



HAL
open science

Devenir des contaminants toxiques des aliments dans l'environnement digestif

Erwan Engel, Maïa Meurillon, Christelle Planche, P. Peyret

► **To cite this version:**

Erwan Engel, Maïa Meurillon, Christelle Planche, P. Peyret. Devenir des contaminants toxiques des aliments dans l'environnement digestif. *Innovations Agronomiques*, 2014, 36, pp.135-149. 10.17180/g55b-ys02 . hal-02634873

HAL Id: hal-02634873

<https://hal.inrae.fr/hal-02634873v1>

Submitted on 27 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Devenir des contaminants toxiques des aliments dans l'environnement digestif

Engel E.¹, Meurillon M.¹, Planche C.¹, Peyret P.²

¹ INRA, UR370 QuaPA, équipe MASS, F-63122 Saint-Genès-Champanelle

² 1EA-4678 CIDAM, Clermont Université, Université d'Auvergne, Place Henri Dunant, F-63001 Clermont-Ferrand

Correspondance : erwan.engel@clermont.inra.fr

Résumé

De nombreuses études semblent établir un lien entre notre alimentation et l'apparition de certaines pathologies. Un des principaux facteurs explicatifs serait une exposition répétée à de faibles doses de contaminants toxiques via les aliments. Il s'agit soit de micropolluants accumulés par les végétaux ou les animaux au cours de leur production puis transférés dans les produits alimentaires dérivés soit de composés néoformés lors des procédés de transformation des matières premières agricoles. L'évaluation du risque chimique associé à la présence de ces contaminants dans nos aliments est donc un enjeu majeur pour la recherche agronomique. Elle nécessite de déterminer les quantités de substances toxiques assimilées par l'organisme du consommateur. Jusqu'à aujourd'hui, cette estimation repose le plus souvent sur une quantification des contaminants co-ingérés avec les aliments sans prendre en compte les éventuels effets modulateurs de la digestion pourtant démontrés sur les nutriments ou les médicaments. Après un bref rappel des principaux contaminants susceptibles d'être retrouvés dans nos aliments, cet article montre en quoi le développement de nouveaux outils d'investigation du tractus digestif peut permettre de mieux évaluer le risque lié à l'exposition alimentaire aux contaminants. Il montre également l'intérêt d'étudier plus avant les interactions entre ces contaminants et le microbiote intestinal.

Mots-clés : micropolluants, néoformés, bioaccessibilité digestive, microbiote intestinal

Abstract: Fate of food toxicants in the digestive tract

Many studies seem to establish a relationship between human diet and the occurrence of several diseases. One of the main explanatory factors could be the repeated exposure to low doses of toxic contaminants with food intake. They are either micropollutants accumulated by plants or animals during their production then transferred in related food products or process-induced toxicants from agricultural raw materials. Chemical risk assessment related to the presence of these contaminants in food is therefore a major issue for agricultural research. It requires to assess the quantity of toxic substances digested by the consumer. Up to now, this estimation is based most often on a quantification of contaminants co-ingested with food without taking into account digestion possible modulating effects yet proved for nutrients and drugs. After a short reminder on the main contaminants likely to be found in food, this article points out how the development of new investigation tools of digestive tract can permit to better assess the risk related to food exposure to contaminants. It also demonstrates the interest to study more in deep the interactions between these contaminants and intestinal microbiota.

Keywords: micropollutants, process-induced toxicants, digestive bioaccessibility, intestinal microbiota

1. Les contaminants toxiques dans les aliments

Le vieillissement de la population et les progrès constants en matière de diagnostic médical concourent à la détection croissante de pathologies comme les cancers ou les maladies neurodégénératives. Plusieurs études scientifiques récentes suggèrent que l'alimentation joue un rôle clé dans leur apparition en exposant les consommateurs à certains contaminants toxiques retrouvés dans les aliments. Ces risques chimiques sont principalement liés à deux types de contaminants alimentaires, les micropolluants et les produits néoformés. Les premiers qui résultent de l'activité humaine, sont piégés dans les tissus vivants au cours de la production des matières premières agricoles végétales et animales et se retrouvent à terme, transférés dans les produits alimentaires. Les seconds sont formés au cours des procédés de transformation des aliments, tels que la cuisson ou le fumage.

1.1 Les micropolluants

Les micropolluants, qu'ils soient d'origine environnementale, vétérinaire ou phytosanitaire peuvent contaminer les aliments d'origines végétale et animale mais aussi l'eau que nous consommons (Figure 1). Les risques associés à leur présence dans notre alimentation sont évalués périodiquement par des études d'exposition à grande échelle menées par les autorités sanitaires (ANSES, 2011).

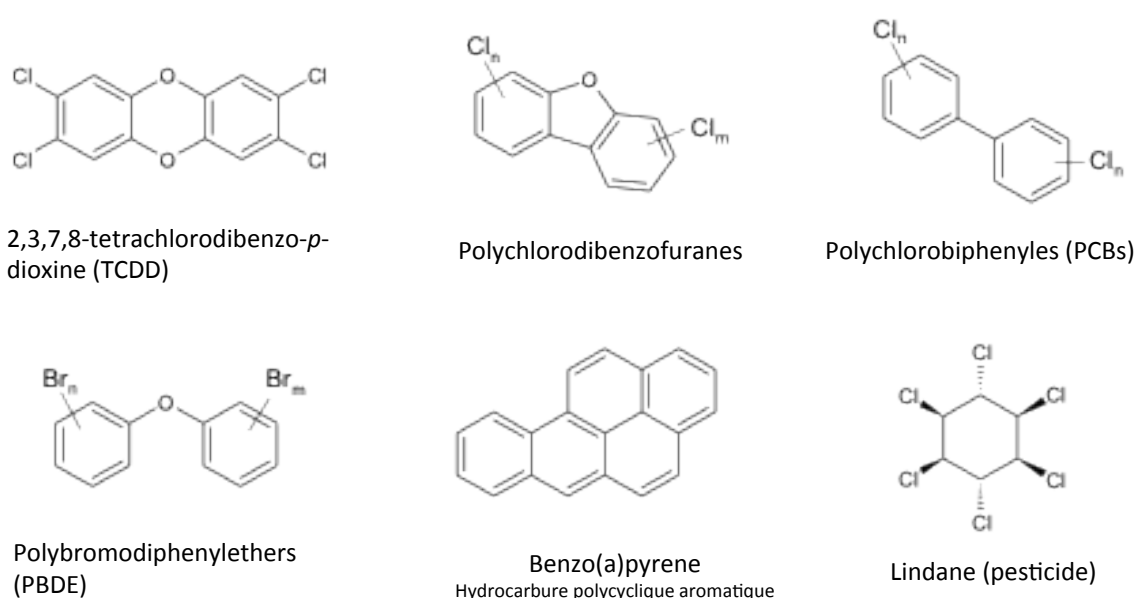


Figure 1 : Exemple de micropolluants environnementaux retrouvés dans les aliments

On distingue plusieurs familles de micropolluants.

Les **mycotoxines** sont des métabolites produits par les moisissures qui sont toxiques pour les animaux d'élevage et pour l'homme. Carcinogènes, immunosuppressives, hépatotoxiques ou neurotoxiques, elles peuvent contaminer les aliments avec une prédilection pour les produits végétaux tels que les céréales et les oléagineux. En 1985, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) estimait que 25 % des récoltes de céréales dans le monde étaient affectées par des mycotoxines, limitant la nourriture disponible à l'échelle mondiale. De plus, les mycotoxines sont responsables d'intoxications aiguës parfois mortelles, notamment chez les animaux d'élevage, et d'intoxications chroniques. L'ANSES s'intéresse par exemple au déoxynivalénol, pour lequel l'exposition de la population a augmenté au cours des dernières années (ANSES, 2011). Ce contaminant fongique de type *Fusarium* contamine les grains de blé, d'orge, de maïs et d'avoine lors de la floraison. Aussi

nommé vomitoxine, il peut provoquer des vomissements importants et aller jusqu'à des troubles hématologiques majeurs en cas d'intoxication aiguë.

