人体肠道微生物对十溴联苯醚的代谢研究

张东平^①, 张帆^①, 余应新^{①*}, 吴明红^②, 盛国英^{①③}, 傅家谟^{①③}

① 上海大学环境与化学工程学院环境污染与健康研究所, 上海 200444;

② 上海大学环境与化学工程学院上海射线应用研究所, 上海 200444;

③ 中国科学院广州地球化学研究所, 有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640

* 联系人, E-mail: yuyingxin@staff.shu.edu.cn

2011-04-19 收稿, 2011-05-19 接受

国家自然科学基金青年基金(20807026)和上海市重点学科 (S30109)资助项目

摘要 十溴联苯醚(BDE209)是一种具有持久性有机污染物特征的溴系阻燃剂, 可在生物体代谢生成更高毒性的化合物. 本文利用从人体粪便中提取的微生物以及通过人体肠道微生物系统模拟装置培养的人体肠道微生物, 在体外条件下研究 BDE209 在人体肠道微生物作用下的代谢. 结果表明在为期 10 d 的反应时间里, BDE209 含量保持稳定, 在气相色谱-质谱联用仪(GC-NCI-MS)的色谱图中也没有检测到可能的脱溴代谢产物, 说明 BDE209 没有发生显著的脱溴代谢作用.

关键词

肠道微生物
体外实验
代谢
十溴联苯醚

多溴联苯醚(PBDEs)是一类具有持久性有机污染物(POPs)特征的溴系阻燃剂, PBDEs 及其代谢产物在人体内可长期存在, 对人大脑、肝脏、肾脏等器官以及内分泌系统和神经系统等都有毒性^[1,2]. 进入到生物体中的 PBDEs 在各种酶的作用下会发生代谢产生更高毒性的代谢产物^[3-6]. 研究表明, 某些微生物可以通过脱溴方式将 PBDEs 代谢^[7,8], 然而肠道微生物对 PBDEs 的代谢研究非常有限^[9].

人体肠道中具有丰富的微生物, 其种类和数量可分别达到 500 种和 10^{12} 个^[10]. 在这么多的微生物中, 是否存在可以代谢 PBDEs 的微生物, 目前还没有人体肠道微生物对 PBDEs 代谢研究的相关报道. 为此, 本文采用人体肠道微生物系统模拟装置(simulator of the human intestinal microbial ecosystem, SHIME)模拟人体大肠环境, 建立人体大肠微生物生态系统^[11,12], 利用接种后的人体肠道微生物以及直接从人体粪便中提取的微生物, 采用体外实验, 初步研究人体肠道微生物对我国曾经大量生产和使用的、且目前在环境中大量检出的一种 PBDEs——十溴联苯醚(BDE209)的代谢.

1 实验

(i) 人体大肠微生物菌液. 人体粪便菌液: 从 3 名健康寄主(年龄在 20~35 岁, 并且在过去的一年里未食用抗生素类药物)采集粪便, 等量混合后加入到硫基乙酸钠-磷酸缓冲溶液中(0.1 mol/L)(比例为 1 g: 5 mL), 用匀浆机拍打匀浆 3 min, 静置 10 min, 取上层液以 1000 r/min 离心 10 min, 上层菌液用于实验.

接种菌液: 利用从比利时引进并改进的 SHIME, 建立可以随时提取人体大肠微生物的微生态模拟系统^[11,12]. SHIME 包括胃、小肠、大肠(升结肠、横结肠和降结肠) 5 个反应器, 每个反应器由一个带夹层的玻璃罐存储消化液, 各反应器夹层之间由硅胶管连接, 并与水浴连通维持 37 °C 恒温. 升结肠、横结肠和降结肠中液体 pH 控制在 5.6~5.9, 6.1~6.4 和 6.6~6.9 之间, 反应器中液体体积由仪器分别自动控制在 500, 800 和 500 mL. 分别取 50 mL 上述的人体粪便菌液接种到 SHIME 的 3 个大肠反应器中, 仪器定时自动添加食物液、胃液和小肠液, 食物液成分包括: 阿拉伯半乳糖、胶质、木聚糖、淀粉、葡萄糖、酵母

