

文章编号: 1674-5566(2025)01-0237-11

DOI: 10.12024/jsou.20240404504

姜黄素介导的光动力技术保障三文鱼品质安全初步机制探究

张涵¹, 王敬敬^{1,2,3}, 赵勇^{1,2}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 农业农村部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306; 3. 佛山大学, 广东 佛山 528000)

摘要: 三文鱼因其营养丰富和口感鲜嫩深受广大消费者喜爱, 然而在加工贮藏过程中易被微生物污染导致营养流失和组织结构破坏。本研究以姜黄素为光敏剂, 应用光动力技术(Photodynamic technology, PDT)对三文鱼进行保鲜。通过检测PDT处理后三文鱼中微生物的增殖情况探究姜黄素介导光动力的抑菌效率, 并从色差、内源酶活性、组织切片和水分迁移等角度对PDT保障三文鱼品质机制进行初步探究。结果表明, 150 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素配合光照处理1 h可有效杀灭三文鱼中1.6 $\log_{10}\text{CFU/g}$ 微生物。此外, 姜黄素介导的PDT显著抑制了三文鱼中ATP酶和脂肪酶的活性, 延缓了游离氨基酸和游离脂肪酸的降解, 从而保障了三文鱼结构完整性和水分含量, 使其货架期延长2 d。本研究可为光动力技术在保障三文鱼品质方面提供数据和理论支持, 以期推动其在食品保鲜领域的实际应用。

关键词: 姜黄素; 光动力技术; 三文鱼; 保鲜

中图分类号: R 155 **文献标志码:** A

三文鱼(*Salmo salar*)是全球重要的经济养殖鱼类之一, 它不仅口感较好, 同时营养丰富, 含有较多的蛋白质以及大量的不饱和脂肪酸, 备受消费者喜爱^[1]。三文鱼作为一种生鲜食品, 在加工贮藏过程中易受到腐败菌污染, 进而导致营养流失、品质下降, 造成食品浪费, 同时还易受到病原菌污染, 造成食品安全问题, 影响消费者的健康^[2-4]。

光动力技术(Photodynamic technology, PDT)作为一种新型的非热杀菌技术, 因其灭菌效果好、环保、安全、成本低等优点在医学领域被广泛使用。与传统食品杀菌方法相比, PDT不会改变食品的品质和降低食品的营养价值, 在食品领域有良好的应用前景^[5-7]。PDT的作用基于3个不可或缺的成分, 分别是光敏剂、光源和氧。姜黄素作为一种可食用光敏剂, 是从植物姜黄中提取出来的多酚类天然活性物质, 被蓝色LED光(455~460 nm)激发后, 可以产生包括单线态氧、过氧化氢、羟基自由基等活性氧(ROS), 攻击细

菌细胞DNA、RNA和蛋白质等, 导致细菌细胞死亡^[8-9]。

应用PDT清除食品中的微生物被越来越多的科研工作者关注, 目前已有研究证明PDT对副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)^[10-12]、腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)^[11-12]、单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)^[12-13]等多种食源性致病菌具有显著的灭活效果。LI等^[14]采用姜黄素协同竹红菌乙素介导的PDT保鲜苹果, 通过检测苹果中的微生物数量、苹果的pH及色差来验证PDT对苹果的保鲜效果; LIU等^[15]研究了姜黄素介导的PDT保持牡蛎的品质延长保质期, 采用微生物指标、生物化学指标和感官指标评估PDT对牡蛎保鲜效果; CHEN等^[16]制备了一种PDT介导的聚乳酸薄膜保鲜三文鱼, 结果表明PDT可以有效抑制储存期间三文鱼中微生物的增殖。然而, 现阶段PDT在食品领域仅聚焦于保鲜效果的研究, 对其内在的保鲜作用机理鲜有报道。

收稿日期: 2024-04-18 修回日期: 2024-12-17

基金项目: 国家自然科学基金(3210160807); 广东省自然科学基金(20201910240000319)

作者简介: 张涵(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品保鲜。E-mail: 915841162@qq.com