Les **métaux lourds** tels que le cadmium, le plomb, l'arsenic ou le mercure sont aussi des contaminants environnementaux susceptibles de poser des problèmes de santé humaine liés à leur présence dans les aliments. S'ils peuvent avoir une origine naturelle, la plus grosse source d'émission provient des régions urbaines fortement industrialisées responsables de 80 à 90% des émissions atmosphériques de ces micropolluants. Leur teneur dans les aliments est à l'heure actuelle très contrôlée par le biais de plusieurs normes. Un exemple très problématique de cette famille de micropolluants est le méthylmercure qui va s'accumuler dans les tissus graisseux et les chairs de certains poissons consommés par l'homme provoquant des troubles du système nerveux central.

Une autre famille de contaminants environnementaux très surveillée par les autorités sanitaires est celle des **dioxines** et « **dioxines-like** » (AFSSA, 2005) qui sont surtout issues des procédés industriels même si elles peuvent avoir des causes naturelles (feux de forêts par exemple). Ces dioxines sont des sous-produits indésirables dans un grand nombre de procédés de fabrication et font parties des polluants organiques persistants. Elles sont très surveillées dans l'alimentation car elles s'accumulent dans la chaîne alimentaire, principalement dans les graisses animales. Cette famille est divisée en trois grands groupes : les **PCDD** (polychlorodibenzo-para-dioxines), les **PCDF** (polychlorodibenzofuranes) et les **PCB** (polychlorobiphényles). Parmi les PCDD et PCDF, seuls 17 congénères sont toxiques. Le plus problématique est le TCDD ou dioxine de Seveso qui est 10 fois plus toxique que les 16 autres congénères et qui est le seul considéré comme cancérigène. Les PCB sont moins toxiques, même si 12 d'entre eux induisent les mêmes cascades d'événements cellulaires que les dioxines. Ces dioxines et « dioxines-like » proviennent des réactions chimiques produites lors de combustion en présence d'oxygène et d'organochlorés. Ainsi l'incinération d'ordures ménagères, le chauffage au bois des habitations ou la circulation routière peuvent induire la formation de dioxines. Dans l'alimentation humaine, la principale voie de contamination provient de la consommation d'animaux élevés en plein air dans des zones contaminées.

Les **retardateurs de flamme bromés** (RFB), quant à eux, sont des mélanges de produits chimiques ajoutés à une grande variété de produits pour les rendre moins inflammables. Ils sont utilisés couramment dans les plastiques, les textiles, les équipements électriques et électroniques mais aussi dans les matériaux utilisés pour construire les bâtiments d'élevage. Il en existe 5 catégories : les polybromodiphényléthers (PBDE), le hexabromocyclododécane (HBCDD), le tétrabromobisphénol A (TBBPA) et autres phénols, les polybromobiphényles (PBB) et les autres retardateurs de flamme bromés. Leur utilisation dans l'Union Européenne est interdite ou limitée, cependant, en raison de leur persistance dans l'environnement, il subsiste des inquiétudes concernant les risques que ces produits chimiques présentent pour la santé publique (AFSSA, 2005; ANSES, 2011). En effet, les matériaux traités aux RFBs utilisés pour la construction des bâtiments d'élevage relarguent des RFBs qui vont contaminer les tissus animaux et être transférés à terme dans les produits alimentaires dérivés. Ainsi l'HBCD, un retardateur de flamme utilisé comme agent ignifuge dans les isolants thermiques est soupçonné d'être un puissant perturbateur endocrinien. Retiré des marchés européens depuis 2011, il fait aujourd'hui partie des contaminants suivis de près par l'ANSES (ANSES, 2012).

Les **hydrocarbures aromatiques polycycliques**, d'origine pyrolytiques, sont eux aussi surveillés par les agences sanitaires (Schroeder, 2010). Parmi eux, le benzo[a]pyrène est le plus toxique de par sa capacité à former des adduits avec l'ADN ce qui peut induire des effets mutagènes et cancérigènes. Il a donc pendant longtemps été utilisé comme seul marqueur de la présence des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Cependant il a été montré récemment que son seul suivi était insuffisant et qu'il fallait également considérer la somme de benzo[a]pyrène, benz[a]anthracène, benzo[b]fluoranthène et chrysène.

Pour les produits d'origine animale, les **antibiotiques** administrés aux animaux sont réglementés de manière stricte et leur absence dans les produits animaux est contrôlée à différents stades de la chaîne de production. A titre d'exemple l'usage des coccidiostatiques dans l'alimentation animale est surveillé afin d'éviter les cas de contamination chez l'homme par consommation de la viande d'un animal traité.

Les **résidus de pesticides** utilisés comme traitement phytosanitaires sont eux aussi problématiques car ils vont être retrouvés dans notre alimentation notamment via les produits végétaux, l'eau et les animaux d'élevage qui les consomment. Pour tenter de juguler ce problème, l'utilisation de pesticides a été fortement diminuée et est maintenant sujette à une réglementation stricte. Dans son étude récente de l'alimentation totale, l'ANSES recommande de poursuivre la surveillance du diméthoate, un insecticide organophosphoré à large spectre retrouvé dans l'alimentation. Il s'agit d'un inhibiteur de cholinestérases qui serait potentiellement cancérigène pour l'homme.

1.2 Les produits néoformés lors des procédés de transformation des aliments

Les composés néoformés au cours des procédés de transformation des aliments peuvent également être toxiques à faible dose et représenter ainsi un risque pour la santé humaine. Si certains participent aux qualités organoleptiques et sensorielles des aliments transformés, d'autres plus délétères peuvent être cancérigènes, mutagènes ou neurotoxiques.

Ces produits néoformés toxiques sont générés lors des étapes de transformation des aliments telle que la cuisson ou la fermentation, lors de la digestion ou encore par réaction avec les emballages alimentaires. Une attention particulière est donnée aux produits de néoformation à la cuisson (Skog et Alexander, 2006) qui sont les plus nombreux et sont générés par tout type d'aliments (Figure 2). Le plus étudié est sans doute l'acrylamide (Mottram *et al.*, 2002), issu de la réaction de Maillard lors de la cuisson d'aliments riches en carbohydrates tels que les pommes de terre (EFSA, 2011). Ce produit néoformé est classé comme potentiellement cancérigène et même si la dernière étude de l'ANSES montre une nette diminution dans la consommation française, il n'en reste pas moins présent à des doses reconnues cancérigènes chez l'animal et demeure très surveillé.

L'hydroxyméthylfurfural est quant à lui formé lors de la cuisson des produits céréaliers et si aucune corrélation n'a pu pour l'instant être établie de manière sûre quant à sa consommation et l'apparition de cancer, il reste cependant classé dans les composés potentiellement cancérigènes à cause de ses métabolites toxiques. Les produits carnés et ceux issus de la mer sont aussi très concernés par ces néoformations via la génération au cours de la cuisson de composés supposés cancérigènes. Il s'agit d'amines aromatiques hétérocycliques, des *N*-nitrosamines et des hydrocarbures aromatiques polycycliques qui comme le benzo[*a*]pyrène sont générés par des traitements thermiques soutenus tels que le grill, le barbecue ou plus encore, par les procédés de fumage. Les huiles, elles aussi, ne sont pas exemptes de composés néoformés.

