

卢娜, 杨瑞利, 王志广, 等. 牡蛎中多组分多环芳烃的光动力降解研究 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 40–48. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020110024

LU Na, YANG Ruili, WANG Zhiguang, et al. Degradation of Multi-Components Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oyster by Photodynamic Technology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(14): 40–48. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020110024

· 研究与探讨 ·

牡蛎中多组分多环芳烃的光动力降解研究

卢 娜, 杨瑞利, 王志广, 张 慧, 周赛楠, 薛长湖, 唐庆娟*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 目的: 寻求一种高效、经济、安全可靠的新型食品中有机污染物降解方法。方法: 通过比较三种光敏剂(姜黄素、核黄素、金丝桃素)对牡蛎肉外观品质的影响以及光动力对水溶液中多环芳烃的降解效果, 对其进行工艺优化, 在最优条件下探究光动力对牡蛎中多环芳烃的降解作用。结果: 当光敏剂浓度为 10 μmol/L 时, 富集量高达 89.68%~92.22%, 且牡蛎肉为正常的奶白色, 并未发生变化。而当浓度为 20 μmol/L 时, 富集量仅为 71.90%~78.62%, 牡蛎肉颜色发生肉眼可见的由白色到黄色的变化。与核黄素和金丝桃素相比, 姜黄素介导的光动力降解效果最佳, 光照 15 min 时降解率高达 91.08%。因此, 确定的最佳条件为: 光敏剂为姜黄素, 浓度 10 μmol/L, 光照时间 15 min。在最优条件下, 相比于空白对照组, 光动力对牡蛎中多环芳烃的降解率达到 21.92%~88.46%。结论: 光动力方法可有效降解牡蛎中的多环芳烃, 该技术对于水产品中残留多环芳烃的降解是一种可行的方法, 应用前景广阔。

关键词: 牡蛎, 多环芳烃, 光动力技术, 姜黄素, 降解

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)14-0040-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020110024

Degradation of Multi-Components Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oyster by Photodynamic Technology

LU Na, YANG Ruili, WANG Zhiguang, ZHANG Hui, ZHOU Sainan, XUE Changhu, TANG Qingjuan*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Objective: Finding an efficient, economic, safe and reliable method for degradation of organic pollutants in food. Methods: By comparing the effects of three photosensitizers (curcumin, riboflavin and hypericin) on the appearance quality of oyster meat and the degradation effect of photodynamic technology (PDT) on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aqueous solution, the process conditions were optimized, and the degradation effect of photodynamic on PAHs in oysters was explored under the optimal conditions. Results: When the concentration of photosensitizer was 10 μmol/L, the accumulation was up to 89.68%~92.22%, and the color of oyster meat was normal milky white without any change. However, when the concentration was 20 μmol/L, the accumulation was only 71.90%~78.62%, and the color of oyster meat changed significantly from white to yellow. Compared with riboflavin and hypericin, the degradation effect of curcumin-mediated photodynamic on PAHs was the best, and the degradation rate was up to 91.08% under 15 min illumination. Therefore, the optimal conditions were determined as follows: The photosensitizer was curcumin, the concentration was 10 μmol/L, and the illumination time was 15 min. Compared with the blank control group, the degradation rate of PAHs in oysters in the PDT group reached 21.92%~88.46% under the optimal conditions. Conclusion: PDT could effectively degrade polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in oysters. This technology would be a feasible method for the degradation of residual PAHs in aquatic products and would have a broad application prospect.

Key words: oyster; polycyclic aromatic hydrocarbons; photodynamic technique; curcumin; degradation

收稿日期: 2020-11-04

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFC1604605)。

作者简介: 卢娜 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: ln15066258673@163.com。

* 通信作者: 唐庆娟 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 贝类质量控制新技术, E-mail: tangqingjuan@ouc.edu.cn。

我国是水产品出口大国, 牡蛎产量居世界首位。牡蛎肉质鲜美, 具有极高的食用和药用价值^[1]。随着生活水平的不断提高, 人们越来越追求食品的原汁原味, 尤其是生鲜海产品深受消费者的喜爱, 牡蛎便是最受欢迎的生食水产品之一。但是, 牡蛎作为一种滤食性生物, 在获取食物的同时, 可大量富集水中的微生物及其他危害性成分, 严重威胁人类健康^[2-3]。随着工业的迅速发展, 环境污染问题也越来越引发人们的重视, 目前水产品中主要的化学污染问题包括农兽药残留、重金属超标和有机物污染等^[4]。其中, 多环芳烃(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)是指分子中含有两个以上苯环的碳氢化合物, 是近海重要的典型持久性有机污染物, 其主要来源于石油、煤炭等化石燃料的不完全燃烧, 工业污水的排放, 以及海上石油泄漏等, 具有致癌致畸致突变等危害性, 是重要的环境和食品污染物^[5-6]。多环芳烃具有极高的疏水亲脂特性, 在鱼贝类等水产品中极易蓄积, 严重威胁环境和人类健康^[7]。有研究表明, 多环芳烃的富集程度表现出物种特异性, 其中双壳贝类的活动范围小, 长期生活于底层海域, 加上其非选择滤食的特点, 因此对多环芳烃的富集速率要远远高于其他海产品。并且, 牡蛎本身的代谢效率低, 导致多环芳烃易在体内长期残留^[8-11], 另外, 人们生食牡蛎的饮食习惯由来已久, 牡蛎中富集的有机污染物给消费者带来健康方面的较大隐患。