英文引用格式: Zhang D P, Zhang F, Yu Y X, et al. Study of the metabolism of decabromodiphenyl ether by human gut microbes (in Chinese). Chinese Sci Bull (Chinese Ver), 2011, 56: 2139–2145, doi: 10.1360/972011-757

提取物、蛋白胨、黏液素、半胱氨酸;胃液成分包括:盐酸和胃蛋白酶;小肠液成分包括:胆汁盐、胰酶和碳酸氢钠.微生物培养期间每天向玻璃罐充氮气以维持厌氧环境,大肠中微生物生长达到稳定后,取横结肠和降结肠菌液用于实验.

(ii) 培养液制备. 肉汤培养液:胰蛋白胨(英国 Oxoid 公司) 30 g/L, 酵母提取物(德国 Merck 公司) 20 g/L, 半胱氨酸 0.5 g/L, 刃天青(厌氧指示剂) 2 mg/L. 溶于 121 °C 灭菌 30 min, 37 °C 恒温箱保存备用.

无机盐培养液: NaCl 0.5 g/L, KCl 0.5 g/L, NaHCO₃ 2 g/L, NaH₂PO₄ 40 mg/L, Na₂HPO₄ 40 mg/L, 刃天青 2 mg/L. 将上述成分溶于纯水后, 高压灭菌锅 121 °C 灭菌 20 min, 向培养液中添加吐温 80, 使其含量为 500 mg/L, 37 °C 恒温箱保存待用.

(iii) BDE209 在微生物作用下的代谢. 在肉汤培养液下的实验方法如下. 实验组: 向 9 mL 肉汤培养液和 1 mL 人体粪便菌液的混合液中加入 BDE209, 反应液中 BDE209 含量为 100 ng/mL, 此时混合液 pH 值为 6.81 ± 0.29. 用橡胶塞密封后采用抽排系统除氧(厌氧指示剂刃天青为粉红色时意味瓶内溶液氧化还原电位高于 -80 mV, 为有氧环境;厌氧指示剂为无色时意味瓶内溶液氧化还原电位低于 -80 mV, 为无氧环境), 再用铝盖进一步密封, 于 37 °C 恒温水浴培养箱避光振荡培养反应, 采样时间为 2, 4, 6, 8 和 10 d. 每个样品用独立的反应瓶, 反应结束后, 将瓶内溶液全部取出并用丙酮清洗瓶壁, 反应液和丙酮清洗液合并后进行后处理(见 iv 节). 对照组: 将人体粪便菌液在高压灭菌锅中 121 °C 灭菌 30 min, 采用同样的方法进行.

在直接菌液下的实验方法如下. 实验组: 取 9.7 mL 人体粪便菌液或 SHIME 横结肠菌液, 并加入 0.1 mL Na₄EDTA 和 0.1 mL 二硫苏糖醇(DTT), 其溶液中最终含量分别为 1 和 10 mmol/L. 为了提高肠道微生物的代谢活力, 在反应液中加入 0.1 mL 还原型辅酶 A(NADPH II), 其混合液中含量为 0.1 mmol/L. 之后加入 BDE209, 反应液中 BDE209 含量为 100 ng/mL, 混合后人体粪便菌液和 SHIME 横结肠菌液中 pH 分别为 6.71 ± 0.19 和 6.26 ± 0.14. 其后, 反应、采样及样品处理过程同上. 对照组: 取 9.7 mL 人体粪便菌液或 SHIME 横结肠菌液 121 °C 灭菌 30 min, 采用同样的方法进行.

