# 基于体外消化/小肠器官芯片模型分析地龙中铅和砷的生物可利用量及风险评估

左甜甜[1,2], 廖 畅[1,2,3], 刘 静[1,2], 金红宇[1,2], 程显隆[1,2], 魏 锋[1,2], 许风国[3*], 林永强[1,2*]

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 药品监管科学全国重点实验室, 北京 102629; 3. 中国药科大学药物质量与安全预警教育部重点实验室, 江苏 南京 210009)

**摘要**: 为了考察动物药地龙中铅 (Pb) 和砷 (As) 的生物可利用量, 并对Pb和As的风险进行评估, 本研究采用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法测定了地龙中Pb和As的残留量; 首次创新性地建立了适用于中药基质的体外消化/小肠器官芯片模型, 模拟地龙中Pb和As的胃肠消化与吸收过程, 测定其生物可利用量, 并以危害指数 (HI) 法分别评估了重金属总量与生物可利用量对于人体的健康风险。结果表明, 9批地龙中Pb和As的残留总量范围分别为0.16～12.10和0.15～1.20 mg·kg$^{-1}$; 经小肠器官芯片转运后, 其生物可利用浓度分别为0.02～0.92和0.01～0.09 mg·kg$^{-1}$。基于总量的风险评估显示, 多批样品Pb和As的危害指数 (HI) 大于1, 存在不可接受风险; 而基于生物可利用量的HI均小于1, 风险可接受。本研究首次建立的体外消化/小肠器官芯片模型能更加准确地反映中药中重金属经口摄入后的实际暴露风险, 为中药安全性评价及标准制定提供了方法学基础。

**关键词**: 地龙; Pb; As; 生物可利用量; 体外消化/小肠器官芯片模型; 风险评估

**中图分类号**: R917 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)05-1787-06

# Analysis of bioavailable contents and risk assessment of lead and arsenic in earthworm based on an *in vitro* digestion/intestinal organ-on-a-chip model

ZUO Tian-tian[1,2], LIAO Chang[1,2,3], LIU Jing[1,2], JIN Hong-yu[1,2], CHENG Xian-long[1,2], WEI Feng[1,2], XU Feng-guo[3*], LIN Yong-qiang[1,2*]

(*1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. State Key Laboratory of Drug Regulatory Science, Beijing 102629, China; 3. Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance (China Pharmaceutical University), Ministry of Education, Nanjing 210009, China*)

**Abstract**: To investigate the oral bioaccessible contents of lead (Pb) and arsenic (As) in the animal-derived traditional Chinese medicine earthworm and to assess the associated health risks, the contents of Pb and As in earthworm were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). An *in vitro* digestion/intestinal organ-on-a-chip model suitable for the matrix of traditional Chinese medicine was established for the first time to simulate the gastrointestinal digestion and absorption processes of Pb and As from earthworm, and their bioaccessible contents was determined. The health risks were assessed using the hazard index (HI) method based on both the total contents and the bioavailable contents of the heavy metals. The results indicated that the total

收稿日期: 2025-11-23; 修回日期: 2026-02-05.
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82504738).
*通讯作者 E-mail: linyongqiang@nifdc.org.cn; fengguoxu@cpu.edu.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1393

contents of Pb and As in 9 batches of earthworm ranged from 0.16−12.10 and 0.15−1.20 mg·kg$^{-1}$, respectively. After transported by the intestinal organ-on-a-chip, the bioavailable concentrations ranged from 0.02−0.92 mg·kg$^{-1}$ for Pb and 0.01−0.09 mg·kg$^{-1}$ for As. The risk assessment based on total contents revealed that the HI for Pb and As in multiple batches exceeded 1, indicating an unacceptable risk. In contrast, the HI values based on bioavailable concentrations were all below 1, suggesting an acceptable risk. The *in vitro* digestion/intestinal organ-on-a-chip model established in this study for the first time can more accurately reflect the actual exposure risk of heavy metals in traditional Chinese medicine following oral intake, providing a methodological foundation for the safety evaluation and standard setting of traditional Chinese medicines.