通信作者: 赵勇, E-mail: yzhao@shou.edu.cn

版权所有 © 《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

基于此,本文在研究姜黄素介导的PDT对三文鱼中微生物的杀灭效果的同时,还通过检测色差、内源酶活性、组织切片和水分迁移等指标深入探究了4℃储存期间PDT保鲜三文鱼品质的内在机制。本研究为PDT保鲜三文鱼储存品质提供了理论基础,推动了PDT在食品保鲜领域的应用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

主要试剂:姜黄素(Curcumin,食品级,纯度>98%)购自美国Sigma公司;超微量总ATP酶测试试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH)测试试剂盒、脂肪酶(LPS)测试试剂盒购自南京建城生物工程研究所;鱼组织蛋白酶D(CTSD)酶联免疫分析试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;Bouin's固定液购自福州飞净生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 三文鱼的制备

新鲜三文鱼采购于上海的水产市场,将三文鱼中间部分在超净台中使用经过灭菌处理的刀具将其切成3 cm×3 cm[(3.0±0.1)g]大小的块状。用吸水纸擦干三文鱼表面水分后,将其放置在无菌培养皿中备用。

1.2.2 光动力灭活处理

将分割好的3.0 g三文鱼分别放置在提前配好不同浓度的姜黄素溶液(50、100、150 μmol/L)中,使用孵育机在黑暗环境中匀速摇晃孵育20 min,确保姜黄素与三文鱼充分结合。将孵育后的三文鱼在黑暗环境中沥干水分,做好标记并移动至对应的无菌培养皿中。调整灯箱内平台的位置,确保平台上的无菌培养皿与蓝色LED灯距离为5 cm,三文鱼在LED照射的中心,然后光照处理1 h。三文鱼经过PDT处理后,使用TSA平板法检测三文鱼中存活的微生物数量,确定PDT处理的最佳条件(辐照剂量、姜黄素浓度等)在4℃条件下进行三文鱼保鲜实验。本实验中,L±代表光照处理,C±代表姜黄素处理,C₁、C₂和C₃对应不同浓度的姜黄素溶液(50、100、150 μmol/L),未经光照和姜黄素处理的三文鱼样品作为阴性对照(L-C-)。

1.2.3 色差分析

在标准品上校准色差计(NR20XE,深圳市三恩时科技有限公司),校准过后,使用色差计对不同处理后的三文鱼颜色变化进行量化^[17],测量记录了L*(亮度)、a*(红、绿)、b*(黄、蓝)和总色差ΔE等参数。ΔE计算公式:

$$\Delta E = [(L_s - L_0)^2 + (a_s - a_0)^2 + (b_s - b_0)^2]^{1/2} \quad (1)$$

式中:L₀、a₀和b₀表示对照组三文鱼L、a和b的颜色参数;L_s、a_s和b_s表示实验组三文鱼L、a和b的颜色参数。所有测试均在6条三文鱼样品上进行,取平均值。

1.2.4 蛋白质SDS-PAGE

将经过不同处理后的三文鱼放到离心管中,并加入27 mL无菌PBS(pH 7.2~7.6,1×),使用均质机均质5 min,1 000 r/min离心30 s后,取20 μL上清液,加入5 μL缓冲液,震荡使二者充分混匀后,100℃水浴加热10 min。SDS-PAGE实验中使用的胶由12%的分离凝胶和3%的浓缩凝胶构成。使用考马斯亮蓝溶液(R-250)对凝胶进行染色,并在含有10%乙酸的乙醇水溶液[V(乙醇):V(乙酸):V(水)]=1:1:8中脱色^[18]。标准蛋白Marker(P0075,上海碧云天生物技术有限公司)的分子量为10~180 ku。

1.2.5 微生物分析

向经过不同处理后的三文鱼中加入27 mL无菌PBS,用均质机均质5 min,对均质后的样品用0.85%的无菌生理盐水稀释,每个样品取100 μL稀释液滴加到TSA平板上,使用涂布棒均匀涂抹。放到恒温培养箱中培养24 h,统计存活的细胞数量,并用log₁₀ CFU/g表达,进行3次重复平行实验。