传统的有机污染物处理方法主要包括物理、化学与生物方法。研究表明, 与其他处理方法相比, 光催化氧化法对于难降解有机污染物具有良好的分解效果^[12]。光降解作为环境中多环芳烃转化的一种重要途径而受到广泛重视, 而光降解有机污染物的机理主要是通过单重态氧氧化^[12]。但是由于经济和技术方面的原因, 采用传统的有机污染物处理技术已不能满足越来越高的安全和环保要求, 因此仍需开发高效、经济、安全可靠的新型食品中有机污染物降解方法。光动力技术(photodynamic technology, PDT)是指光敏剂在特定光的激活下产生具有强氧化作用的活性氧物质, 进而灭活各种微生物的一种非热力杀菌技术^[13]。光动力技术是医学领域广泛应用的一种方法, 主要用于血液制品的消毒以及癌症和局部感染性疾病的治疗^[14-15]。由于其灭菌原理与活性氧、氧自由基、光照等有关, 因此推测光动力处理后, 可能对水产品中残留的多环芳烃也有一定的降解作用。与传统有机污染物降解方法相比, 光动力技术具有简便高效、价格低廉、无毒副产物、可操作性强等优点, 具有广阔的发展前景。对于光动力技术, 光敏剂和光源的选择及配合使用会很大程度上决定光动力的处理效果, 是光动力方法的核心要素^[16]。有研究表明一些中草药提取物及植物提取物如姜黄素^[17]、金丝桃素^[18]、竹红菌素^[19]、核黄素^[20]等都具有较好的光敏活性。其中, 姜黄素(curcumin)介导的光动力在波长

为 420~480 nm 光照下具有较好的杀菌效果^[21]。金丝桃素(hypericin)在 550 和 590 nm 处有最大光吸收峰, 但在光动力过程中一般选用对组织具有更高穿透能力的 590 nm 黄光进行照射^[22]。核黄素(riboflavin)在蓝光以及紫外光的激发下可有效灭活多种致病菌^[23]。这三种无毒光敏剂都具有安全可靠、来源广泛、成本低等优点, 且在食品领域也有一定的研究应用^[24-28]。

本研究选取三种无毒光敏剂(姜黄素、核黄素和金丝桃素), 探讨光动力对水溶液中多环芳烃的降解效果并对其工艺条件进行优化, 在最优条件下进一步探究光动力对牡蛎中多环芳烃的降解作用, 以期为光动力技术在牡蛎中的加工应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲜活牡蛎 青岛农贸市场, 保证个体大小均匀, 平均质量为 120~150 g, 在低温条件下运回实验室后进行暂养及后续实验; 姜黄素 河北天旭生物科技有限公司; 核黄素、金丝桃素 西安佰斯特生物科技有限公司; 多环芳烃标准溶液(含 16 种多环芳烃, 质量浓度 200 μg/mL) 北京嘉世玉米化工技术研究院; 食用乙醇(纯度 95%) 济宁市高科工业水处理化工有限公司; 海水素 广州益尔生物工程有限公司; 乙腈(色谱纯)、正己烷(色谱纯) 美国 Fisher 公司产品; 姜黄素原液 用食用乙醇溶解, 浓度为 20 mmol/L; 核黄素和金丝桃素原液 分别用超纯水溶解, 浓度均为 20 mmol/L, 现用现配。

JL-420-590 多功能 LED 光源仪 青岛建亮科技有限公司; f-7000 荧光分光光度计 日立公司; Agilent 6890 气相色谱-质谱仪 美国安捷伦公司; MD-200-1 干式氮吹仪 浙江赛德仪器设备有限公司; Anke 台式高速冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 牡蛎富集光敏剂对牡蛎肉外观品质的影响

1.2.1.1 牡蛎分组及处理 将个体大小均匀的鲜活牡蛎用清水洗净外壳, 在人工海水(盐度 3.3%)中暂养 24 h, 使其将泥沙充分吐净。将暂养后的牡蛎分为空白对照组(无光照, 无光敏剂)和光动力处理组(有光照, 有光敏剂)。其中光动力处理组的三种光敏剂(姜黄素、核黄素、金丝桃素)分别用人工海水稀释至 5、10 和 20 μmol/L。每组 10 只牡蛎, 对照组牡蛎置于人工海水中, 光动力组牡蛎分别置于添加不同浓度光敏剂的人工海水中, 富集 3 h, 其中贝水质量比为 1:5。保证水面没过牡蛎, 并使氧气泵喷头远离牡蛎以防对其滤食活动等产生不良影响。将富集了光敏剂的牡蛎在黑暗无菌条件下开壳, 姜黄素、核黄素和金丝桃素的激发波长分别为 420、420 和 590 nm, 分别在对应波长光源下光照 15 min。

1.2.1.2 牡蛎富集光敏剂后水体及牡蛎肉颜色变化

吸取少量暂养水箱中的水体, 观察光敏剂在牡蛎体

内生物富集后水体及牡蛎肉的颜色变化并拍照。取适量水体通过酶标仪在特定波长下检测,根据富集前后暂养水体吸光值(OD)的变化,求得光敏剂在牡蛎中的富集量^[29~30]。计算公式如下。

$$\text{光敏剂富集量}(\%) = \frac{(OD_0 - OD_1)}{OD_0} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

$$\text{平均每只牡蛎富集姜黄素质量(mg)} = \frac{(m_0 - m_1)}{n} \quad \text{式 (2)}$$

式中: OD_0 为牡蛎富集前水体的吸光值(姜黄素的吸收波长为 425 nm, 核黄素的吸收波长为 444 nm, 金丝桃素的吸收波长为 589 nm); OD_1 为牡蛎富集后水体的吸光值; m_0 为牡蛎富集前水体中光敏剂的质量; m_1 为牡蛎富集后水体中光敏剂的质量; n 为牡蛎个数。

1.2.2 光动力对水溶液中多环芳烃的降解效果

1.2.2.1 标准曲线的制作 吸取 0.5 mL 多环芳烃标准溶液,用乙腈定容到 100 mL,即得到浓度为 1 μg/mL 的多环芳烃储备液,并于−18 ℃ 下保存。分别吸取 0.10、0.50、1.0、2.0、5.0、10.0 mL 多环芳烃储备液,用乙腈定容到 100 mL,得到质量浓度为 1、5、10、20、50、100 ng/mL 的梯度稀释液。

将梯度稀释液通过荧光分光光度计测定其荧光强度,激发波长为 286 nm,发射波长为 430 nm。以梯度稀释液的质量浓度为横坐标、以荧光强度为纵坐标,绘制多环芳烃的标准曲线。