**Key words**: earthworm; Pb; As; bioavailable content; *in vitro* digestion/intestinal organ-on-a-chip model; risk assessment

地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥体, 性咸寒, 归肝、脾、膀胱经, 具有清热息风、通络止痛、平喘、利尿等功效[1], 是常用的动物类中药。现代药理研究表明, 地龙具有抗凝血[2]、溶栓[3]、抗炎[4]、抗氧化[5]、促进伤口愈合[6]、神经保护[7]及抗菌[8]等多种药理活性。然而, 地龙生活于土壤中, 易通过体表接触和吞食等途径富集土壤中的重金属, 如铅 (Pb) 和砷 (As)[9,10]。铅和砷化学性质稳定、难以降解, 并具有明显的生物蓄积性。长期或过量摄入Pb和As会对人体多个系统造成损害, 包括神经毒性、消化功能紊乱、造血系统抑制以及心血管损伤等, 并且铅和砷分别被国际认定为第2A类致癌物和第1类致癌物[11]。因此, 对地龙中Pb和As的残留量及其对人体健康风险的研究具有重要的现实意义。

在风险评估中, 传统的人类健康风险评估模型通常基于重金属的总含量进行评估。然而越来越多的研究指出, 这种方法可能会高估实际风险[12]。其原因在于, 经口摄入后仅有部分重金属可以在人体胃肠中溶出, 并最终成为可被人体吸收利用的部分 (即生物可利用量)。因此, 通过体外胃肠模拟测定重金属的生物可利用量, 能够更真实地反映其在人体内的潜在暴露水平。

类器官 (organoids) 是利用成体干细胞或多能干细胞进行体外三维培养而形成的具有一定空间结构的组织类似物, 与对应的器官具有高度相似的组织特性和生理功能[13]。微流控器官芯片技术是生物医药领域的一项新兴技术, 基于微流控和3D培养技术, 通过在体外模拟人体组织器官的复杂生理结构和关键功能特征, 可极大提高药物治疗效果和潜在不良反应的临床预测性[14,15]。近年来, 器官芯片技术作为生物医学领域的革命性工具, 在疾病建模、药物筛选及安全性评价中展现出巨大潜力[16-18]。2023年美国FDA将类器官/器官芯片纳入《关键路径计划》, 这表明类器官/器官芯研究已被视为一种重要的非临床研究手段。

基于此, 本研究首次采用微流控和3D培养技术, 以前期样品筛查中发现的重金属及有害元素残留量较高的动物药地龙为研究对象, 建立小肠器官芯片模型, 进一步与电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法联用, 首次基于器官芯片测定地龙中铅和砷的生物可利用量。并基于生物可利用量结果对地龙中Pb和As的风险进行评价, 以期为科学、客观地评价中药中重金属的健康风险以及制定科学合理的限量标准提供方法学基础。

## 材料与方法

**仪器与试剂** ICP-MS (日本岛津公司, 型号: ICPMS-2030); Mars5微波消解仪 (美国CEM公司); 细胞培养箱 (美国MMM公司); CK2型倒置显微镜 (日本Olympus公司); Transwell小室 (美国Corning公司); 多功能酶标仪 (美国Bio Tek公司); 热循环仪 (美国Thermo公司); 高内涵成像系统 (美国MD公司); Pb和As单元素标准溶液购于国家标准物质研究中心; 实时定量PCR仪、内标溶液 (100 μg·mL$^{-1}$ Li、Sc、Ge、Rh、In、Tb、Lu、Bi的混合内标溶液稀释100倍) 和调谐溶液 (1 μg·L$^{-1}$ Li、Y、Ce、Tl、Co的混合标准溶液), 美国Agilent公司; 微电子级硝酸、胃蛋白酶、分析纯胆酸钠和苹果酸钠 (美国Sigma公司); 胰酶、柠檬酸钠、碳酸氢钠、乳酸、氢氧化钠、冰醋酸均为分析纯 (国药集团); 肠类器官扩增培养基、肠类器官分化培养基、类器官消化液、基质胶、IBAC M1芯片、精密摇床 (北京大橡科技有限公司)、荧光黄 (美国Thermo Fisher公司); Millicell ERS跨膜电阻仪 (美国WPI公司)。