La génération au cours du processus de raffinage de dérivés du monochloropropane diol est notamment problématique car ces derniers sont cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques pour l'homme. Leur quantité dans les aliments transformés varie selon les procédés de transformation et différentes études ont été réalisées pour tenter de diminuer leur formation. Leur toxicité est très dépendante de la classe de composés auxquels ils appartiennent mais nombre d'entre eux sont classés potentiellement ou probablement cancérigènes (IARC, 1973, 1993, 1998, 2012).

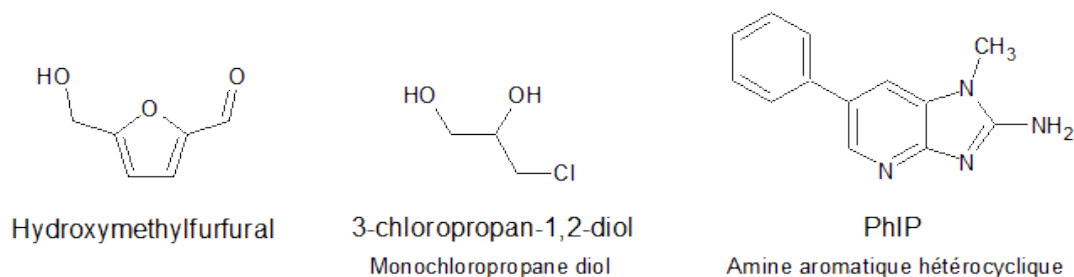


Figure 2 : Exemple de produits néoformés lors des procédés de transformation des aliments

En dehors des cas exceptionnels et le plus souvent accidentels d'intoxication alimentaire par des doses massives, le risque chimique associé à ces contaminants est lié à une exposition chronique du consommateur qu'il s'agisse de micropolluants ou de composés néoformés. En effet, ces contaminants toxiques sont soupçonnés d'être impliqués dans l'apparition de certains cancers comme le cancer colorectal ou le cancer du sein ainsi que dans d'autres pathologies telles que certaines maladies dégénératives liées à leurs propriétés neurotoxiques. Cependant, comme ils sont présents à l'état de traces dans l'alimentation et qu'ils sont consommés en mélanges complexes tout au long de la vie d'un individu, il est très délicat d'évaluer précisément le risque qu'ils présentent pour la santé humaine.

2. Bioaccessibilité digestive

Un des enjeux actuels pour les acteurs des filières agro-alimentaires est de pouvoir répondre à la demande des consommateurs qui souhaitent disposer d'aliments sains et sûrs, c'est-à-dire exempts de substances nuisibles à leur santé. Pour cela, les autorités sanitaires doivent pouvoir apprécier le plus objectivement possible le risque lié à la présence éventuelle de contaminants dans certains aliments.

Cette évaluation repose sur des estimations de la fréquence de consommation des aliments, de leurs niveaux de contamination et de la toxicité des substances incriminées. Dans le meilleur des cas, les risques chimiques sont évalués à partir de la teneur en contaminants ingérés alors que généralement seule une fraction d'entre eux est effectivement assimilée par l'organisme du consommateur du fait de leur extraction incomplète de la matrice alimentaire et éventuellement de leur transformation au cours du processus digestif. Des recherches doivent donc être menées pour prendre en compte cet effet modulateur de la digestion dans l'évaluation du risque lié aux contaminants alimentaires.

2.1 Fraction bioaccessible et fraction bioassimilable

La fraction bioaccessible désigne la fraction d'un contaminant qui est libérée de la matrice alimentaire dans le tractus digestif et qui, solubilisé dans le fluide digestif, est disponible pour l'absorption par l'épithélium intestinal (Versantvoort et al., 2005; Yu et al., 2011).

Comme l'illustre la Figure 3, seuls les contaminants **bioaccessibles**, c'est à dire libérés de la matrice alimentaire lors de la digestion d'aliments contaminés, pourront être absorbés par l'organisme au niveau de l'épithélium intestinal. La fraction du contaminant initial qui est ensuite transférée dans la circulation sanguine est la fraction **biodisponible** c'est-à-dire la fraction de contaminant initialement contenu dans la matrice alimentaire qui est à même de circuler dans le sang et ainsi d'atteindre les organes cibles au niveau desquels ils exerceront leurs effets toxiques. Pour évaluer de manière fiable l'exposition humaine aux contaminants alimentaires, il est nécessaire de connaître cette fraction bioaccessible de la matrice qui correspond à la proportion maximale de contaminants biodisponibles pour l'absorption intestinale (Yu et al., 2009).

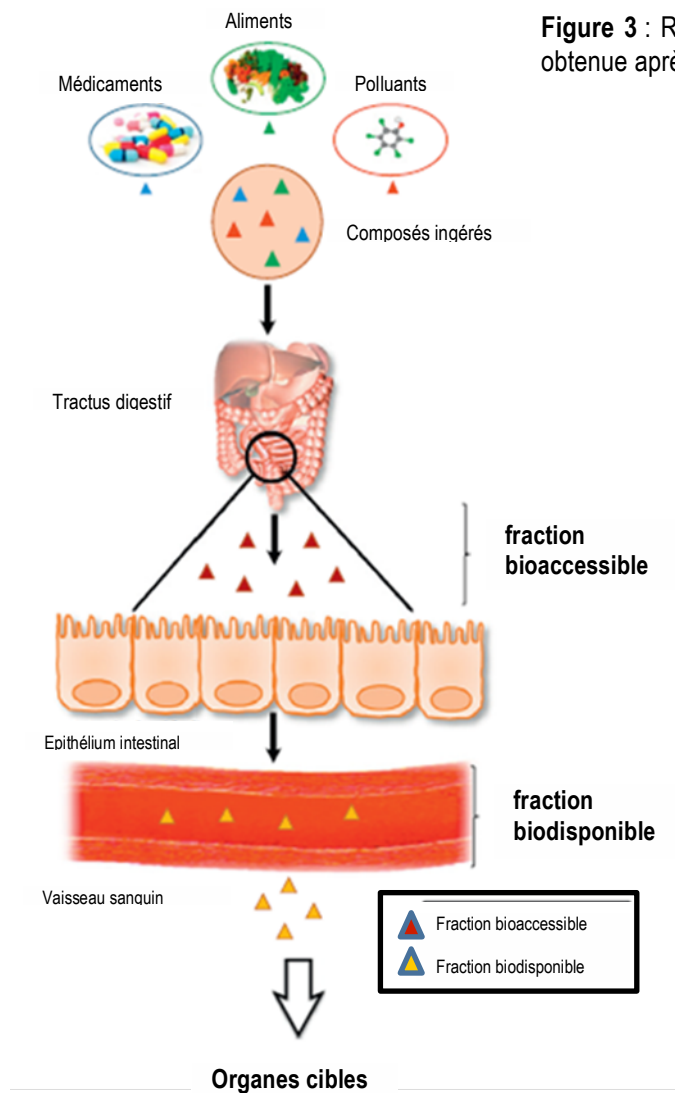


Figure 3 : Représentation de la fraction bioaccessible obtenue après digestion (Guerra *et al.*, 2012).