1.2.2.2 试样溶液的测定 吸取多环芳烃储备液 50 mL,用超纯水定容至 1000 mL,得到质量浓度为 50 ng/mL 的溶液,吸适量溶液用做光照射前的空白组进行检测。分别取一定量的姜黄素、核黄素和金丝桃素原液,使得光敏剂的浓度为 10 μmol/L。分别在对应波长光源下光照 1、5、10、15、20、30 min,检测光动力对多环芳烃是否有降解影响,并确定最佳光敏剂和光照时间。

将试样待测液用荧光分光光度计进行检测,测得相应的荧光强度,根据标准曲线得到试样待测液中多环芳烃的质量浓度。每个样品进行 3 个平行。

1.2.3 光动力对牡蛎体内多环芳烃的降解效果

1.2.3.1 牡蛎样品的制备及光动力处理 将市场上购买的牡蛎用清水洗净,挑选个体大小均匀的鲜活牡蛎在人工海水(盐度 3.3%)中暂养 1 d。牡蛎暂养后,分为空白对照组和光动力处理组,各组海水中分别添加 10.0 mL 1 μg/mL 的多环芳烃储备液,其中光动力组的姜黄素浓度为 10 μmol/L。将每组 20 只牡蛎置于人工海水中暂养 3 h,其中贝水质量比为 1:5。将光动力处理组牡蛎在黑暗无菌条件下开壳,采用 420 nm LED 蓝光照射 15 min(光能量密度 54 J/cm²),进行后续实验操作。

1.2.3.2 牡蛎样品的测定 参照 GB 5009.265-2016

《食品安全国家标准 食品中多环芳烃的测定》中的气相色谱-质谱法。分别称取空白和光动力处理的牡蛎肉 5.0 g 于玻璃离心管 a 中,加硅藻土 5.0 g,搅匀后加入正己烷 10 mL,充分振荡,40 ℃ 水浴超声 0.5 h 离心,将上清液转移到玻璃离心管 b 中;离心管 a 中的下层残渣再用 10 mL 正己烷重复提取,合并两次提取液,氮吹至近干。吸取 4 mL 乙腈加入离心管 b 中,涡旋振荡 30 s,再加入 100 mg PSA、900 mg 硫酸镁和 100 mg C₁₈ 填料,混合后离心,吸取上清液至玻璃离心管 c 中,离心管 b 的下层残渣用 2 mL 乙腈重复提取,合并两次提取液,氮吹并用乙腈定容至 1 mL,过 0.22 μm 微孔滤膜(有机相型),制得试样待测液。

GC-MS 进样条件:色谱柱: HP-5 MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)。升温程序:初始温度 90 ℃,以 20 ℃/min 升温至 220 ℃,再以 5 ℃/min 升温至 320 ℃,保持 2 min; 氮气流速: 1.0 mL/min; 色谱-质谱接口温度: 280 ℃; 离子源温度: 230 ℃; 电离方式: EI; 电离能量: 70 eV; 扫描范围: 50~450 amu; 测定方式: 选择离子监测方式; 进样方式: 不分流进样, 2.0 min 后开阀; 进样量: 1.0 μL; 溶剂延迟: 3 min。

多环芳烃梯度稀释液的配制同 1.2.2.1,将梯度稀释液在上述进样条件下测得各自的峰面积,以质量浓度为横坐标、以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。在相同条件下测得试样待测液的对应峰面积,对比标准曲线得到各种多环芳烃的质量浓度,每个样品进行 3 个平行。

1.3 数据处理

实验数据以(Mean±SD)表示,采用 SPSS18.0 统计软件的单因素方差分析(ANOVA)其显著性,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。作图采用 GraphPad Prism8.0 软件。

2 结果与分析

2.1 光敏剂对牡蛎肉外观品质的影响

2.1.1 富集姜黄素牡蛎肉颜色的影响 姜黄素富集前后水体及牡蛎肉颜色变化如图 1 所示。可以观察到单独充氧后水体颜色没有发生明显的变化,说明在牡蛎暂养过程中通氧行为基本不会降解姜黄素,不会对实验产生外在影响。而牡蛎富集后 5 和 10 μmol/L 光动力组的姜黄素已经富集完全,水体变澄清,但是 20 μmol/L 水体还有淡淡的黄色,说明当姜黄素浓度为 5 和 10 μmol/L 时,水体中的姜黄素基本未有剩余,而当浓度提高到 20 μmol/L 时,由于在一定的短时间内,牡蛎的滤食活动有限,因此水体中还有剩余姜黄素,牡蛎并未富集完全。

图 1D 和图 1E 为光照前后各组牡蛎肉的颜色变化。可以发现,当姜黄素浓度为 5 和 10 μmol/L 时,牡蛎肉颜色与空白对照组相比并没有明显差别,而 20 μmol/L 组颜色明显发黄,说明姜黄素浓度过高时会对牡蛎的颜色外观产生不良影响,这与之前本课

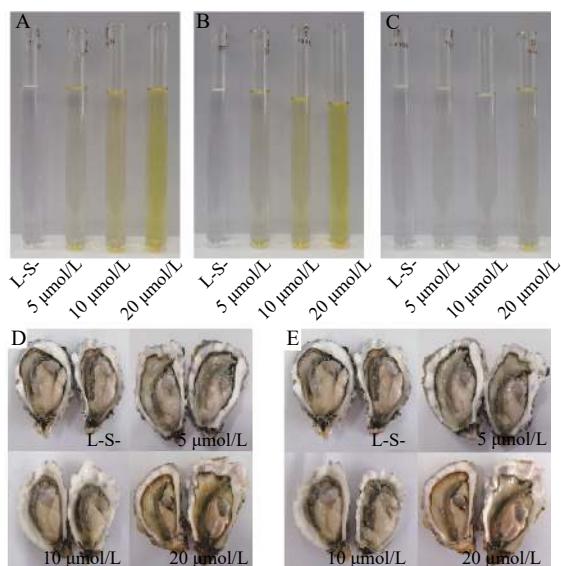


图 1 姜黄素富集前后水体及牡蛎肉颜色变化

Fig.1 Color changes of water and oyster meat before and after bio-accumulation of curcumin