**材料** 人小肠上皮细胞从Lonza公司购买 (瑞士, 货号Lonza CC-2931); 地龙购买于药材市场和零售药店, 由中国食品药品检定研究院石佳助理研究员鉴定, 样品信息如表1所示。

**质谱条件** 等离子气流量: 15.0 L·min$^{-1}$; 雾化室温度: 2 ℃; 蠕动泵: 0.20 r·s$^{-1}$; 辅助气流量: 0.8 L·min$^{-1}$; 载气流量: 0.8 L·min$^{-1}$; 射频功率: 1 550 W; He气流量:

**Table 1** Sample information in the present study

| No. | Batch No. | Location | Source |
|---|---|---|---|
| 1 | SH-1 | Shanghai | Pharmacy |
| 2 | SH-2 | Shanghai | Pharmacy |
| 3 | FJ-1 | Fujian | Pharmacy |
| 4 | FJ-2 | Fujian | Production site |
| 5 | FJ-3 | Fujian | Pharmacy |
| 6 | GD-1 | Guangdong | Production site |
| 7 | GD-2 | Guangdong | Pharmacy |
| 8 | GX-1 | Guangxi | Production site |
| 9 | GX-2 | Guangxi | Production site |

5 mL·min$^{-1}$; 采样深度: 10 mm; 重复次数: 3 次; 扫描次数: 100 次。

**供试品溶液和空白对照溶液的制备** 取药材粉碎, 精密称取药材粉末 0.5 g, 过三号筛, 置微波消解罐中, 加硝酸 8.0 mL, 按中国药典 (2025 年版) 四部通则“2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法”消解样品, 制备供试品溶液, 同法同时制备试剂空白溶液。

**检测方法的确认** 本研究 Pb 和 As 的测定所采用的方法为中国药典 (2025 年版) 四部通则通用方法, 并通过对该方法的线性、灵敏度及适用性进行确认。

**标准曲线的制备** 精密量取适量标准溶液, 用 5% 硝酸溶液稀释, 配制成含 Pb 质量浓度为 0、5、50、100、250、500 ng·mL$^{-1}$ 并含 As 质量浓度为 0、2、4、8、20、40 ng·mL$^{-1}$ 的混合标准溶液。以计数比率 (CPS) 为纵坐标, 质量浓度 (mg·kg$^{-1}$) 为横坐标, 绘制标准曲线。所有分析元素的标准曲线线性关系良好, 相关系数均在 0.999 0 以上。

**检测限和定量限** 检测限 (LOD) 以 11 个试剂空白 (5% 硝酸溶液) 的 3 倍标准差 (SD) 计算, 定量限 (LOQ) 以 10 倍 SD 计算。Pb 的 LOD 和 LOQ 分别为 0.002 和 0.007 μg·kg$^{-1}$; As 的 LOD 和 LOQ 分别为 0.005 和 0.015 μg·kg$^{-1}$。

**方法适用性确认** 由于所采用方法为药典通则方法, 因此仅以随行质量控制 (包括精密度试验、同位素内标试验及随行回收试验) 来确认方法的适用性, 结果均符合残留检测的要求。

**体外消化** 人工唾液和提取胃液的制备以及地龙中 Pb 和 As 溶出率的考察: 样品粉碎, 过 50 目筛, 分别精密称取 10 批地龙, 每批 2 份, 每份 0.5 g, 加入人工唾液 9.0 mL (pH 6.5 ± 0.2), 在 37 ℃下振荡提取 5 min。之后加入 30 mL 模拟胃液 (由 1.25 g 胃蛋白酶、0.5 g 柠檬酸钠、0.5 g 苹果酸钠、420 μL 乳酸和 500 μL 乙酸配制而成, 溶解后定容至 1 L, 并用 HCl 调节 pH 至 2.0)。在 37 ℃的恒温水浴中振荡 1 h (100 r·min$^{-1}$), 离心 5 min (4 000 r·min$^{-1}$)。电热板低温浓缩至约 3 mL, 冷却后加入硝酸 5 mL, 置微波消解仪中消解。待消解液冷却后用超纯水定容至 25 mL 量瓶中, 待测。同法同时制备试剂空白溶液。