2.2 La mesure de la bioaccessibilité

Pour mesurer la bioaccessibilité, les approches *in vivo* sont techniquement difficiles à mettre en œuvre, coûteuses et limitées par des contraintes éthiques lorsque l'étude porte sur des contaminants alimentaires. Afin d'étudier leur devenir et leur bioaccessibilité digestive chez l'homme, il est donc nécessaire de développer des approches *in vitro* qui reproduisent les conditions physiologiques de la digestion (Guerra *et al.*, 2012).

Parmi les digesteurs *in vitro* permettant l'étude de la bioaccessibilité de polluants alimentaires, les **modèles statiques** mimant les conditions stomacales et intestinales avec un nombre limité de paramètres simulés sont les plus utilisés (Guerra *et al.*, 2012). La simulation de la phase gastrique de la digestion (pH=1-4 ; 37°C ; ≈3h) s'accompagne a minima d'un ajout d'une quantité déterminée de pepsine (Dean *et Ma*, 2007). Cette étape peut être suivie par une phase intestinale (pH=4-7,5 ; 37°C ; ≈7h) avec l'utilisation d'enzymes pancréatiques et de sels biliaires. Cependant, ces systèmes statiques sont considérés par leurs détracteurs comme peu réalistes dans la mesure où ils ne reproduisent pas les processus dynamiques de la digestion tels que la vidange gastrique ou les changements continus de pH et les flux de sécrétions.

En réponse à ces limites, des **modèles dynamiques** ont été développés afin de se rapprocher des conditions réelles observables lors de la digestion chez l'Homme.

Parmi eux, des digesteurs dynamiques à un seul compartiment permettent de simuler la phase gastrique de la digestion avec notamment une acidification progressive via l'addition d'acide chlorhydrique. Les modèles dynamiques à deux compartiments représentent quant à eux les conditions retrouvées au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle proximal tandis que les modèles dynamiques multi-compartiments comme les systèmes de type TIM-1 (TNO gastro-Intestinal Model 1) représentent les conditions stomacales puis les conditions retrouvées au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléon (Guerra et al., 2012). Ces systèmes plus avancés intègrent les variations de vitesse de vidange gastrique, de températures, les cinétiques de pH ou encore les temps de transit retrouvés lors de la digestion, paramètres susceptibles de moduler significativement la bioaccessibilité (Torres-Escribano et al., 2011).

Après digestion *in vitro*, l'évaluation de la fraction bioaccessible s'effectue par un dosage du contaminant dans le digestat obtenu après une étape de centrifugation (typiquement 10 min., 7000 g, 37°C) et de filtration afin d'éliminer les grosses particules résiduelles (0.45 µm). En couplant ces digesteurs à des méthodes de quantification multi-résidus des contaminants comme la chromatographie systématique bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol (GCxGC-TOF/MS), il devient possible de réaliser des mesures « haut-débit » de la bioaccessibilité d'un large éventail de contaminants (Engel et al., 2013 ; Mondello et al., 2008).

Tous ces dispositifs analytiques, bien qu'indispensables pour l'étude de composés toxiques, ne peuvent cependant pas rendre compte de rétrocontrôles, des contrôles hormonaux et nerveux, de l'intervention du système immunitaire ou encore de la complexité du microbiote et des mouvements péristaltiques retrouvés chez l'Homme lors de la digestion (Guerra et al., 2012). Leur validation grâce à des données obtenues *in vivo* sur des modèles animaux reste donc une étape nécessaire.

2.3 L'état des connaissances sur la bioaccessibilité des contaminants

Une part significative des travaux sur la bioaccessibilité des contaminants alimentaires concernent les métaux lourds avec un intérêt tout particulier pour la présence d'arsenic, de mercure et de méthylmercure dans les produits de la mer. Si la digestion semble peu affecter la bioaccessibilité de l'arsenic (Maulvault *et al.*, 2011), les fractions de mercure et de méthylmercure assimilables varient de 1 à 93% en fonction des espèces marines consommées (Laird *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2013) et dans une moindre mesure en fonction du type de cuisson appliqué avant consommation (Ouedraogo et Amyot, 2011). Plusieurs travaux relatifs aux mycotoxines montrent également l'intérêt de bactéries probiotiques pour diminuer la bioaccessibilité d'aflatoxines dans des matrices comme le lait ou les céréales (Kabak et Ozbey, 2012a, b). De plus en plus de travaux menés ces dernières années concernent les contaminants organiques environnementaux ou néoformés au cours des procédés de transformation des aliments. Il s'agit des dioxines, des PCBs (Xing *et al.*, 2008), des retardateurs de flamme bromés (Yu *et al.*, 2009 ; Yu *et al.*, 2011), des pesticides organochlorés (Yu *et al.*, 2012b), des HAPs (Yu *et al.*, 2012a) ou des amines hétérocycliques (Kulp *et al.*, 2003). Même si les conditions de digestion *in vitro* et les modalités d'évaluation de la bioaccessibilité varient sensiblement d'une équipe à l'autre, ces différentes études s'accordent sur le fait que la bioaccessibilité varie beaucoup d'un contaminant à l'autre même lorsqu'il s'agit de congénères et qu'elle peut être inférieure à 1%. Sa prise en compte semble ainsi tout particulièrement pertinente pour l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de ces contaminants dans les aliments.

Les différences notables entre les protocoles de digestion *in vitro* peuvent expliquer la dispersion des valeurs retrouvées dans la littérature (Maulvault *et al.*, 2011). La composition des solutions gastriques et intestinales est notamment variable. Ainsi, l'utilisation d'extraits biliaires d'espèces animales différentes et donc de composition différente peut aboutir à une forte variabilité des valeurs de bioaccessibilité (Oomen *et al.*, 2003).

Par ailleurs, le temps d'incubation de la matrice alimentaire avec les solutions gastro-intestinales, qui est fluctuant selon les protocoles, induit également des différences au niveau des valeurs de bioaccessibilité obtenues : une libération dépendante du temps d'incubation des polluants alimentaires dans la solution intestinale a par exemple été observée lors de l'analyse d'échantillons de poisson (Yu *et al.*, 2009). Deux phases de libération successives sont remarquables : une phase plus rapide durant les 2 premières heures où la bioaccessibilité augmente rapidement puis une phase plus lente où la quantité de contaminants libérés de la matrice atteint sa valeur d'équilibre les 4 heures suivantes (Yu *et al.*, 2009). De plus dans le cas de certaines amines hétérocycliques, un broyage fin de la matrice avant digestion *in vitro* augmenterait la bioaccessibilité (Kulp *et al.*, 2003). Les valeurs de pH utilisées lors d'une digestion artificielle influencent également fortement le résultat final : un faible pH au niveau de l'estomac induit des valeurs de bioaccessibilité plus élevées (Oomen *et al.*, 2002). Tous ces paramètres sont donc à prendre en compte lors de l'établissement d'un protocole de digestion *in vitro*.

Au-delà du protocole de digestion, la bioaccessibilité des contaminants dépend beaucoup de la composition de la matrice contaminée. La bioaccessibilité moyenne des PolyChloroBiphényles (PCB) a par exemple été estimée à 3% dans du poisson et à 25% dans des légumes (Xing *et al.*, 2008). Une étude réalisée sur 13 matrices alimentaires différentes a quant à elle montré que la bioaccessibilité de retardateurs de flamme bromés (PBDE ou PolyBromoDiphénylEthers) pouvait varier de 3 à 41% selon l'aliment (Yu *et al.*, 2010). Ces variations s'expliqueraient à la fois par les différences de structure mais aussi de composition entre les matrices étudiées. Une corrélation positive a notamment été mise en évidence entre la bioaccessibilité des PBDE et le taux de lipides des produits animaux lorsque celui-ci dépassait le seuil de 1,8% du poids frais (Yu *et al.*, 2011 ; Yu *et al.*, 2010). Au-delà de ce seuil, la teneur en lipides serait un facteur clé déterminant la bioaccessibilité des contaminants. En revanche, lorsque la teneur en lipides est faible, les teneurs en protéines et glucides des aliments analysés pourraient alors jouer un rôle important sur la bioaccessibilité (Yu *et al.*, 2010). Dans ces conditions, une corrélation négative peut être observée entre la teneur en protéines et la bioaccessibilité des contaminants alors qu'une corrélation positive peut être mise en évidence entre la teneur en glucides et la bioaccessibilité des contaminants (Yu *et al.*, 2010).