在无机盐培养液下的实验方法如下. 实验组: 向无机盐培养液中添加 25% 的 SHIME 横结肠和降结肠菌液, 并添加 BDE209 标样, 反应混合液中 BDE209

的浓度为 2 ng/mL, 其后, 反应、采样及样品处理过程同肉汤培养液代谢部分. 对照组: 将菌液在高压灭菌锅中 121 °C 灭菌 30 min, 采用同样的方法进行.

(iv) 样品处理. 反应液中 BDE209 的萃取方式如文献[13]所述, 即取反应液于分液漏斗中, 添加回收率指示物 ¹³C-PCB141. 采用丙酮、正己烷与二氯甲烷混合溶液萃取, 后用浓硫酸去杂质, 再用复合酸碱硅胶-氧化铝柱净化^[14,15], 用 70 mL 正己烷:二氯甲烷 (1:1) 混合溶液淋洗, 样品浓缩添加内标 ¹³C-PCB208 后定容至 100 μL, -20 °C 避光保存待分析.

(v) 样品分析. BDE209 浓度测定在负离子化学源(NCI)Agilent 6890-5975 气相色谱-质谱联用仪(USA)上完成, 毛细管柱: DB-5MS(9 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm); 载气为氦气, 反应气为甲烷, 柱流量为 1.5 mL/min, 无分流模式进样(1 μL); 进样口和离子源温度分别为 290 和 200 °C; 采用程序升温: 110 °C(保持 1 min), 12 °C/min 升至 200 °C, 保持 5 min, 15 °C/min 升至 300 °C, 保持 8 min. 选择性离子扫描(SIM), 扫描离子: ¹³C-PCB141 为 *m/z* 372 和 374, ¹³C-PCB208 为 *m/z* 476 和 478, BDE209 为 *m/z* 486.7 和 488.7.

氨离子浓度测定采用步琪(BUCHI)公司 B-324 型蒸馏仪和瑞士万通(Metrohm)公司 702 SM Titrino 型自动滴定仪测定. 取 1 mL 样品到蒸馏管中, 加入 40 mL NaOH(0.32 g/mL)后蒸馏 5 min, 用硼酸(40 g/L)吸收后再用硫酸标准溶液滴定, 根据酸的消耗量来计算反应液中 NH₄⁺的含量.

(vi) 质量控制和质量保证. 采用内标法 6 点校正曲线定量, 校正曲线相关系数大于 0.999. 每个实验进行 3 次测定, 样品回收率指示物 ¹³C-PCB141 的回收率为 (90.8 ± 8.7)%. 玻璃器皿用含有洗洁精的 50 °C 温水浸没超声 30 min, 然后用清水冲洗, 烘干后用铬酸洗液浸泡 4 h, 用清水冲洗后再用纯水洗涤后 120 °C 烘干, 于马弗炉中 450 °C 灼烧 4 h 待用.

2 结果与讨论

2.1 肉汤培养液中人体粪便的微生物对 BDE209 的代谢

由于肉汤培养液中具有丰富的营养物质, 实验过程中, 微生物自身代谢产生了大量氨离子(图 1), 前 6 d 培养液中氨离子含量呈快速上升趋势, 后期趋于平稳, 说明前 6 d 微生物在培养过程中具有很高的

活性,具有良好的代谢能力,但是在后 4 d 代谢活性比较低,且趋于稳定。

BDE209 在肉汤培养液中的降解曲线如图 2 所示。实验组和对照组中, BDE209 回收率随反应时间的延长呈微弱上升趋势。这可能是由于实验所采用的菌液由人体粪便提取而来,在菌液中存在一定量的固体颗粒物,由于颗粒物的存在,肉汤培养液中的大分子有机物(如胰蛋白胨等)在颗粒物上聚合,从而导致部分吸附在固体颗粒物上的 BDE209 被包裹,在样品提取过程中不能被提取。在随后的培养过程中,由于微生物代谢作用,包裹在颗粒物上的营养物质被微生物逐渐消耗,被包裹的 BDE209 被重新释放进而导致含量呈不断上升的趋势。这种现象经常在类似的研究中发现,如 Serrano 和 Goni 等人^[16,17]采用体外实验研究发现,大肠中的一些固体颗粒(如一些抗性淀粉和抗性蛋白质),可以作为肠道微生物生长所需要的碳源和氮源被代谢,在代谢的过程中可以使吸附或被包裹在这些物质中的胡萝卜素释放。