提取肠液的制备以及地龙中 Pb 和 As 溶出率的考察: 胃液提取结束后, 向残渣中加入 25 mL 模拟肠液 (由 0.5 g 胰酶和 1.75 g 胆酸钠配制而成, 溶解后定容至 1 L, 再用 NaOH 将 pH 值调至 7.0)。在 37 ℃的恒温水浴中振荡 4 h (100 r·min$^{-1}$), 离心 5 min (4 000 r·min$^{-1}$), 将上清液用电热板低温浓缩至 3 mL 左右, 冷却后加入硝酸 5 mL, 置微波消解仪中进行消解。待消解液冷却后用超纯水定容至 25 mL 量瓶中, 待测。同法同时制备试剂空白溶液。

**基于小肠器官芯片 Pb 和 As 生物可利用量的考察**

人小肠类器官复苏与培养 将冻存类器官从液氮中取出, 快速转移至 37 ℃水浴融化后, 转移类器官–冻存液混合物转移至装有包被液的离心管, 离心获得细胞沉淀, 使用基质胶重悬类器官沉淀后, 向 24 孔板培养板中每孔分别滴加类器官–基质胶混悬液, 并放置于培养箱中进行固胶。补充类器官扩增培养基, 置于培养箱开始类器官培养。培养前 2 天, 培养基补入抗凋亡因子, 每二、三天进行完全换液维护, 根据类器官培养情况 4～10 天传代。

使用类器官清洗液收集类器官–基质胶混合物至离心管, 离心获得沉淀后加入类器官消化液并结合机械吹打解离类器官, 加入类器官清洗液混合清洗后, 离心收集细胞沉淀。使用基质胶重悬细胞沉淀后, 接种于 24 孔细胞培养板, 培养箱中固胶后加入类器官扩增培养基继续类器官培养。培养前 2 天, 培养基应该补入抗凋亡因子, 每二、三天完全换液一次, 并根据类器官培养情况 5～10 天传代。

构建人小肠屏障模型 细胞接种前, 向芯片中加入经杜氏磷酸盐缓冲液 (DPBS) 稀释的修饰液, 培养箱中孵育 2 h, 对芯片内壁表面进行蛋白修饰, 而后使用缓冲液进行润洗备用。

收集 24 孔板中类器官–基质胶混合物至离心管, 离心获得沉淀后, 加入类器官消化液并结合机械吹打解离类器官。而后加入类器官清洗液混合清洗后, 离心收集细胞沉淀。使用类器官扩增培养基重悬细胞沉淀后, 将细胞悬液接种至芯片的下层流道中, 倒置放置于培养箱中孵育, 促使细胞贴壁于多孔膜表面。待细胞贴壁铺展良好后, 补充类器官扩增培养基开始肠屏障培养。培养前 2 天, 培养基中补充抗凋亡因子。培养过程中, 维持扩增培养基换液, 并利用精密摇床对肠屏障进行动态培养, 促进其生长与汇合。

待肠屏障完全汇合后, 对肠屏障进行完全换液, 更

换为类器官分化培养基, 促进各类型肠道细胞的分化。分化过程维持分化培养基换液与动态培养, 促进屏障功能的成熟。在分化2～4天后进行显微形态观察, 并进行跨膜电阻值 (transepithelial electrical resistance, TEER) 测定、荧光黄表观渗透率 ($P_{app}$) 检测、荧光定量试验 (qPCR)、免疫荧光试验。

**Pb和As生物可给量与生物可利用量的测定** 为评估地龙中重金属经口摄入后的健康风险, 本研究分别测定其生物可给量与生物可利用量。

生物可给量的测定: 生物可给量指重金属从地龙基质中溶出至模拟胃肠液中的量。分别取“体外消化”项下制备完成的人工唾液/胃液提取液与模拟肠液提取液, 采用ICP-MS法测定其Pb和As的浓度。

生物可利用量的测定: 生物可利用量指重金属在模拟肠道环境中被吸收并转运至体循环模拟环境的量。测定所用模型为上述构建成功的小肠屏障模型。供试药液为“体外消化”项下制备的未经消解的模拟肠液提取液。移除肠屏障原有培养基, 向肠屏障表侧加入模拟肠液, 肠屏障基底侧加入新鲜肠分化培养基。于培养箱中, 进行3 h动态药物孵育, 回收肠屏障两侧的上清液, 过膜后引入ICP-MS分析。