Les traitements préalables à la consommation d'aliments et donc à la digestion ont également une influence sur les valeurs de bioaccessibilité. La cuisson a par exemple un effet significatif qui va varier selon les méthodes et les barèmes temps-température appliqués (Marques *et al.*, 2011 ; Maulvault *et al.*, 2011 ; Page *et al.*, 2012). L'addition d'ingrédients lors de la transformation ou la consommation simultanée d'autres aliments sont également des variables à prendre en compte dans l'évaluation de la bioaccessibilité. Hornero-Mendez *et al.* (2007) ont par exemple montré que l'ajout de matières grasses lors de la cuisson contribuerait à augmenter les valeurs de bioaccessibilité (Hornero-Méndez et Mínguez-Mosquera, 2007).

Ces recherches sur la bioaccessibilité digestive des contaminants se focalisent sur la partie haute du système digestif avec une approche de type « génie des procédés ». Afin d'appréhender le devenir des contaminants dans l'environnement digestif, il est également indispensable d'étudier le rôle des étapes ultérieures du processus digestif qui mettent en jeu des communautés microbiennes qui sont susceptibles de contribuer à la réponse du corps humain aux contaminants alimentaires, le microbiote intestinal.

3. Microbiote intestinal et xénobiotiques

3.1 Le microbiote intestinal

Avant la naissance, le tube digestif est stérile, il ne contient de ce fait aucun micro-organisme. La colonisation du système digestif va se dérouler suite à l'accouchement (contact avec la mère, alimentation, environnement). Ce sont les bactéries anaérobies facultatives telles qu'*Escherichia coli* et

des Streptocoques qui initient la colonisation créant un environnement favorable au développement de nombreux autres micro-organismes **anaérobies** stricts (croissance en absence d'oxygène). Ce n'est que vers l'âge de trois ans que la communauté microbienne se stabilise et sera conservée tout au long de la vie. L'ensemble de ces micro-organismes est appelé **microbiote intestinal** anciennement dénommé flore intestinale. Cette communauté microbienne complexe joue un rôle central dans la santé humaine et le bien-être. La composition de cet écosystème pourra varier en fonction de nombreux facteurs tels que l'alimentation, l'environnement, l'apparition de pathologies et les traitements médicamenteux. A titre d'exemple, les traitements antibiotiques entraînent une diminution de la stabilité et de la diversité du microbiote intestinal (Maurice *et al.*, 2013). Cependant, cet environnement digestif possède le plus souvent les capacités à retrouver un équilibre initial (**résilience**). Les micro-organismes intestinaux peuvent contribuer à un grand nombre de pathologies digestives (inflammations chroniques comme la maladie de Crohn, cancers) ou désagrément (syndrome de l'intestin irritable) mais aussi à des pathologies extra intestinales (diabète, obésité, maladies cardio-vasculaires, syndromes métaboliques). Des études récentes montrent de plus qu'il existerait un axe de communication intestin-cerveau où le microbiote pourrait jouer un rôle dans l'apparition de certaines pathologies du système nerveux central ou être à l'origine de troubles du comportement (Zhu *et al.*, 2010). Le rôle de ce microbiote dans de nombreuses autres pathologies est actuellement exploré (Amirian *et al.*, 2013).

Chez l'Homme, le contenu intestinal pèse environ 2 kg et renferme 100 000 milliards de bactéries très diversifiées soit dix fois plus de cellules bactériennes que de cellules du corps humain. Les nouvelles approches de séquençage haut-débit font apparaître une diversité de près de 40 000 espèces (Frank et Pace, 2008). A titre comparatif, le génome humain porte près de 23 000 gènes alors que le microbiote intestinal dépasse les 3 millions de gènes (Zhu *et al.*, 2010). Certains chercheurs parlent ainsi du deuxième génome du corps humain permettant de réaliser de nombreuses fonctions métaboliques essentielles. Ainsi, les capacités métaboliques associées au microbiote intestinal sont considérables et peuvent interférer avec le métabolisme de l'hôte. Cet organe à part entière, longtemps ignoré, participe à la formation de près de 40% des petites molécules sanguines (Saad *et al.*, 2013). Le tractus gastro-intestinal est le lieu de passage et de transformation de nombreux produits toxiques issus de l'environnement ou de l'alimentation. Dans la partie terminale du tube digestif, ce sont les fibres et les protéines plus réfractaires à la digestion qui seront les nutriments préférentiels. Le butyrate, l'un des produits terminaux de la fermentation, constitue la principale source d'énergie des cellules épithéliales du côlon (**colonocytes**). De façon générale, les acides gras à courtes chaînes issus de la fermentation, participent au développement et au maintien de l'épithélium intestinal mais également au contrôle hépatique du métabolisme des lipides et des sucres. Le microbiote du côlon fournit également de nombreuses vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine, vitamine B12, vitamine K). Ces effets bénéfiques sont donc dépendants des potentiels métaboliques microbiens de chaque individu.

3.2 Les méthodes d'études du microbiote

Du fait des difficultés d'accès au microbiote intestinal humain (actes chirurgicaux invasifs), de nombreuses études se focalisent sur le microbiote fécal qui est supposé être le plus représentatif du microbiote du côlon. D'autre part, les modèles animaux et les systèmes *in vitro* peuvent également apporter des réponses aux questions posées même s'il existe des différences majeures avec le système digestif humain (Manning *et al.*, 1988 ; McConnell *et al.*, 2008).

Les méthodes *in vitro* sont des alternatives permettant de s'affranchir des difficultés d'études sur les animaux et du contexte éthique. Cependant, il existe là encore des limites portant principalement sur les difficultés à reproduire et maintenir un microbiote aussi diversifié que celui des modèles animaux. De plus, le dialogue avec l'hôte n'est pas considéré. Les interprétations devront donc tenir compte de ces limites. La culture par lot statique (batch) est la plus simple et doit être préférentiellement utilisée sur de courtes périodes (24-48h) évitant ainsi l'influence de paramètres ne pouvant être contrôlés (pH,

potentiel redox, évolution de la communauté microbienne). Cette méthode simple d'utilisation et peu coûteuse peut permettre un criblage important de composés (Gibson et Fuller, 2000). Un système semi-continu de culture mais surtout les systèmes continus permettent d'augmenter les temps de manipulation et de se rapprocher des conditions *in vivo*. Certains de ces systèmes reproduisent les différents compartiments de l'estomac et de l'intestin grêle (Guerra *et al.*, 2012), du côlon (Feria-Gervasio *et al.*, 2014 ; Macfarlane *et al.*, 1998), de l'intestin grêle et du côlon (Molly *et al.*, 1993) et peuvent mimer l'absorption (Minekus *et al.*, 1999). Aucun des systèmes actuels ne peut reproduire l'intégralité du système digestif et de nouveaux développements sont nécessaires pour se rapprocher des modèles *in vivo* en intégrant notamment la réponse de l'hôte (Guerra *et al.*, 2012).