图 1 肉汤培养液中氨离子浓度

图 2 肉汤培养液中 BDE209 的降解曲线

在本实验过程中, 8~10 d 后, BDE209 的回收率约为 80%, 这可能是由于颗粒物对 BDE209 具有较强的吸附作用, 在萃取的过程中不能完全萃取导致。对照组中, 初始阶段由于固体颗粒以及死亡细菌等的作用, 溶液中 BDE209 含量相对较低, 在反应后期溶液中杂菌含量上升, 在这些杂菌作用下, 对照组溶液中 BDE209 含量在反应后期呈升高的趋势, 总体要低于实验组。从本实验判断, BDE209 在营养丰富的肉汤培养液中没有发生代谢。

2.2 直接菌液中微生物对 BDE209 的代谢

由于肉汤培养液中营养丰富, 且没有发现微生物对 BDE209 有代谢作用, 为此我们直接从人体粪便中提取微生物, 添加可以提高微生物代谢活力的还原型辅酶 A(NADPH II)后进行实验。该实验过程中, 由于没有如肉汤培养液中的高分子有机质的影响, 培养液一直处于均相状态。研究结果表明, 在 10 d 反应过程中, BDE209 的回收率一直保持在 80%左右(图 3), 一方面说明在这一反应过程中, 直接从人体粪便中提取的大肠微生物对 BDE209 没有代谢作用; 另一方面, 与前面的结果类似, 说明粪便中的颗粒物对 BDE209 具有一定的吸附能力, 萃取过程不能完全萃取。

本研究还采用从 SHIME 横结肠中提取的微生物研究了 BDE209 的代谢。实验在 Na₄EDTA (1 mmol/L) 和二硫苏糖醇(DTT, 10 mmol/L)的缓冲溶液中进行并添加还原型辅酶 A(NADPH II)。结果如图 4 所示, 实验组和对照组中 BDE209 含量都呈微弱的下降趋势。实验过程中, 从结肠反应器取出的菌液是均相的, 然而在培养的过程中, 溶液逐渐出现固体颗粒物。这种固体颗粒物可能是由于死亡的细胞形成了中心核, 来

图 3 取自人体粪便的微生物对 BDE209 的降解曲线

图4 取自 SHIME 横结肠的微生物对 BDE209 的降解曲线

自 SHIME 模型中未被消化的不可溶淀粉和木聚糖等不溶性物质聚合而成。相比富含营养物质的肉汤培养液,从 SHIME 中取出的菌液中营养相对缺乏,细菌在培养期间代谢活力比较低,也不能将溶液中形成的固体颗粒物代谢。因此,被包裹的 BDE209 难以从包裹体中释放,从而导致 BDE209 回收率随着反应时间的增长呈小幅度下降。由于变化幅度较小, BDE209 在培养基中含量的降低并不能说明是肠道微生物代谢导致。这可以从 BDE209 标准品与代谢 10 d 后样品色谱图(图 5)对比中得到验证,图中并未见到 BDE209 的脱溴产物。

2.3 无机盐培养基中 SHIME 的微生物对 BDE209 的代谢

上述的实验设计方案,培养基中有机物含量比较丰富, BDE209 投加量也比较高,实验结果没有得到预期的效果。因此我们对实验设计做出改变,一是进一步减少溶液中有有机物含量,以期在营养物质更为贫乏的条件下考察微生物是否对 BDE209 有代谢作用存在;二是减少 BDE209 的投加量。