**风险评估**

暴露量的计算 每人每千克体重地龙中Pb和As日暴露量的计算公式如下: $Exp = \frac{EF \times Ed \times IR \times C}{W \times AT}$ (1)

其中, Exp为每人每千克体重重金属的日暴露量, 单位为μg·kg$^{-1}$; EF为中药的服用频率 (90天/年), Ed为服用中药的年限 (20年); IR为地龙的日摄入量, 根据调查问卷中药材IR的均值为每天200 g; C为地龙的中重金属的残留量或生物可利用量, 单位为mg·kg$^{-1}$; W为人体体重, 以63 kg计; AT为平均寿命天数 = 365 × 70 = 25 550。

风险特征描述 重金属风险的高低由危害指数 (HI) 来描述, 其计算公式: HI = Exp × SF × 0.001/HBGV。其中, SF为安全因子10; HBGV为重金属的健康指导值 (μg·kg$^{-1}$)。根据美国环保署发布的指南, Pb和As的HBGV分别为0.003 5和0.000 3 mg·kg$^{-1}$。若HI < 1, 则认为风险可以被接受; 反之, 则认为风险不可接受。

**统计学分析** 实验数据以$\bar{x} \pm s$表示, 采用双样本*T*检验 (*T*-test) 进行分析。$P < 0.05$被认为具有统计学显著性差异。

## 结果

### 1 小肠屏障模型的评价

显微形态观察结果表明, 分化前肠屏障汇合形成细胞单层, 分化后肠屏障呈现具有绒毛样的三维复层结构。肠屏障分化前后, TEER与荧光黄$P_{app}$结果如图1所示。与分化前相比, 分化后肠屏障TEER值显著性升高, $P_{app}$值显著性降低。qPCR结果如图2所示。与分化前相比, 分化后肠吸收细胞相关代谢酶, 肠碱性磷酸酶 (ALPI)、蔗糖酶−异麦芽糖酶 (SI)、细胞色素P450 3A4酶 (CYP3A4) 表达量显著性升高。免疫荧光结果表明, 肠道分化标志物嗜铬粒蛋白A (CHGA)、黏蛋白 (MUC2)、绒毛蛋白 (villin) 表达量显著升高。以上结果表明, 肠道模型的屏障功能和转运功能良好, 模型构建成功。

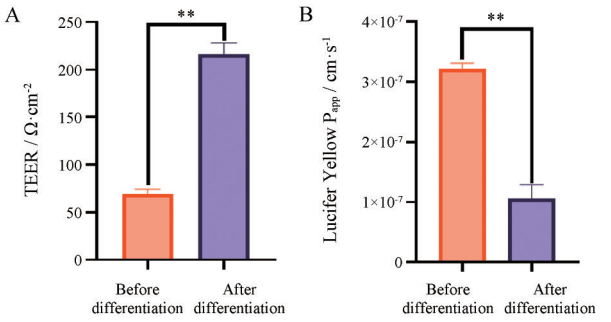



**Figure 1** Changes in TEER and $P_{app}$ of Lucifer yellow across the intestinal barrier before and after differentiation. A: Changes in TEER; B: Changes in $P_{app}$ of Lucifer yellow. TEER: Transepithelial electrical resistance; $P_{app}$: Apparent permeability

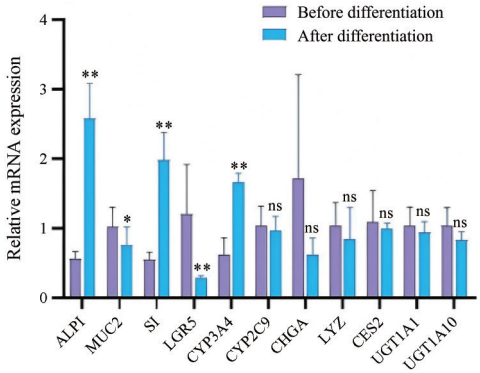



**Figure 2** Changes in the expression of metabolism-related enzymes in intestinal absorptive cells before and after intestinal barrier differentiation. ALPI: Alkaline phosphatase, intestinal; MUC2: Mucin 2, oligomeric mucus/gel-forming; SI: Sucrase-isomaltase; LGR5: Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5; CYP3A4: Cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4; CYP2C9: Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9; CHGA: Chromogranin A; LYZ: Lysozyme; CES2: Carboxylesterase 2; UGT1A1: UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1; UGT1A10: UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A10