注: L-S-: 空白对照组; A. 牡蛎富集前空白组和光动力组(姜黄素浓度分别为 5、10 和 20 $\mu\text{mol/L}$)水体的颜色; B. 仅通氧 3 h 后水体的颜色; C. 牡蛎富集 3 h 后水体的颜色变化; D. 光照前牡蛎肉颜色变化; E. 光照后牡蛎肉颜色变化; 图 2~图 3 同。

题组研究结果一致^[30]。

根据牡蛎富集前后水体吸光值在 425 nm 处的变化, 求得每只牡蛎中富集不同浓度姜黄素的质量。结果如表 1 所示, 当姜黄素浓度为 5 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 富集量分别高达 98.98% 和 91.96%。而当浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 由于在一定时间内牡蛎的富集行为受限, 富集量仅为 78.62%, 证明姜黄素未富集完全。由于平均每只牡蛎肉的质量为 10 g, 则 10 $\mu\text{mol/L}$ 光动力组中姜黄素的添加量为 0.152 mg/g 牡蛎肉。

2.1.2 富集核黄素牡蛎肉颜色的影响 牡蛎富集不同浓度核黄素后水体及牡蛎肉的颜色变化如图 2 所示。与上述姜黄素实验一致, 可以观察到单独充氧后水体颜色也没有发生显著变化, 说明单独通氧也不会降解核黄素。当核黄素浓度为 5 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 牡蛎富集 3 h 后水体澄清透明, 说明暂养水体中的核黄素已基本被牡蛎富集。而当核黄素浓度提高到 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 富集后水体颜色与空白对照组相比发黄, 说明水体中的核黄素还有剩余。通过牡蛎肉颜色变化可以发现, 低中浓度核黄素(5 和 10 $\mu\text{mol/L}$)的

牡蛎肉颜色与空白对照组相比并没有显著差别, 而高浓度组(20 $\mu\text{mol/L}$)牡蛎肉颜色明显发黄, 说明核黄素浓度高于 20 $\mu\text{mol/L}$ 时会使牡蛎肉发生肉眼可见的变化, 影响牡蛎的外观品质。

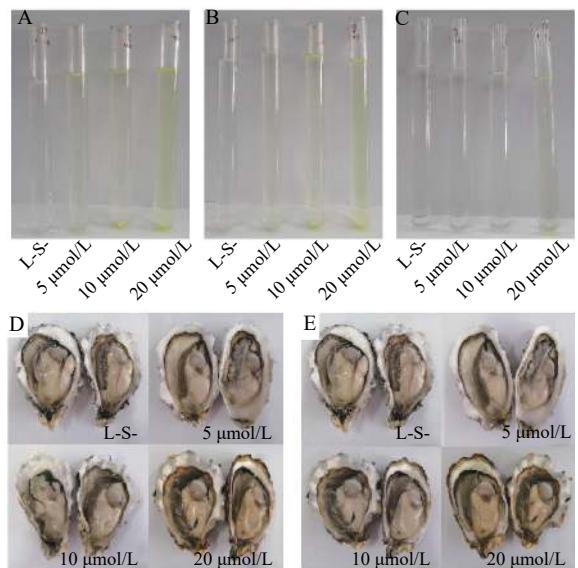


图 2 核黄素富集前后水体及牡蛎肉颜色变化

Fig.2 Color changes of water and oyster meat before and after bio-accumulation of riboflavin

根据牡蛎富集前后水体吸光值在 444 nm 处的变化, 求得每只牡蛎中富集不同浓度核黄素的质量。结果如表 2 所示, 当核黄素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 富集量高达 92.22%, 添加量为 0.155 mg/g 牡蛎肉。浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 富集量仅为 72.62%, 添加量为 0.247 mg/g 牡蛎肉。这可能是由于短时间内牡蛎的富集能力有限, 且牡蛎个体之间的滤水率和摄食率也存在一定的差异性^[31]。

2.1.3 富集金丝桃素牡蛎肉颜色的影响 图 3 为牡蛎富集不同浓度金丝桃素后水体及牡蛎肉的颜色变化。可以观察到添加金丝桃素的水体与空白对照组水体相比没有明显区别, 可能是金丝桃素含量太低, 没有达到肉眼能观察到的浓度, 并且光动力组的牡蛎肉颜色与空白对照组相比并没有明显差别, 说明即便金丝桃素浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 也不会影响牡蛎肉的外观品质。

根据牡蛎富集前后水体吸光值在 589 nm 处的变化, 求得每只牡蛎中富集不同浓度金丝桃素的质量。结果如表 3 所示, 当金丝桃素浓度为 5 和

表 1 牡蛎中富集姜黄素的量
Table 1 Quantity of curcumin bio-accumulate by oysters

姜黄素浓度($\mu\text{mol/L}$)	富集前水体的吸光值	富集前水体中姜黄素质量(mg)	富集后海水的吸光值	富集后水体中姜黄素质量(mg)	姜黄素富集量(%)	牡蛎中姜黄素添加量(mg/g)
5	0.0394±0.0025	10.05±0.60	0.0004±0.0002	0.85±0.04	98.98±0.07	0.092±0.06
10	0.0702±0.0008	17.33±0.20	0.0056±0.0006	2.09±0.15	91.96±0.89	0.152±0.02
20	0.1474±0.0040	35.57±0.94	0.0315±0.0006	8.19±0.15	78.62±0.01	0.274±0.09

注: 数据以平均值±标准差的形式表示, 每个样品进行三次平行实验。表 2~表 4 同。

表2 牡蛎中富集核黄素的量
Table 2 Quantity of riboflavin bio-accumulate by oysters

核黄素浓度(μmol/L)	富集前水体的吸光值	富集前水体中核黄素质量(mg)	富集后海水的吸光值	富集后水体中核黄素质量(mg)	核黄素富集量(%)	牡蛎中核黄素添加量(mg/g)
5	0.0109±0.0010	9.79±0.67	0.0002±0.0002	1.79±1.55	98.15±0.17	0.080±0.07
10	0.0245±0.0012	18.93±0.78	0.0019±0.0006	3.45±0.39	92.22±0.38	0.155±0.08
20	0.0508±0.0006	36.27±0.40	0.0139±0.0004	11.60±0.28	72.62±0.33	0.247±0.04