Zhou 等人^[8]在白腐真菌代谢 BDE209 的研究中采用吐温 80 作为表面活性剂以提高代谢效果。因此,在减少培养基中有机物含量的同时,加入吐温 80 (500 mg/L) 以提高 BDE209 在溶液中的溶解能力,并有可能提高微生物的代谢能力。另外,考虑到 SHIME 升结肠、横结肠和降结肠微生物代谢能力上的区别,升结肠作为小肠消化过后的第一阶段,微生物所处的环境营养物质丰富,代谢能力比较强;而降结肠作为消化的最后阶段微生物生长环境中营养物质含量低,微生物的活性可能较低,而横结肠中的微

图5 BDE209 标准品与代谢 10 d 后样品的色谱图对比

生物处于中间状态,因此本文考察了横结肠和降结肠(由于升结肠中营养物质丰富,因此没有进行实验)中微生物对 BDE209 的代谢情况。

由图 6 可以看到,在 10 d 的反应过程中, BDE209 的含量保持相对稳定,通过将反应 10 d 的样品处理后的 GC/MS 谱图与 BDE209 的标准样品谱图对比(与图 5 类似),没有发现新的色谱峰,说明该过程没有发生脱溴反应。

肠道微生物对 PBDEs 的代谢研究方面,Orn 等人^[18]采用 ^{14}C -BDE47 通过口服暴露于大鼠,在粪便中检测出 6 种代谢产物,其中有 5 种羟基代谢物和 1 种微量的巯基代谢产物。但是在粪便中检测到的代谢

图6 无机盐培养基中 SHIME 的微生物对 BDE209 的降解曲线

物并不意味着是由于微生物的作用,也可能是肝肠循环的作用下,在大鼠体内或在肠道中各类酶作用下代谢产生的。Stapleton 等人^[5]以 BDE99 和 BDE183 暴露于鲤鱼,在肠中发现 BDE99 和 BDE183 被分别转化成 BDE47 和 BDE154,并得出在鲤鱼肠中发生的转化产物是由肝脏分泌的酶代谢转化而来,而不是由肠道微生物作用的结果。他们提取鲤鱼肠道微生物进行体外实验,发现微生物对 BDE99 和 BDE47 没有脱溴作用,并发现细胞色素酶诱导催化不是 BDE99 脱溴的主要途径,而肝脏中甲状腺素脱碘酶对 PBDEs 的脱溴具有重要作用^[9]。然而与鱼体实验不同, Sanders 等人^[19]利用小鼠和大鼠进行 BDE47 活体实验时,认为 BDE47 在肝脏中细胞色素酶 P450 作用下会形成羟基化的代谢产物。类似的结果也在人体肝脏微粒体对 PBDEs 的代谢研究中发现。Lupton 等人^[20]研究表明,人体肝脏中 PBDEs 的代谢途径是在 P450 酶作用下形成羟基化的代谢产物,同时在加氧酶的作用下苯环间的醚键会发生断裂。在生物体内,外源性物质的代谢会经过 I 相(Phase I)和 II 相(Phase II)反应。I 相反应由细胞色素 P450 酶控制,通过氧化还原或水解反应途径,给母体分子引入某种极性基团(如羟基); II 相反应由一些转移酶(如谷胱甘肽转移酶)控制,以 I 相反应生成的代谢物为母体,在转移酶作用下,形成水溶性更强的物质^[3]。如细胞色素酶 P450 对卤代芳香族化合物的催化可以通过直接的羟基化反应;还可以通过 1,2-转移羟基化使卤素原子或羟基发生转移^[21]。与 PCBs 结构类似的 PBDEs 在生物体内也能发生类似反应,形成相应羟基代谢物(OH-PBDEs)。作为另一种常见的代谢产物甲氧基代谢物(MeO-PBDEs),一般认为是通过 OH-PBDEs 在脊椎动物肝脏或肠中微生物甲基化作用而来,或者直接由沉积物中有机体转化作用而来^[3,22,23]。由于本研究处理方法不能提取在动物体内发现的 PBDEs 的羟基和甲氧基代谢物(OH-PBDE 和 MeO-PBDE),因此是否会有痕量的这类产物还有待进一步研究。