## 2 Pb和As的残留总量和生物可利用量

提取前以及采用PBET法模拟胃肠消化提取后地龙中Pb和As的残留总量和胃相生物可利用浓度结果如表2所示。地龙中Pb和As的残留总量分别为0.16～12.10和0.15～1.20 mg·kg$^{-1}$。模拟胃相消化后, 9批地龙在胃相中Pb和As的生物可利用浓度分别为0.08～3.21和0.05～0.25 mg·kg$^{-1}$。经小肠器官芯片转运后, 地龙中Pb的生物可利用浓度为0.02～0.92 mg·kg$^{-1}$; As的生物可利用浓度为0.01～0.09 mg·kg$^{-1}$。

## 3 风险评估

地龙中Pb和As的Exp和HI如表3所示。基于重金属总量的风险评估显示, 9批样品中, Pb的HI值为0.10～7.73, 其中3批样品大于1; As的HI值为1.12～8.95, 所有批次均大于1。而基于小肠器官芯片测得的生物可利用浓度进行风险评估时, 所有样品中Pb和As的HI值均降至1以下, 分别为0.01～0.59和0.07～0.67。

## 讨论

器官芯片技术通过在体外模拟人体组织的复杂生理结构和功能, 为药物及毒物的吸收、代谢和毒性研究提供了前所未有的体外模型[19]。本研究建立了适用于中药小肠器官芯片模型, 并首次将这一前沿技术应用于中药重金属风险评估领域。肠屏障在分化后呈现出具有绒毛样结构的三维复层形态, 经TEER显著升高、荧光黄$P_{app}$显著降低及关键功能蛋白/代谢酶 (ALPI、SI、CYP3A4) 表达上调等多维度指标证实模型已构建成功, 为后续准确测定地龙中铅和砷的生物可利用浓度提供了可靠的方法学基础。

目前, 在环境与食品领域, 基于生物可利用量的风险评估已被证明能更准确地反映污染物的实际健康风险[20,21], 然而在中药安全性评价中, 相关研究仍相对缺乏。此外, 类器官技术通过干细胞自组织形成三维微结构, 高度模拟人体器官的组织架构与生理功能, 克服了传统二维细胞培养以及动物模型在功能模拟以及跨物种差异等方面的局限, 为疾病建模和药物测试提供了人源化平台。基于此, 本研究引入生物可利用量概念, 并首次建立体外消化/小肠器官芯片模型模拟重金属在人体内的溶出与吸收过程, 进一步建立了更精准的中药中重金属风险评估新模型。研究发现, 基于地龙中Pb和As总量计算的HI在多批样品中大于1, 提示存在不可接受的健康风险; 而基于生物可利用浓度计算的HI值则降低至可接受水平。这一结果证实, 传统基于总量的评估方法会显著高估实际风险。本研究能够更真实地反映重金属经口摄入后的实际暴露风险, 为建立符合中药特点的精准安全标准提供了新思路。

本研究创新性地构建了体外消化/小肠器官芯片模型, 在此基础上对地龙中Pb和As的生物可利用量进行测定并风险评估。研究结果表明, 基于生物可利用量的评估能够更准确地反映中药中重金属的潜在风险。需要指出的是, 本研究作为一项方法学探索, 未来