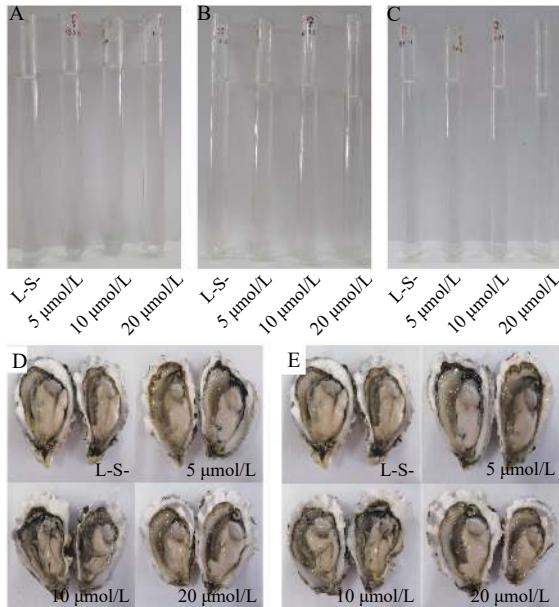


图3 金丝桃素富集前后水体及牡蛎肉颜色变化

Fig.3 Color Changes of water and oyster meat before and after bio-accumulation of hypericin

10 μmol/L时,富集量分别高达91.06%和89.68%。而当金丝桃素浓度为20 μmol/L时,富集量仅为71.90%,说明牡蛎富集不完全,水体中的金丝桃素还有剩余。考虑到研究表明姜黄素和核黄素的浓度为20 μmol/L时会使牡蛎肉颜色变成肉眼可见的黄色,对牡蛎的感官品质产生不利影响,因此选择10 μmol/L作为后续的实验浓度,以保证条件的一致性。

2.2 光动力对水溶液中多环芳烃的降解作用

通过光动力对多环芳烃水溶液处理不同时间,采用荧光法测定不同光敏剂介导的光动力对总多环芳烃的降解效果,以确定最佳光敏剂和光照时间。从图4可以观察到,水溶液中的多环芳烃在光动力作用下能够快速降解,并且随着时间的延长,其降解率也会逐渐增大。且姜黄素介导的光动力对多环芳烃的降解效果明显优于其他两种光敏剂介导的光动力组($P<0.05$)。姜黄素光动力光照15 min时对多环芳

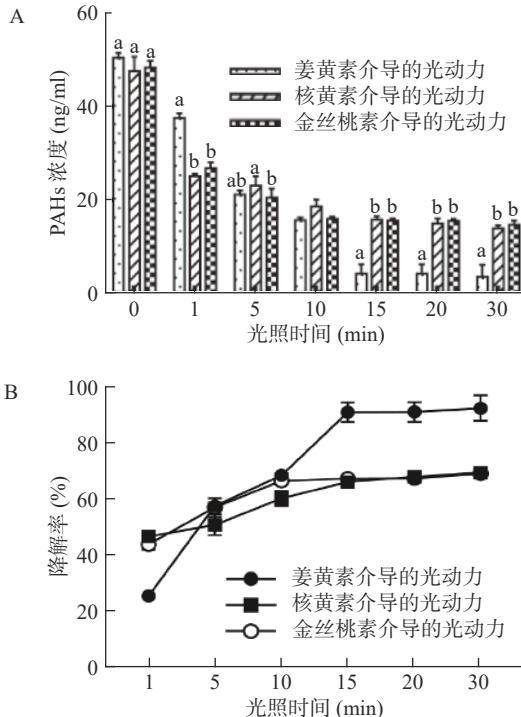


图4 光动力对水溶液中多环芳烃的降解效果

Fig.4 Degradation effect of photodynamic technology on PAHs in aqueous solution

注:A.水溶液中多环芳烃的降解效果;B.水溶液中多环芳烃的降解率;每个时间点各组之间进行比较,标有不同字母表示组间差异显著($P<0.05$),相同字母代表组间没有显著性差异($P>0.05$)。

烃的降解率达到91.08%,此后再增加光照时间并没有明显的变化(20 min: 91.09%; 30 min: 92.45%)。因此姜黄素介导的光动力能够快速有效地降解水溶液中的多环芳烃,对光动力降解多环芳烃优化后的条件为:光敏剂为姜黄素,浓度为10 μmol/L,光照时间为15 min。

2.3 光动力对生鲜牡蛎中多环芳烃的降解效果

通过气相色谱-质谱法检测光动力对牡蛎中富集多环芳烃的降解作用,得到的气相色谱-质谱总离子流图如图5所示。可以发现,通过气质法可以检测

表3 牡蛎中富集金丝桃素的量

Table 3 Quantity of hypericin bio-accumulate by oysters

金丝桃素浓度(μmol/L)	富集前水体的吸光值	富集前水体中金丝桃素质量(mg)	富集后海水的吸光值	富集后水体中金丝桃素质量(mg)	金丝桃素富集量(%)	牡蛎中金丝桃素添加量(mg/g)
5	0.0056±0.0003	12.95±0.50	0.0005±0.0003	4.37±0.44	91.06±0.48	0.086±0.05
10	0.0107±0.0004	21.47±0.59	0.0011±0.0004	5.44±0.68	89.68±0.34	0.160±0.06
20	0.0253±0.0004	46.02±0.59	0.0071±0.0004	15.41±0.59	71.90±0.39	0.306±0.06

到牡蛎中的 10 种多环芳烃, 包括萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并 [a] 蒽和䓛。