就目前的研究来说,微生物对 PBDEs 代谢的研究尚浅。对不同微生物研究的发现,白腐菌、蜡状芽孢杆菌、真菌、硫螺旋菌多主寄生物(*Sulfurospirillum multivorans*)等均可以降解 PBDEs^[7,8,24,25]。如 He 等人^[7]和 Zhou 等人^[8]发现硫螺旋菌多主寄生物和白腐菌可以将 BDE209 脱溴降解,脱卤球形囊菌(*Dehalococcoides species*)可将八溴联苯醚脱溴成七溴产物。一般来说,

好氧条件下,微生物对 PBDEs 的代谢迅速,反应时间短,降解程度高,如王婷等人^[24]发现 BDE209 在蜡状芽孢杆菌复合菌的作用下,24 h 内可以将其脱溴降解 14.2%以上。而厌氧环境下,降解速度相对较慢,如 Gerecke 等人^[26]采用淤泥长时间(238 d)厌氧环境下与 BDE209 培养,最终检测到脱溴产物 BDE206、207 和 208。但也有研究表明, BDE209 在厌氧环境下可快速降解, Tokarz 等人^[27]研究发现, BDE209 在沉积物中可发生还原脱溴反应,其半衰期仅为 18 s, 24 h 后检测到 4 种 BDE209 代谢产物,并发现 PBDEs 脱溴速率与溴原子数量有关,且取代基位置与其脱溴速率有关,邻位和间位取代的相对比较易于降解。

出于伦理及动物饲养方面的原因,活体实验往往会受到一些影响(特别是污染物对人体的作用方面),且活体实验往往是整个生物体作用的结果,如 Marsh 等人^[21]采用 BDE47 喂养大鼠,在其粪便中发现了羟基代谢物,然而,这些羟基代谢物是在肠道中酶(如肠道中丰富的 P450 酶)的作用下的结果,还是由于肠道微生物作用的结果,或者是在肝脏、血液中代谢的产物在“肝肠循环”作用下进入肠道,最终被排出体外,仅通过活体实验还难以了解。因此,通过监测原化合物的减少或代谢物产生的分析鉴定,体外实验为开展 PBDEs 代谢研究提供了方便。但是体外实验由于实验时间相对较短,对于一些代谢较慢的化合物研究相对困难,与活体实验相比也无法完全模拟体内所发生的反应,尤其是 II 相反应,但却可以用来了解目标化合物的代谢趋势^[6]。然而,就目前的研究来看,并不能得出肠道微生物不能代谢 PBDEs 的结论,在 Benedict 等人^[9]的研究中, PBDEs 在鲤鱼肠道微生物中的反应时间只有 24 h,而在其他微生物对 PBDEs 的代谢的研究中,其反应时间一般在 14~60 d 不等,有的长达 238 d^[7,26,28]。在这么长的时间中,其中微生物对 PBDEs 的代谢是通过何种机理进行目前尚不十分清楚。此外,采用体外实验培养肠道微生物,并不能培养所有在人体肠道中的微生物,研究表明,采用体外实验培养的微生物种类只有人体的 10%~70%^[29,30],至于其他的微生物是否对 PBDEs 具有代谢作用在本研究中尚不能得到论证,因此,肠道微生物对 PBDEs 的代谢研究还有待深入研究。此外,我们采用人体肠道微生物进行 10 d 的培养,研究结果与 Benedict 等人^[9]的研究结果类似,没有发现脱溴产物。这一培养时间远远超过人

体通过口服摄入的物质在人体的停留时间,因此,从本研究的结果推断,在人体中,肠道微生物不是 BDE209 在人体发生代谢的主要因素.此外,由于人体肠道微生物是一复杂的生物群落,在不同年龄、不同性别的个体间均存在较大的差异,本文仅从 3 例健康成人的粪便中提取微生物进行实验,因此,如果从健康风险的角度分析, BDE209 被肠道微生物代谢成为生物富积性和毒性更高的低溴代产物的风险是否可以被忽略,需进一步增加样本的数量和代表性进行相关研究.