**Table 2** The total contents (mg·kg$^{-1}$) of Pb and As in earthworm and bioaccessible contents in the gastric phase (A), and bioavailable contents after transportation by organoid (B). $n = 2, \bar{x} \pm s$

| Batch No. | Total content | | A | | B | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Pb | As | Pb | As | Pb | As |
| 1 | 0.16 ± 0.02 | 0.39 ± 0.02 | 0.09 ± 0.12 | 0.11 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.02 ± 0.006 |
| 2 | 12.10 ± 0.82 | 0.23 ± 0.02 | 3.21 ± 0.38 | 0.09 ± 0.01 | 0.92 ± 0.11 | 0.01 ± 0.004 |
| 3 | 0.26 ± 0.04 | 0.65 ± 0.02 | 0.08 ± 0.02 | 0.22 ± 0.08 | 0.08 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 |
| 4 | 0.31 ± 0.06 | 0.31 ± 0.01 | 0.21 ± 0.01 | 0.12 ± 0.02 | 0.06 ± 0.02 | 0.02 ± 0.003 |
| 5 | 0.45 ± 0.02 | 0.15 ± 0.02 | 0.27 ± 0.01 | 0.06 ± 0.02 | 0.05 ± 0.02 | 0.01 ± 0.001 |
| 6 | 0.22 ± 0.01 | 0.16 ± 0.03 | 0.09 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.02 ± 0.01 | 0.01 ± 0.002 |
| 7 | 4.05 ± 0.13 | 0.64 ± 0.08 | 1.13 ± 0.01 | 0.12 ± 0.03 | 0.26 ± 0.06 | 0.04 ± 0.004 |
| 8 | 7.77 ± 0.23 | 1.20 ± 0.04 | 2.25 ± 0.01 | 0.09 ± 0.03 | 0.57 ± 0.08 | 0.09 ± 0.008 |
| 9 | 1.05 ± 0.09 | 0.67 ± 0.01 | 0.75 ± 0.01 | 0.25 ± 0.04 | 0.08 ± 0.01 | 0.03 ± 0.005 |

**Table 3** Risk assessment results of Pb and As in earthworms. HI: Hazard index; Exp: Daily exposure, μg·kg$^{-1}$

| Batch No. | Based on total contents | | | | Based on bioavailable contents | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Exp of Pb | HI of Pb | Exp of As | HI of As | Exp of Pb | HI of Pb | Exp of As | HI of As |
| 1 | 0.04 | 0.10 | 0.09 | 2.91 | 0.01 | 0.02 | 0.004 | 0.15 |
| 2 | 2.71 | 7.73 | 0.05 | 1.71 | 0.21 | 0.59 | 0.002 | 0.07 |
| 3 | 0.06 | 0.17 | 0.15 | 4.85 | 0.02 | 0.05 | 0.009 | 0.30 |
| 4 | 0.07 | 0.20 | 0.07 | 2.31 | 0.01 | 0.04 | 0.004 | 0.15 |
| 5 | 0.10 | 0.29 | 0.03 | 1.12 | 0.01 | 0.03 | 0.002 | 0.07 |
| 6 | 0.05 | 0.14 | 0.04 | 1.19 | 0.00 | 0.01 | 0.002 | 0.07 |
| 7 | 0.91 | 2.59 | 0.14 | 4.77 | 0.06 | 0.17 | 0.009 | 0.30 |
| 8 | 1.74 | 4.97 | 0.27 | 8.95 | 0.13 | 0.36 | 0.020 | 0.67 |
| 9 | 0.23 | 0.67 | 0.15 | 4.99 | 0.02 | 0.05 | 0.007 | 0.22 |

的研究将在此基础上进一步扩大样本量, 并纳入更多批次、不同产地的地龙样品进行验证, 以确认本模型评估结果的普遍适用性和稳定性。本研究为中药重金属安全评价提供了新的思路和方法, 为建立更科学的中药质量标准奠定了基础, 对保障中药安全用药及促进产业高质量发展具有重要意义。

**作者贡献**: 左甜甜负责实验设计、完成分析方法建立、实验结果分析和撰写文章; 廖畅负责文献查阅、实验结果分析、文章撰写和修改; 刘静、金红宇参与实验、进行结果分析; 程显隆、魏锋、许风国、林永强负责文章质量把关和审校。

**利益冲突**: 本文所有作者声明不存在任何利益冲突。

## References

[1] Wang ZA, Mei H, Huang S, et al. Progress in pharmacological research on Dilong and its compound prescriptions for neurological diseases [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2025. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20250910.001.

[2] Lu Z, Wang N, Yu Q, et al. Contribution of multimodal ultrasound in evaluating the efficacy of lumbricus protein fast dissolving tablets against atherosclerotic plaques in ApoE(-/- ) mice [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1551833.