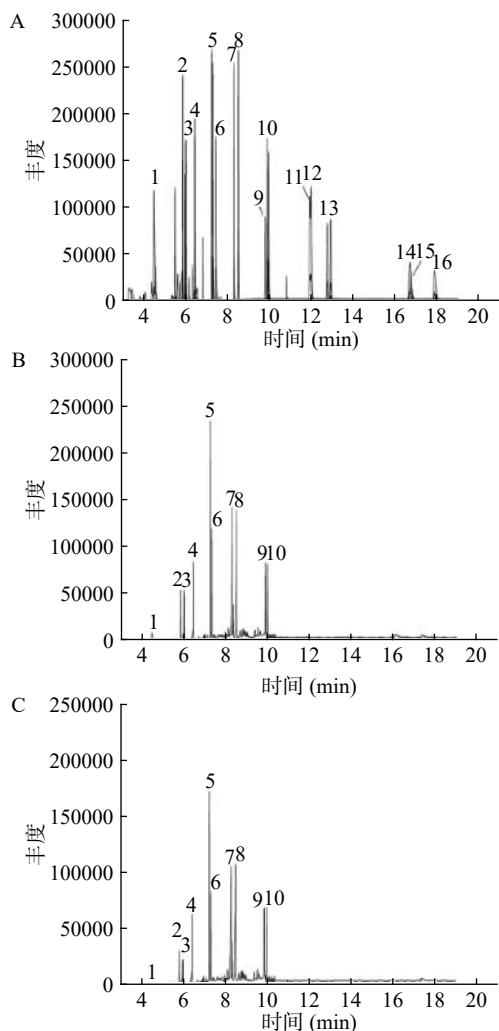


图 5 多环芳烃的气相色谱-质谱总离子流图

Fig.5 Gas chromatography-mass spectrogram of PAHs

注: A.PAHs 标准溶液的气相色谱-质谱图; B.空白对照组 PAHs 的气相色谱-质谱图; C.光动力组 PAHs 的气相色谱-质谱图; 1.萘; 2.苊烯; 3.苊; 4.芴; 5.菲; 6.蒽; 7.荧蒽; 8.芘; 9.苯并 [a] 蒽; 10.䓛; 11.苯并 [b] 荧蒽; 12.苯并 [k] 荧蒽; 13.苯并 [a] 芘; 14.茚并 [1,2,3-c,d] 芘; 15.二苯并 [a, h] 蒽; 16.苯并 [g,h,i] 蒽。

根据标准曲线求得空白组和光动力组牡蛎中 10 种多环芳烃的浓度, 结果如图 6 所示。从图中可以观察到与空白对照组相比, 光动力组牡蛎中的多环芳烃浓度均极显著下降($P<0.01$)。说明姜黄素介导的光动力对牡蛎中的多环芳烃均有不同程度的降解效果, 且降解效果显著。

为了更清楚地表示姜黄素光动力对牡蛎中多环芳烃的降解效果, 统计出各种多环芳烃的降解率。从表 4 可以看出光动力对 10 种多环芳烃的降解率为 $21.92\% \pm 1.28\%$ ~ $88.46\% \pm 0.67\%$, 其中䓛的降解率最高 $88.46\% \pm 0.67\%$, 其次是萘 $75.09\% \pm 0.34\%$ 和苊烯 $58.02\% \pm 0.12\%$ 。因此在上述实验确定的最优条件下, 姜黄素介导的光动力对牡蛎中的多环芳烃具有良好的降解效果。

3 讨论

目前, 用于多环芳烃的处理方法主要包括物理、化学和生物降解方法, 这些方法都可部分降解多环芳烃, 但都或多或少存在一些弊端, 包括成本高、效率低、有试剂残留、易造成二次污染等^[12]。刘哲等^[32]研究发现, 使用卤钨灯照射水和土壤中的菲, 光照强度为 55 W, 光照时间为 90 min, 降解率分别达到 54.11% 和 55.79%。李万龙^[33]的研究表明, 水体中的菲在紫外光下照射 3 h 后降解率为 52.75%。可见, 光降解作为多环芳烃降解的一种主要途径, 具有费时且降解效率低的缺陷。章豪等以 TiO₂ 为催化剂, 以氘灯为光源, 对污泥中的 9 种多环芳烃进行光催化氧化降解, 90 min 后均发生一定程度降解, 其中蒽、苯并(a)蒽、苯并(a)芘的降解率都达到 98% 以上^[34]。光催化氧化法降解效率高, 但所需时间长。与这些方法相比, 光动力技术由于其中的光敏剂可以吸收光子的能量从基态转变为激发态, 激发态的光敏剂将能量传递给氧, 使其转变为单线态氧, 从而达到快速降解多环芳烃的效果, 在光照 15 min 时降解率就能达到 90% 以上, 所需时间短且降解效率高。

本研究选取三种无毒光敏剂, 首先通过牡蛎富集不同浓度光敏剂后牡蛎肉外观品质的变化确定最佳富集浓度, 发现当浓度为 10 μmol/L 时与空白对照组相比牡蛎肉颜色没有显著变化, 且富集量高达 90% 左右。武娟^[30]发现姜黄素浓度为 5 和 10 μmol/L 时, 牡蛎肉颜色没有变化, 而当浓度为 20 μmol/L 时牡蛎肉颜色发黄, 并且口感不佳。为确定最佳光敏剂和光照时间, 采用荧光法测定不同光敏剂介导的光动力对水溶液中多环芳烃的降解效果, 发现姜黄素介导的光动力降解效果最优, 在浓度为 10 μmol/L, 光照时间为 15 min 的条件下, 降解率达到 91.08%。在此条件下对牡蛎中富集的多环芳烃进行光动力处理, 结果表明, 10 种多环芳烃的降解率达到 21.92%~88.46%, 降解效果显著, 且对环数较低的多环芳烃降解效果越好。与光动力对水溶液中多环芳烃的降解效果相比, 在相同条件下, 光动力对牡蛎中富集多环芳烃的降解效果降低。究其原因, 可能是由于牡蛎肉较厚, 420 nm 蓝光的穿透能力有限, 并且牡蛎的内部结构复杂, 可能存在一定的限制因素。因此, 后续研究可以寻找具有更大穿透能力的光源来达到更好的降解效果。之前的大量研究表明, 姜黄素介导的光动力可有效灭活牡蛎中的大肠杆菌^[2]、副溶血性弧菌^[27]、诺如病毒^[24] 等致病菌和病毒, 有效延长牡蛎货架期^[31], 延缓牡蛎脂质劣化^[16], 较好地保持牡蛎的营养品质和风味口感, 并证实了其食用安全性^[35]。因此, 姜黄素介导的光动力能够同时保证牡蛎的安全和营养品质, 满足消费者生食牡蛎的需求, 有望进行大规模的工业化生产, 但考虑到多环芳烃的降解过程中可能会产生毒性更大的中间体或产物, 因此后续还需对其降解产物进行表征及安全评价。