3 结论

体外实验培养人体肠道微生物,采用不同的培养方式研究人体肠道微生物对 BDE209 的代谢,结果表明,无论是采用营养丰富的培养液还是营养匮乏的培养液,或是利用通过 SHIME 接种后的菌液还是直接用人体粪便菌液与 BDE209 混合培养,都没有发现 BDE209 可以发生脱溴代谢.因此,从本研究的结果推断,在人体中,肠道微生物不是 BDE209 在人体发生代谢的主要因素.

参考文献

- 徐志强,周启星,张慧,等.多溴二苯醚动物毒理学研究进展及其生态毒理学展望.应用生态学报,2007,18: 1143-1152
- Hardy M L, Banasik M, Stedeford T. Toxicology and human health assessment of decabromodiphenyl ether. Crit Rev Toxicol, 2009, 39: 1-44
- Hakk H, Letcher R J. Metabolism in the toxicokinetics and fate of brominated flame retardants—A review. Environ Int, 2003, 29: 801-828
- Stapleton H M, Brazil B, Holbrook R D, et al. *In vivo* and *in vitro* debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209) by juvenile rainbow trout and common carp. Environ Sci Technol, 2006, 40: 4653-4658
- Stapleton H M, Alaee M, Letcher R J, et al. Debromination of the flame retardant decabromodiphenyl ether by juvenile carp (*Cyprinus carpio*) following dietary exposure. Environ Sci Technol, 2004, 38: 112-119
- McKinney M A, Guise S D, Martineau R D, et al. Biotransformation of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in Beluga Whale (*Delphinapterus leucas*) and rat mammalian model using an *in vitro* hepatic microsomal assay. Aquat Toxicol, 2006, 77: 87-97
- He J Z, Robrock K R, Alvarex-Cohen L. Microbial reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). Environ Sci Technol, 2006, 40: 4429-4434
- Zhou J, Jiang W Y, Ding J, et al. Effect of Tween 80 and β -cyclodextrin on degradation of decabromodiphenyl ether (BDE-209) by white rot fungi. Chemosphere, 2007, 70: 172-177
- Benedict R T, Stapleton H M, Letcher R J, et al. Debromination of polybrominated diphenyl ether-99 (BDE-99) in carp (*Cyprinus carpio*) microflora and microsomes. Chemosphere, 2007, 69: 987-993
- Eckburg P B, Bik E M, Bernstein C N, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science, 2005, 308: 1635-1638
- Van de Wiele T, Boon N, Possemiers S, et al. Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. FEMS Microbiol Ecol, 2004, 51: 143-153
- 余应新,张帆,李琛,等.体外条件下重现人体胃肠道及微生态系统的模拟装置.中国发明专利,2009,200910195443.X
- 陆敏,余应新,张东平,等.胡萝卜中滴滴涕对人体生物有效性影响因素的体外研究.环境化学,2009,28: 220-224
- Yu Y X, Han S Y, Zhang D P, et al. Factors affecting the bioaccessibility of polybrominated diphenyl ethers in an *in vitro* digestion model. J Agric Food Chem, 2009, 57: 133-139
- Yu Y X, Li J L, Zhang X Y, et al. Assessment of the bioaccessibility of polybrominated diphenyl ethers in foods and the correlations of the bioaccessibility with nutrient contents. J Agric Food Chem, 2010, 58: 301-308
- Serrano J, Goni I, Saura-calixto F. Determination of β -carotene and lutein available from green leafy vegetables by an *in vitro* digestion and colonic fermentation method. J Agric Food Chem, 2005, 53: 2936-2940
- Goni I, Serrano J, Saura-Calixto F. Bioaccessibility of β -carotene, lutein, and lycopene from fruits and vegetables. J Agric Food Chem, 2006, 54: 5382-5387
- Orn U, Klasson-Wehler E. Metabolism of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether in rat and mouse. Xenobiotica, 1998, 28: 199-211
- Sanders J M, Chen L J, Lebetkin E H, et al. Metabolism and disposition of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether following administration of single or multiple doses to rats and mice. Xenobiotica, 2006, 36: 103-117
- Lupton S J, McGarrigle B P, Olson J R, et al. Human liver microsome-mediated metabolism of brominated diphenyl ethers 47, 99, and 153 and identification of their major metabolites. Chem Res Toxicol, 2009, 22: 1802-1809