1.2.6 酶活性测定

ATP酶活性、乳酸脱氢酶(LDH)活性、脂肪酶(LPS)活性、鱼组织蛋白酶D(CTSD)活性分别使用南京建成生物工程研究所生产的相应试剂盒测定。

1.2.7 游离氨基酸和脂肪酸分析

将不同处理后的三文鱼与27 mL去离子水混匀并用均质机均质5 min。然后取出混合物放置水浴锅中,在85~90℃条件下水浴加热30 min。在4℃、12 000 r/min的条件下冷藏离心5 min,取上清液用100 mL 0.01 mol/L的盐酸稀释,采用0.22 μm的过滤膜进行过滤,然后使用氨

基酸分析仪(L-8900,日本Hitachi)检测。所有的分析重复3次,最后使用每个FAA标准的保留时间和样品的峰面积比进行定量。

向不同处理后的三文鱼中加入40 mL氯仿在提取器中回流4 h,取出后旋转蒸发浓缩近干,加入5 mL $V(\text{乙醚}):V(\text{正己烷})=1:2$ 溶液,溶解脂肪后,倒入试管中,继续加入5 mL氢氧化钾-甲醇溶液(甲酯化),振摇后加入5 mL正己烷静置10 min后,吸取上层正己烷过滤后放入进样瓶中待测。使用GC-MS分析脂肪酸含量。具体程序设定:开机后,升温至140 °C,然后以5 °C/min的速度增加至210 °C,保持15 min。设定载气恒定流速为1.0 mL/min,载气基质为超纯化的氮。质谱条件:电子碰撞电离(EI)用作离子化能量为70 eV的离子源,离子源温度为230 °C;连接器温度为280 °C,扫描速率为2.84 s⁻¹,质量扫描范围为 m/z 33~450 Au。

1.2.8 持水力(WHC)及组织切片分析

根据ZANG等^[19]提出的方法检测三文鱼的持水力(Water holding capacity, WHC)。将经过不同条件PDT处理后的三文鱼进行称重记为 W_0 ,记录数值后,用滤纸包裹三文鱼放置离心管中,在4 °C、4 000 r/min条件下离心10 min。取离心后三文鱼,去除滤纸重新称重 W_1 。进行3次重复平行实验。持水力计算公式:

$$W_{\text{WHC}} = \frac{W_1}{W_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W_{WHC} 为持水力,%。

采用WANG等^[20]的方法进行组织学分析。切取三文鱼中段部分,使用Bouin's固定液将三文鱼固定24 h,然后在梯度乙醇中进行脱水,最后将其转移到二甲苯中,用石蜡包埋,使用切片机进行切片处理,得到组织切片,并将其转移到玻片上,使用苏木精-伊红染色剂染色后通过显微镜观察三文鱼组织切片形态。

1.2.9 低场核磁共振(LF-NMR)分析

将三文鱼样品切成小正方形(30 mm×30 mm),并用保鲜膜密封包裹。使用频率为20 MHz的LF-NMR分析仪(上海纽曼科技有限公司)进行三文鱼核磁共振分析。所有实验进行3次平行,计算平均值^[21]。

1.2.10 统计分析

实验数据以平均值±标准差的方式表示。使

用SPSS 17.0进行单因素方差分析,比较实验数据之间的差异性($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 姜黄素介导的光动力技术对三文鱼中微生物的灭活作用

不同浓度姜黄素介导的PDT处理对三文鱼中微生物的灭活效果如图1所示,对照组中三文鱼微生物数量约为5.5 log₁₀CFU/g。与对照组相比较,L+C-组和L-C+组的微生物数量并没有发生明显变化。添加50 μmol/L姜黄素联合1 h光照处理后,该组三文鱼中的微生物数量与对照组相比没有明显下降。随着姜黄素浓度增加到100 μmol/L时,经过1 h的光照处理后,该组三文鱼中的微生物数量出现明显下降,降低了0.7 log₁₀CFU/g($P < 0.05$)。随着姜黄素浓度进一步增加至150 μmol/L时,该组三文鱼中微生物的数量进一步减少,降低至3.97 log₁₀CFU/g($P < 0.05$)。由图1可知:姜黄素介导的PDT对三文鱼中微生物拥有较好的抑制效果,并且呈现出典型的姜黄素浓度依赖性,这是由于姜黄素经过光照后,产生大量的ROS,ROS氧化了微生物细胞中的蛋白质、DNA和脂质,破坏了微生物细胞结构完整性导致细胞死亡。