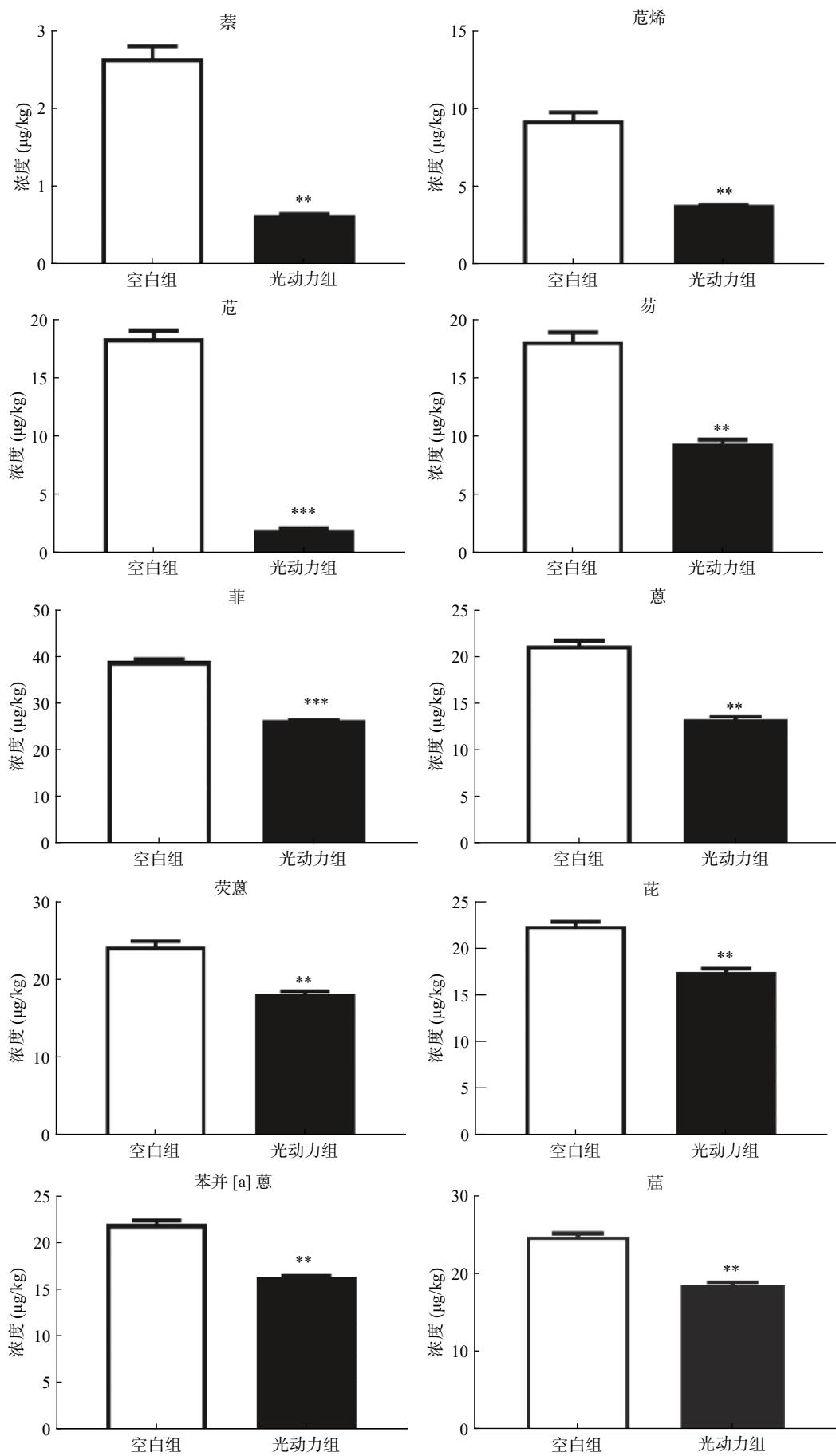


图 6 光动力对牡蛎中多环芳烃的降解效果

Fig.6 Degradation effect of photodynamic technology on PAHs in oysters

注: 与空白对照组相比, **表示 $P<0.01$, ***表示 $P<0.001$ 。

表 4 光动力对牡蛎中多环芳烃的降解率
Table 4 Degradation rate of PAHs in oyster by photodynamic technology

序号	PAHs	出峰时间(min)	降解率(%)
1	萘	4.494	75.09±0.34
2	苊烯	5.859	58.02±0.12
3	苊	6.010	88.46±0.67
4	芴	6.441	47.58±1.49
5	菲	7.261	31.82±0.12
6	蒽	7.301	36.73±0.95
7	荧蒽	8.290	24.89±1.25
8	芘	8.505	21.92±1.28
9	苯并[a]蒽	9.883	25.49±0.63
10	䓛	9.949	25.00±0.97
11	苯并[b]荧蒽	-	-
12	苯并[k]荧蒽	-	-
13	苯并[a]芘	-	-
14	茚并[1,2,3-c,d]芘	-	-
15	二苯并[a,h]蒽	-	-
16	苯并[g,h,i]芘	-	-