- 21 Marsh G, Athanasiadou M, Athanassiadis I, et al. Identification of hydroxylated metabolites in 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether exposed rats. *Chemosphere*, 2006, 63: 690–697
- 22 Haglund P S, Zook D R, Buser H R, et al. Identification and quantification of polybrominated diphenyl ethers and methoxy-polybrominated diphenyl ethers in baltic biota. *Environ Sci Technol*, 1997, 31: 3281–3287
- 23 Asplund L, Athanasiadou M, Sjodin A, et al. Organohalogen substances in muscle, egg and blood from healthy Baltic Salmon (*Salmo salar*) and Baltic Salmon that produced offspring with the M74 syndrome. *Amibio*, 1999, 28: 67–76
- 24 王婷, 尹华, 彭辉, 等. 低浓度重金属对蜡状芽孢杆菌复合菌降解 BDE209 性能的影响. *环境科学*, 2008, 29: 1967–1972
- 25 郭杨, 王世和. 多溴联苯醚的微生物降解研究. *中国沼气*, 2008, 26: 3–6
- 26 Gerecke A G, Hartmann P C, Heeb N V, et al. Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether. *Environ Sci Technol*, 2005, 39: 1078–1083
- 27 Tokarz J A, Ahn M Y, Leng J, et al. Reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers in anaerobic sediment and a biomimetic system. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 1157–1164
- 28 Rayne S, Ikononou M G, Whale M D. Anaerobic microbial and photochemical degradation of 4, 4'-dibromodiphenyl ether. *Water Res*, 2003, 37: 551–560
- 29 Blaut M, Collins M D, Welling G W, et al. Molecular biological methods for studying the gut microbiota: The EU human gut flora project. *Brit J Nut*, 2002, 87: S203–S211
- 30 Suau A, Bonner R, Sutren M, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65: 799–807

Study of the metabolism of decabromodiphenyl ether by human gut microbes

ZHANG DongPing¹, ZHANG Fan¹, YU YingXin¹, WU MingHong², SHENG GuoYing^{1,3} & FU JiaMo^{1,3}

¹Institute of Environmental Pollution and Health, School of Environmental and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

²Institute of Applied Radiation, School of Environmental and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

³State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangdong Key Laboratory of Environmental Resources Utilization and Protection, Guangzhou 510640, China

Decabromodiphenyl ether (BDE209) is a persistent organic pollutant that is used as brominated flame retardant. In organisms, it could be metabolized into compounds that have higher toxicity than BDE209 itself. In the present study, the metabolism of BDE209 was investigated by human gut microbes obtained from feces and gut microbes incubated using the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem. The results showed that the concentrations of BDE209 in the incubation solution did not decrease during incubation (10 d). Debrominated metabolites were not found in chromatograms from gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry. There was no evidence that the human gut microbes could metabolize BDE209 through debromination.

gut microbes, *in vitro* test, metabolism, decabromodiphenyl ether (BDE209)

doi: 10.1360/972011-757