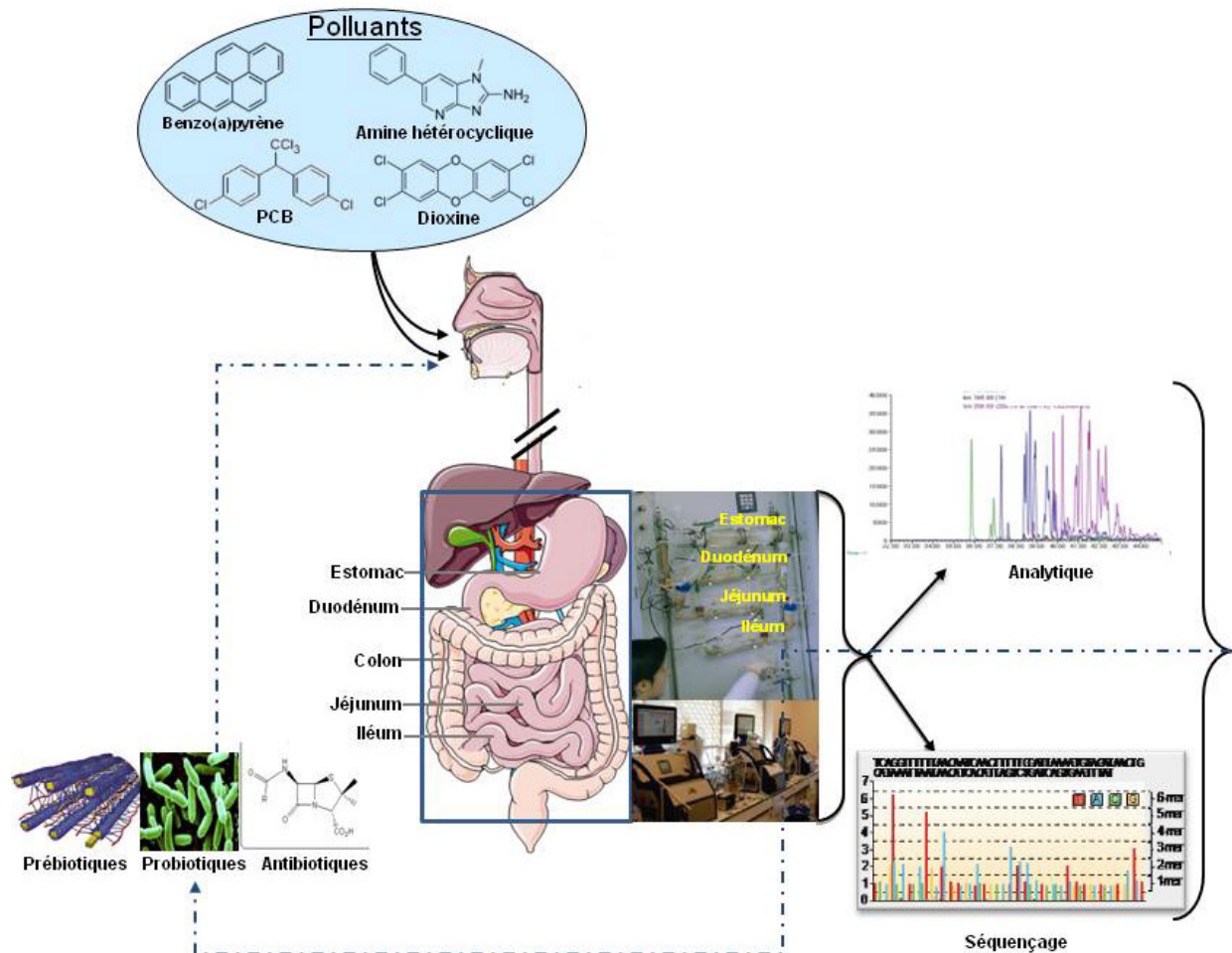


Figure 4 : Exploration en systèmes *in vivo* et *in vitro* de l'impact des xénobiotiques sur le microbiote intestinal.

Comme l'illustre la Figure 4, l'exploration des rôles du microbiote intestinal, du fait de son extrême complexité, nécessite l'utilisation combinée des techniques de nouvelle génération autorisant le séquençage de tout ou partie des acides nucléiques de la communauté microbienne (**métagénomique**, **métatranscriptomique**) associées à des compétences en bio-informatique et des techniques analytiques performantes tout en explorant différents modèles (cohortes longitudinales de patients, modèles animaux, modèles *in vitro*).

3.3 Microbiote et contaminants alimentaires

Même si la littérature scientifique sur ce thème est encore peu abondante, de plus en plus de recherches sont entreprises pour étudier l'influence supposée majeure du microbiote intestinal sur les changements d'activité, de biodisponibilité et de toxicité des contaminants (Haiser et Turnbaugh, 2013).

Il s'agit en particulier de mieux connaître le métabolisme des contaminants toxiques par les populations microbiennes du microbiote intestinal afin d'appréhender notamment l'incidence d'une exposition alimentaire à ces composés sur le développement de certaines pathologies. Beaucoup de xénobiotiques depuis les produits pharmaceutiques jusqu'aux produits chimiques carcinogènes sont métabolisés par le foie et le microbiote intestinal (Sousa *et al.*, 2008). La voie entéro-hépatique (voie de communication entre l'intestin et le foie) est ainsi non seulement importante pour la digestion mais également pour la métabolisation des contaminants à des fins de détoxication (van Herwaarden *et al.*, 2009). Dans ce cas (Figure 5), les enzymes à activité cytochrome P450 peuvent réaliser des réactions d'oxydation au niveau des cellules épithéliales intestinales mais également au niveau des cellules hépatiques conduisant à la phase I de la détoxication. Les contaminants et leurs dérivés oxydés peuvent cependant retourner dans la lumière intestinale au travers de différents systèmes d'efflux des **entérocytes** (cellules de l'épithélium intestinal).

Des expériences sur des souris dépourvues de microbiote intestinal (**axéniques**) montrent un rôle des micro-organismes dans la régulation de l'expression des enzymes à cytochromes P450. Pour les molécules ayant passées la barrière de l'épithélium intestinal, elles sont alors dirigées vers le foie par la circulation sanguine au niveau de la veine porte. Le métabolisme hépatique se poursuit pour les molécules transitant par les **hépatocytes** (cellules du foie) par une phase II permettant une transformation par conjugaison des molécules activées conduisant à leurs éliminations via les sels biliaires. Là encore, des systèmes d'efflux des cellules hépatiques permettent un retour des contaminants et de leurs dérivés dans la circulation sanguine générale pouvant ainsi atteindre d'autres organes voire retourner vers le système digestif. Les activités bactériennes de type B-glucuronidases peuvent cliver les composés conjugués issus du foie libérant ainsi de nouveau les contaminants dans la lumière du colon. Cette voie entéro-hépatique permet donc aux contaminants absorbés dans la partie haute du tractus digestif d'être également en contact avec le microbiote du côlon.