4 结论

本研究选取三种无毒光敏剂, 探究不同光敏剂介导的光动力在不同光照时间下对多环芳烃的降解效果。结果表明, 姜黄素介导的光动力在浓度为 10 μmol/L 和光照时间为 15 min 的条件下, 对水溶液中多环芳烃降解率达到 91.08%, 说明姜黄素光动力对水溶液中的多环芳烃具有良好的降解效果。在上述最优条件下, 进一步探究了光动力对牡蛎中富集多环芳烃的降解作用。结果表明, 与空白对照组相比, 经光动力处理后牡蛎中的多环芳烃浓度明显下降。结果证实, 光动力作为一种新型技术, 可有效降解牡蛎中残留的多环芳烃, 在保证水产品的安全品质方面具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 张辉. 太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas* Thunberg) 中氨基酸和寡肽的提取及活性初步研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [2] Gao Y, Wu J, Li Z, et al. Curcumin-mediated photodynamic inactivation (PDI) against DH5α contaminated in oysters and cellular toxicological evaluation of PDI-treated oysters [J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2019, 26(JUN.): 244–251.
- [3] Liu F, Li Z, Cao B, et al. The effect of a novel photodynamic activation method mediated by curcumin on oyster shelf life and quality [J]. Food Research International, 2016, 87(sep.): 204–210.
- [4] 戴文津, 杨小满, 陈华, 等. 水产品中主要化学污染物质的研究 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(3): 560–563.
- [5] 慕俊泽, 张勇, 彭景吓. 多环芳烃光降解研究进展 [J]. 安全与环境学报, 2005(3): 69–74.
- [6] 刘芸, 于维森, 吕晓静, 等. 青岛市市售贝类中多环芳烃与多氯联苯的含量水平、组成特征及居民健康影响风险评估 [J]. 现代预防医学, 2018, 45(23): 4269–4272.
- [7] 徐香. 海洋环境中有机污染物降解机理及构效关系的理论研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [8] Yi W, Xiao H J, Jian Y H, et al. Trophic dilution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a marine food web from Bohai Bay, north China [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(9): 3109–3114.
- [9] Baumard P, Budzinski H, Garrigues P, et al. Concentrations of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level [J]. Marine Pollution Bulletin, 1998, 36(12): 951–960.
- [10] Piccardo M T, Coradeghini R, Valerio F. Polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in native and caged mussels [J]. Marine Pollution Bulletin, 2001, 42(10): 951–956.
- [11] 江锦花, 董官真. 海洋环境中多环芳烃的污染状况及源解析 [J]. 水资源保护, 2008(5): 48–54.
- [12] 马虹. 油田采出水中多环芳烃的光催化氧化处理方法研究 [D]. 北京: 华北电力大学, 2012.
- [13] Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) [J]. The Journal of antimicrobial chemotherapy, 1998(1): 13–28.
- [14] Miri K, Haw J, Hyun P. Topical PDT in the treatment of benign skin diseases: Principles and new applications [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(10): 23259–23278.
- [15] RobleroBartolón G V, RamónGallegos E. Use of nanoparticles (NP) in photodynamic therapy (PDT) against cancer [J]. Gaceta Médica De México, 2015, 151(1): 85.
- [16] 曹斌斌. 光动力非热力杀菌技术在生鲜牡蛎加工中的应用 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [17] 于金坤, 张芳. 姜黄素介导的光动力技术对鲜切马铃薯的杀菌效果 [J]. 食品工业科技, 2020, 42(4): 259–263, 270.
- [18] 王德选, 王万铁, 郑绿珍, 等. 金丝桃素介导的光动力学疗法对 K562 细胞活性与自噬的影响 [J]. 温州医科大学学报, 2020, 50(4): 285–289.
- [19] 蒋丽金, 何玉英. 竹红菌素类光敏剂的光物理、光化学及光生物 [J]. 科学通报, 2000, 45(19): 2019–2032.
- [20] 陆长元, 韩镇辉, 蔡喜臣, 等. 核黄素 (维生素 B₂) 的光物

- 理和光化学性质[J]. 中国科学: 化学, 2000, 30(5): 428–435.
- [21] Jiang Y, Leung A W, Hua H, et al. Photodynamic action of LED-activated curcumin against *Staphylococcus aureus* involving intracellular ROS increase and membrane damage[J]. International Journal of Photoenergy, 2014(6): 11054–11066.
- [22] 邵文丽, 姚佳, 张雪青, 等. 金丝桃素介导的光动力学疗法在肿瘤治疗中的应用研究[J]. 安徽农业科学, 2016(31): 122–124.
- [23] Keshishyan E S, Zaporozhtseva Z V, Zenina O M, et al. Photodynamic inactivation of bacteria in vitro under the effect of blue light[J]. Bulletin of Experimental Biology & Medicine, 2015, 158(4): 475–477.
- [24] Wu J, Hou W, Cao B, et al. Virucidal efficacy of treatment with photodynamically activated curcumin on murine norovirus bioaccumulated in oysters[J]. Photodiagnosis & Photodynamic Therapy, 2015, 12(3): 385–392.
- [25] Zhang X, Wu J, Xu C, et al. Inactivation of microbes on fruit surfaces using photodynamic therapy and its influence on the postharvest shelf-life of fruits[J]. Food Science and Technology International, 2020: 108201322092133.
- [26] Gong C, Li Y, Gao R, et al. Inactivation of specific spoilage organism (*Pseudomonas*) of sturgeon by curcumin-mediated photodynamic inactivation[J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2020: 101827.
- [27] Wu J, Mou H, Xue C, et al. Photodynamic effect of curcumin on *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Photodiagnosis & Photodynamics Therapy, 2016(15): 36–39.
- [28] Aponiene K, Paskeviciute E, Reklaitis I, et al. Reduction of microbial contamination of fruits and vegetables by hypericin-based photosensitization: Comparison with other emerging antimicrobial treatments[J]. Journal of Food Engineering, 2015, 144(Jan.): 29–35.
- [29] 曹斌斌, 武娟, 许川山, 等. 姜黄素介导的光动力冷杀菌方法对牡蛎杀菌的效果研究[J]. 食品科学, 2016, 37(5): 46–49.
- [30] 武娟. 生鲜牡蛎中大肠杆菌和诺如病毒的检测及光动力非热力杀菌相关研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [31] 廖文崇, 朱长波, 张汉华. 体规格对香港巨牡蛎摄食和代谢的影响[J]. 中国渔业质量与标准, 2011, 1(3): 41–46.
- [32] 刘哲, 田华. 多环芳烃在风积沙土壤中的光降解研究[J]. 干旱区资源与环境, 2015, 29(9): 193–197.
- [33] 李万龙. 水体中菲的光降解途径与影响因素研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2016.
- [34] 章豪, 杨挺, 江潇潇, 等. 污泥中多环芳烃的光催化降解[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(12): 2039–2041.
- [35] 武娟, 刘一鸣, 李夏, 等. 光敏化姜黄素的细胞毒理学检验[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 205–210.