[3] Yang W, Wang W, Ma Y, et al. Bioevaluation of *Pheretima vulgaris* antithrombotic extract, PvQ, and isolation, identification of six novel PvQ-derived fibrinolytic proteases [J]. Molecules, 2021, 26: 4946.

[4] Abdelmawgood I, Atia T, Badr A, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Allolobophora caliginosa* extract against ovalbumin-induced airway inflammation in asthmatic female BALB/c mice [J]. Beni Suef Univ J Basic Appl Sci, 2025, 14: 115.

[5] He P, Zhang Y, Zhang Y, et al. Isolation, identification of antioxidant peptides from earthworm proteins and analysis of the structure-activity relationship of the peptides based on quantum chemical calculations [J]. Food Chem, 2024, 431: 137137.

[6] Wang D, Ruan Z, Wang R, et al. Decoding the mechanism of earthworm extract against wounds: An integrated metabolomics and network pharmacology study [J]. Mol Divers, 2024, 28: 631-647.

[7] Shi G, Hu Y, Bai X, et al. Isolation and characterization of earthworm peptides with neuroprotective effects in Parkinson's disease models [J]. Molecules, 2025, 30: 1952.

[8] Venkatachalam S, Selvan Christyraj JRS, Don Bosco RB, et al. Antimicrobial peptides from earthworms: Emerging candidates for novel therapeutic applications [J]. Toxicon, 2025, 264: 108458.

[9] Wang HT, Zhu D, Li G, et al. Effects of arsenic on gut microbiota and its biotransformation genes in earthworm *Metaphire sieboldi* [J]. Environ Sci Technol, 2019, 53: 3841-3849.

[10] Qi M, Lei W, Sun J, et al. Lead toxicity to earthworms (*Eisenia fetida*) and their accumulation mechanisms in soil [J]. Environ Geochem Health, 2025, 47: 445.

[11] Wu MW, Dong WJ, Guan DX, et al. Total contents, fractionation and bioaccessibility of nine heavy metals in household dust from 14 cities in China [J]. Environ Res, 2024, 243: 117842.

[12] Chen XJ, Ma JJ, Yu RL, et al. Bioaccessibility of microplastic-associated heavy metals using an *in vitro* digestion model and its implications for human health risk assessment [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2022, 29: 76983-76991.

[13] Zhang Z, Zhu M, Luo H, et al. Organoid scaffold materials: Research and application [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2025, 13: 1637456.

[14] Chen H, Luo Z, Lin X, et al. Sensors-integrated organ-on-a-chip for biomedical applications [J]. Nano Res, 2023, 26: 1-28.

[15] Feitor JF, Brazaca LC, Lima AM, et al. Organ-on-a-chip for drug screening: A bright future for sustainability? A critical review [J]. ACS Biomater Sci Eng, 2023, 9: 2220-2234.

[16] An L, Liu Y, Liu Y. Organ-on-a-chip applications in microfluidic platforms [J]. Micromachines (Basel), 2025, 16: 201.

[17] Ma C, Peng Y, Li H, et al. Organ-on-a-chip: A new paradigm for drug development [J]. Trends Pharmacol Sci, 2021, 42: 119-133.

[18] Li B, Tang Y, Huang Z, et al. Synergistic innovation in organ-on-a-chip and organoid technologies: Reshaping the future of disease modeling, drug development and precision medicine [J]. Protein Cell, 2025, 13: pwaf058.

[19] Sunildutt N, Parihar P, Chethikkattuveli Salih AR, et al. Revolutionizing drug development: Harnessing the potential of organ-on-chip technology for disease modeling and drug discovery [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1139229.

[20] Zhou Q, Chen H, Li L, et al. The bioaccessibility and bioavailability of pentachlorophenol in five animal-derived foods measured by simulated gastrointestinal digestion [J]. Foods, 2024, 13: 1254.

[21] Li Y, Cen X, Yu W, et al. Effect of dimethyl phthalate and salinity on barium bioavailability and bioaccessibility in the soil-plant-human systems near a shale gas development area [J]. J Hazard Mater, 2025, 497: 139674.