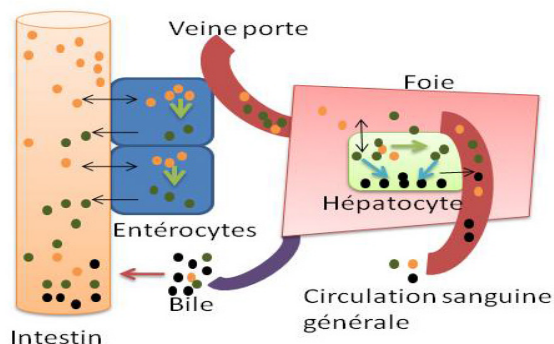


Figure 5 : Schéma de détoxication des contaminants au travers de la voie entéro-hépatique. Les contaminants ingérés sont présentés sous forme de points orange. Leurs produits d'oxydation dans les entérocytes et les hépatocytes sont représentés par des points verts alors que dans les hépatocytes, les produits de conjugaison qui en découlent sont figurés sous forme de points noirs.

Comme le montrent de nombreux travaux dans le domaine médical, les activités microbiennes peuvent rendre une molécule active, inactive ou toxique. Ainsi, l'irinotecan, un agent utilisé en chimiothérapie sur des patients atteints de cancers colorectaux, ne peut être administré qu'en doses limitées du fait d'effets secondaires liés à l'activité microbienne entraînant une déconjugaison du médicament ayant subi une transformation au niveau hépatique. L'utilisation d'inhibiteurs du métabolisme microbien permet d'améliorer l'efficacité de ce médicament tout en limitant les effets secondaires (Wallace *et al.*, 2010).

De plus, le microbiote intestinal de certaines personnes peut conduire à la formation de formes toxiques de molécules utilisées à des fins thérapeutiques. En 1993, après sa mise sur le marché japonais, la sorivudine un antiviral prometteur, aurait été métabolisée par le microbiote de certains patients en un produit qui peut inhiber le 5-fluorouracil un agent anti-cancéreux. Quatorze jours après la mise sur le marché 18 patients décédèrent suite à une co-administration de ces médicaments. Quelques rares exemples montrent l'effet significatif des contaminants alimentaires sur le microbiote intestinal. Ainsi,

l'administration orale des polychlorobiphényles (PCB) modifierait la structure du microbiote intestinal (Choi *et al.*, 2013) et l'homéostasie du glucose ce qui augmenterait le risque de diabète et d'obésité (Baker *et al.*, 2013). L'exposition à l'arsenic perturberait également la structure et les fonctions du microbiote intestinal (Lu *et al.*, 2014). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques quant à eux pourraient être bio-activés en composés oestrogéniques par les micro-organismes du côlon (Van de Wiele *et al.*, 2005). Ces résultats prometteurs devraient jouer un rôle fortement incitateur sur le développement de ce thème de la transformation des contaminants toxiques par le microbiote intestinal.

Nous ne sommes qu'au début de la découverte du potentiel de cet écosystème microbien resté longtemps caché tant pour ses bienfaits que pour son implication dans diverses pathologies. L'influence des contaminants chimiques environnementaux et néoformés alimentaires sur ce microbiote intestinal pourrait expliquer la recrudescence de certaines pathologies. Il sera alors possible d'entrevoir, pour chaque personne possédant un microbiote qui lui est propre, une prise en charge individuelle tant d'un point de vue alimentaire que médical.

Références bibliographiques

- AFSSA, 2005. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de l'exposition de la population française aux dioxines, furanes et PCB de type dioxine. AFSSA, Saisine n° 2005-SA-0372.
- Amirian E.S., Petrosino J.F., Ajami N.J., Liu Y., Mims M.P., Scheurer M.E., 2013. Potential role of gastrointestinal microbiota composition in prostate cancer risk. *Infect Agent Cancer* 8 (1), 42.
- ANSES, 2011. Etude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2). Avis de l'ANSES, rapport d'expertise.
- ANSES, 2012. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux analyses de retardateurs de flamme bromés (RFB) à mettre en œuvre dans le cadre des prochains plans de surveillance. Avis de l'Anses - Saisine n° 2010-SA-0225.
- Baker N.A., Karounos M., English V., Fang J., Wei Y., Stromberg A., Sunkara M., Morris A.J., Swanson H.I., Cassis L.A., 2013. Coplanar polychlorinated biphenyls impair glucose homeostasis in lean C57BL/6 mice and mitigate beneficial effects of weight loss on glucose homeostasis in obese mice. *Environ Health Perspect* 121 (1), 105-110.
- Choi J.J., Eum S.Y., Rampersaud E., Daunert S., Abreu M.T., Toborek M., 2013. Exercise attenuates PCB-induced changes in the mouse gut microbiome. *Environ Health Perspect* 121 (6), 725-730.
- Dean J.R., Ma R., 2007. Approaches to assess the oral bioaccessibility of persistent organic pollutants: a critical review. *Chemosphere* 68, 1399-1407.
- EFSA, 2011. Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007-2009 and exposure assessment. *EFSA Journal* 9 (4).
- Engel E., Ratel J., Blinet P., Chin S.T., Rose G., Marriott P.J., 2013. Benchmarking of candidate detectors for multiresidue analysis of pesticides by comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, In press.
- Feria-Gervasio D., Tottey W., Gaci N., Alric M., Cardot J.M., Peyret P., Martin J.F., Pujos E., Sebedio J.L., Brugere J.F., 2014. Three-stage continuous culture system with a self-generated anaerobiosis to study the regionalized metabolism of the human gut microbiota. *J Microbiol Methods* 96, 111-118.
- Frank D.N., Pace N.R., 2008. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. *Curr Opin Gastroenterol* 24 (1), 4-10.
- Gibson G.R., Fuller R., 2000. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *J Nutr* 130 (2S Suppl), 391S-395S.
- Guerra A., Etienne-Mesmin L., Livrelli V., Denis S., Blanquet-Diot S., Alric M., 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology* 30 (11), 591-600.

- Haiser H.J., Turnbaugh P.J., 2013. Developing a metagenomic view of xenobiotic metabolism. *Pharmacol Res* 69 (1), 21-31.
- Hornero-Méndez D., Mínguez-Mosquera M. I., 2007. Bioaccessibility of carotenes from carrots: Effect of cooking and addition of oil. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8, 407-412.
- IARC, 1973. Certain polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic compounds. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of the chemical to man, 3.
- IARC, 1993. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 56.
- IARC, 1998. Some N-nitroso compounds. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 17.
- IARC, 2012. 3-monochloro-1,2-propanediol. IARC Monographs, 101, 349-374.
- Kabak B., Ozbey F., 2012a. Aflatoxin M1 in UHT milk consumed in Turkey and first assessment of its bioaccessibility using an in vitro digestion model. *Food Control* 28, 338-344.
- Kabak B., Ozbey F., 2012b. Assessment of the bioaccessibility of aflatoxins from various food matrices using an in vitro digestion model, and the efficacy of probiotic bacteria in reducing bioaccessibility. *Journal of Food Composition and Analysis* 27, 21-31.
- Kulp K.S., Fortson S.L., Knize M.G., Felton J.S., 2003. An in vitro model system to predict the bioaccessibility of heterocyclic amines from a cooked meat matrix. *Food and Chemical Toxicology* 41, 1701-1710.
- Laird B.D., Shade C., Gantner N., Chand H.M., Siciliano S.D., 2009. Bioaccessibility of mercury from traditional northern country foods measured using an in vitro gastrointestinal model is independent of mercury concentration. *Science of Total Environment* 407, 6003-6008.
- Lu K., Abo R.P., Schlieper K.A., Graffam M.E., Levine S., Wishnok J.S., Swenberg J.A., Tannenbaum S.R., Fox J.G., 2014. Arsenic exposure perturbs the gut microbiome and its metabolic profile in mice: an integrated metagenomics and metabolomics analysis. *Environ Health Perspect* 122 (3), 284-291.
- Macfarlane G.T., Macfarlane S., Gibson G.R., 1998. Validation of a Three-Stage Compound Continuous Culture System for Investigating the Effect of Retention Time on the Ecology and Metabolism of Bacteria in the Human Colon. *Microb Ecol* 35 (2), 180-187.
- Manning B.W., Campbell W.L., Franklin W., Delclos K.B., Cerniglia C.E., 1988. Metabolism of 6-nitrochrysene by intestinal microflora. *Applied and environmental microbiology*, 54, 197-203.
- Marques A., Lourenço H.M., Nunes M.L., Roseiro C., Santos C., Barranco A., Rainieri S., Langerholc T., Cencic A., 2011. New tools to assess toxicity, bioaccessibility and uptake of chemical contaminants in meat and seafood. *Food Research International* 44, 510-522.
- Maulvault A.L., Machado R., Afonso C., Lourenço H.M., Nunes M.L., Coelho I., Langerholc T., Marques A., 2011. Bioaccessibility of Hg, Cd and As in cooked black scabbard fish and edible crab. *Food and Chemical Toxicology* 49, 2808-2815.
- Maurice C.F., Haiser H.J., Turnbaugh P.J., 2013. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell* 152 (1-2), 39-50.
- McConnell E.L., Basit A.W., Murdan, S., 2008. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments. *J Pharm Pharmacol* 60 (1), 63-70.
- Minekus M., Smeets-Peeters M., Bernalier A., Marol-Bonnin S., Havenaar R., Marteau P., Alric M., Fonty G., Huis in't Veld J.H., 1999. A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Appl Microbiol Biotechnol* 53 (1), 108-114.
- Molly K., Vande Woestyne M., Verstraete W., 1993. Development of a 5-step multi-chamber reactor as a simulation of the human intestinal microbial ecosystem. *Appl Microbiol Biotechnol* 39 (2), 254-258.
- Mondello L., Tranchida P.Q., Dugo P., Dugo G., 2008. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: a review. *Mass Spectrometry Reviews* 27, 101-124.

