factors handbook of Chinese population (Child Volume) [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2013: 55-81(in Chinese).
- [29] HUANG J L, WU Y Y, SUN J X, et al. Health risk assessment of heavy metal(loid)s in park soils of the largest megacity in China by using Monte Carlo simulation coupled with Positive matrix factorization model [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 415: 125629.
- [30] 陈志良, 黄玲, 周存宇, 等. 广州市蔬菜中重金属污染特征研究与评价 [J]. *环境科学*, 2017, 38(1): 389-398.  
CHEN Z L, HUANG L, ZHOU C Y, et al. Characteristics and evaluation of heavy metal pollution in vegetables in Guangzhou [J]. *Environmental Science*, 2017, 38(1): 389-398(in Chinese).
- [31] 查燕, 汤婕, 牛天新. 叶菜类蔬菜对重金属富集特征研究 [J]. *江西农业大学学报*, 2022, 44(3): 773-782.  
ZHA Y, TANG J, NIU T X. Study on enrichment characteristics of heavy metals in leafy vegetables [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2022, 44(3): 773-782(in Chinese).
- [32] ZHUANG P, ZHANG C S, LI Y W, 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.
- [33] HU J L, WU F Y, WU S C, et al. Bioaccessibility, dietary exposure and human risk assessment of heavy metals from market vegetables in Hong Kong revealed with an in vitro gastrointestinal model [J]. *Chemosphere*, 2013, 91(4): 455-461.
- [34] 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): 3326-3334.
- [35] JOBBÁGY M, BLESA M A, REGAZZONI A E. Homogeneous precipitation of layered Ni(II)-Cr(III) double hydroxides [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, 309(1): 72-77.
- [36] LI Y, ZHANG M K. A comparison of physiologically based extraction test (PBET) and single-extraction methods for release of Cu, Zn, and Pb from mildly acidic and alkali soils [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(5): 3140-3148.
- [37] FRAGA C G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005, 26(4/5): 235-244.
- [38] 郭莹莹, 张弛, 段志鹏, 等. 基于形态与in vitro方法的铬污染土壤生物可给性研究 [J]. *环境科学学报*, 2022, 42(10): 430-440.  
GUO Y Y, ZHANG C, DUAN Z P, et al. Bioaccessibility of chromium contaminated soil based on speciation and in vitro methods [J].

- Acta Scientiae Circumstantiae, 2022, 42(10): 430-440(in Chinese).
- [39] PELFRÊNE A, WATERLOT C, GUERIN A, et al. Use of an in vitro digestion method to estimate human bioaccessibility of Cd in vegetables grown in smelter-impacted soils: The influence of cooking [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2015, 37(4): 767-778.
- [40] 徐飞飞, 李跃麒, 林珺, 等. 典型环境高镉地区常见蔬菜中镉的生物可及性及健康风险评估 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(14): 293-300.  
XU F F, LI Y Q, LIN J, et al. Bioaccessibility of cadmium in common vegetables in typical environmental high cadmium region and the health risk assessment [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(14): 293-300(in Chinese).
- [41] 孙长豹, 刘志静, 刘飞, 等. 食物成分对肠道菌群结构的影响 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(9): 178-182.  
SUN C B, LIU Z J, LIU F, et al. Impact of dietary components on gut microbiota structure [J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(9): 178-182(in Chinese).
- [42] KAZI T G, MEMON N S, SHAIKH S A, et al. Speciation and separation of trace quantities of hexavalent and trivalent chromium species in aqueous extract of wild leafy vegetables using multistep pre-concentration method [J]. *Food Analytical Methods*, 2019, 12(9): 1964-1972.
- [43] YOUNAN S, SAKITA G Z, ALBUQUERQUE T R, et al. Chromium(VI) bioremediation by probiotics [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(12): 3977-3982.
- [44] DUAN H, YU L L, TIAN F W, et al. Gut microbiota: A target for heavy metal toxicity and a probiotic protective strategy [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 742: 140429.
- [45] PENG L, LIU Y W, GAO S H, et al. Assessing chromate reduction by dissimilatory iron reducing bacteria using mathematical modeling [J]. *Chemosphere*, 2015, 139: 334-339.
- [46] ERTANI A, MIETTO A, BORIN M, et al. Chromium in agricultural soils and crops: A review [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2017, 228(5): 190.
- [47] SALONEN A, de VOS W M. Impact of diet on human intestinal microbiota and health [J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2014, 5: 239-262.
- [48] YIN N Y, DU H L, WANG P F, et al. Interindividual variability of soil arsenic metabolism by human gut microbiota using SHIME model [J]. *Chemosphere*, 2017, 184: 460-466.
- [49] DUAN Z B, ZHENG Y, LUO Y, et al. Evaluation of cadmium transfer from soil to the human body through maize consumption in a cadmium anomaly area of southwestern China [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, 40(10): 2923-2934.
- [50] WANG M Y, LI M Y, NING H, et al. Cadmium oral bioavailability is affected by calcium and phytate contents in food: Evidence from leafy vegetables in mice [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 127373.
- [51] 尹乃毅, 都慧丽, 张震南, 等. 应用SHIME模型研究肠道微生物对土壤中镉、铬、镍生物可给性的影响 [J]. *环境科学*, 2016, 37(6): 2353-2358.  
YIN N Y, DU H L, ZHANG Z N, et al. Effects of human gut microbiota on bioaccessibility of soil Cd, Cr and Ni using SHIME model [J]. *Environmental Science*, 2016, 37(6): 2353-2358(in Chinese).