- Mottram D.S., Wedzicha B.L., Dodson A.T., 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature* 419, 448-449.
- Oomen A.G., Hack A., Minekus M., Zeijdner E., Cornelis C., Schoeters G., Verstraete W., Wiele T.V. d., Wragg J., Rompelberg C.J.M., Sips A., Wijnen J.H.V., 2002. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environmental Science and Technology* 36, 3326-3334.
- Oomen A.G., Rompelberg C.J., Bruil M.A., Dobbe C.J., Pereboom D.P., Sips A.J., 2003. Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of environmental contamination and toxicology* 44, 281-287.
- Ouedraogo O., Amyot M., 2011. Effects of various cooking methods and food components on bioaccessibility of mercury from fish. *Environmental Research* 111, 1064-1069.
- Page D., Stratum E.V., Degrou A., Renard C.M., 2012. Kinetics of temperature increase during tomato processing modulate the bioaccessibility of lycopene. *Food Chemistry* 135, 2462-2469.
- Saad R., Rizkallah M.R., Aziz R.K., 2013. Gut Pharmacomicrobiomics: the tip of an iceberg of complex interactions between drugs and gut-associated microbes. *Gut Pathog* 4 (1), 16.
- Schroeder H., 2010. Neurotoxicité et maladies neurodégénératives : risques pour les travailleurs et en population générale en relation avec l'exposition aux substances chimiques - Les hydrocarbures aromatiques polycycliques présentent-ils un risque de neurotoxicité développementale ? *Anses • Bulletin de veille scientifique • Santé / Environnement / Travail*, 83-88.
- Skog K., Alexander J., 2006. Acrylamide and other hazardous compounds in heat-treated foods. Cambridge, England, Woodhead Publishing Limited.
- Sousa T., Paterson R., Moore V., Carlsson A., Abrahamsson B., Basit A.W., 2008. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. *Int J Pharm* 363(1-2), 1-25.
- Torres-Escribano S., Denis S., Blanquet-Diot S., Calatayud M., Barrios L., Velez D., Alric M., Montoro R., 2011. Comparison of a static and a dynamic in vitro model to estimate the bioaccessibility of As, Cd, Pb and Hg from food reference materials *Fucus* sp. (IAEA-140/TM) and Lobster hepatopancreas (TORT-2). *The Science of the total environment* 409, 604-611.
- Van de Wiele T., Vanhaecke L., Boeckaert C., Peru K., Headley J., Verstraete W., Siciliano S., 2005. Human colon microbiota transform polycyclic aromatic hydrocarbons to estrogenic metabolites. *Environ Health Perspect* 113 (1), 6-10.
- van Herwaarden A.E., van Waterschoot R.A., Schinkel A.H., 2009. How important is intestinal cytochrome P450 3A metabolism? *Trends Pharmacol Sci* 30(5), 223-227.
- Versantvoort C.H., Oomen A.G., Kamp E.V.d., Rompelberg C.J., Sips A.J., 2005. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology* 43, 31-40.
- Wallace B.D., Wang H., Lane K.T., Scott J.E., Orans J., Koo J.S., Venkatesh M., Jobin C., Yeh L.A., Mani S., Redinbo M.R., 2010. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science* 330 (6005), 831-835.
- Wang H.S., Xu W.F., Chen Z.J., Cheng Z., Ge L.C., Man Y.B., Giesy J.P., Du J., Wong C.K.C., Wong M.H., 2013. In vitro estimation of exposure of Hong Kong residents to mercury and methylmercury via consumption of market fishes. *Journal of hazardous materials* 248, 387-393.
- Xing G.H., Yang Y., Chan J.K.Y., Tao S., Wong M.H., 2008. Bioaccessibility of polychlorinated biphenyls in different foods using an in vitro digestion method. *Environmental Pollution* 156, 1218-1226.
- Yu Y.-X., Chen L., Yang D., Pang Y.-P., Zhang S.-H., Zhang X.-Y., Yu Z.-K., Wu M.-H., Fu, J.-M., 2012a. Polycyclic aromatic hydrocarbons in animal-based foods from Shanghai: bioaccessibility and dietary exposure. *Food Additives and Contaminants-Part A*, 29, 1465-1474.
- Yu Y., Li C., Zhang X., Pang Y., Zhang S., Fu J., 2012b. Route-specific daily uptake of organochlorine pesticides in food, dust, and air by Shanghai residents, China. *Environment International* 50, 31-37.

Yu Y. X., Han S., Zhang D., Wiele T.V.d., Lu M., Wang D.Q., Yu Z.Q., Wu M.H., Sheng G.Y., Fu J.A., 2009. Factors affecting the bioaccessibility of polybrominated diphenylethers in an in vitro digestion model. *J Agric Food Chem* 57, 133-139.

Yu Y.X., Huang N.B., Zhang X.Y., Li J.L., Yu Z.Q., Han S.Y., Lu M., Wiele,T.V.d., Wu M.H., Sheng G.Y., Fu J.M., 2011. Polybrominated diphenyl ethers in food and associated human daily intake assessment considering bioaccessibility measured by simulated gastrointestinal digestion. *Chemosphere* 83, 152-160.

Yu Y.X., Li J.L., Zhang X.Y., Yu Z.Q., Wiele T.V.d., Han S.Y., Wu M.H., Sheng G.Y., Fu J.M., 2010. Assessment of the bioaccessibility of polybrominated diphenyl ethers in foods and the correlations of the bioaccessibility with nutrient contents. *J Agric Food Chem* 58, 301-308.

Zhu B., Wang X., Li L., 2010. Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell* 1 (8), 718-725.