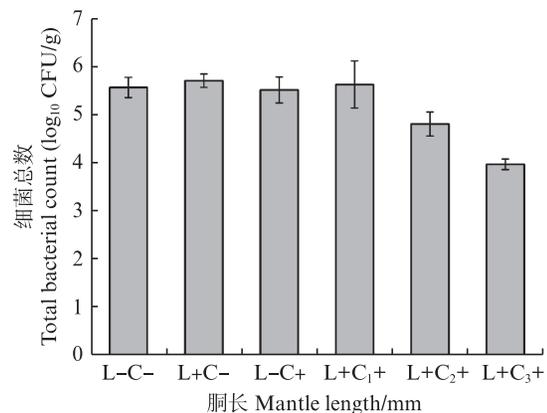


图1 姜黄素光动力对三文鱼本底微生物的杀灭效果
Fig. 1 The killing effect of curcumin photodynamic therapy on the bottom microorganisms of salmon

2.2 微生物分析

根据图1的结果,选择150 μmol/L姜黄素浓度和光照处理1 h为最佳条件开展后续实验。如图2所示,在整个贮藏过程中,各组三文鱼在4 °C条件下,菌落总数都有明显增长,L+C+组中菌落

总数在贮藏的9 d内,全部低于L-C-组($P < 0.05$)。在4 °C贮藏条件下,L+C+组三文鱼中的菌落总数从起始的 $3.9 \log_{10}$ CFU/g,增长到 $10.5 \log_{10}$ CFU/g;L-C-组三文鱼中的菌落总数从 $5.5 \log_{10}$ CFU/g,增长到 $11.1 \log_{10}$ CFU/g。证明姜黄素介导的PDT处理三文鱼,可以有效抑制三文鱼中微生物的恢复和增殖速度。

水产品的菌落总数标准通常为 $7 \log_{10}$ CFU/g^[22]。根据图2可知,L+C+组在贮藏的第3天,三文鱼中菌落总数就已经超过了这一限值,不可食用;然而,L+C+组在贮藏的第5天才超过该限值。因此,在以菌落总数为标准的情况下,姜黄素介导的PDI处理能使三文鱼的货架期延长2 d,这是由于姜黄素介导的PDT处理产生大量的ROS可以在三文鱼贮藏的前期大幅度降低三文鱼中的微生物数量,并且抑制微生物的增殖速度,从而导致在贮藏期间L+C+组的三文鱼中微生物的数量远低于L-C-组。

2.3 色差分析

食品颜色作为鉴别食品品质的一项重要指标,也是消费者选购食品的重要依据。图3是不同处理后各组三文鱼色泽外观图片,可以发现L-C-、L+C-、L+C+ 3组的三文鱼并没有发现明显差异,而与3组不同的是,L-C+组中三文鱼的颜色

则发生了显著变化,呈现出一种偏黄的颜色。这一现象是因为姜黄素作为天然物质姜黄的主要成分,其溶液颜色为橙黄色,并且姜黄素是一种脂溶性物质,容易与三文鱼中的油脂结合,将三文鱼染黄。经过蓝色LED光照后,姜黄素被降解为无色,结合在三文鱼油脂上的姜黄素颜色褪去,从而导致L+C+组颜色变化不明显,而L-C+组的三文鱼则保持橙黄色,影响三文鱼的色泽外观。

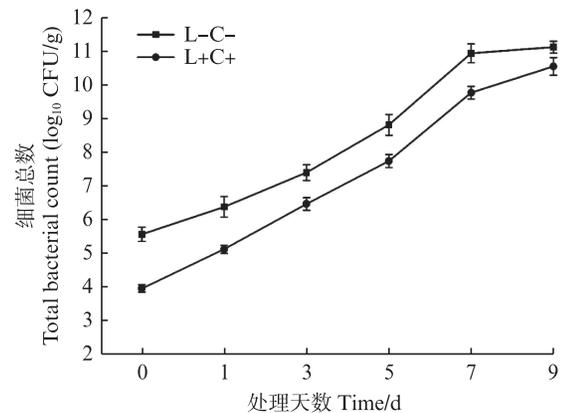


图2 姜黄素光动力处理后三文鱼中本底微生物的恢复和增殖情况

Fig. 2 Recovery and proliferation of background microorganisms in salmon after photodynamic treatment with curcumin

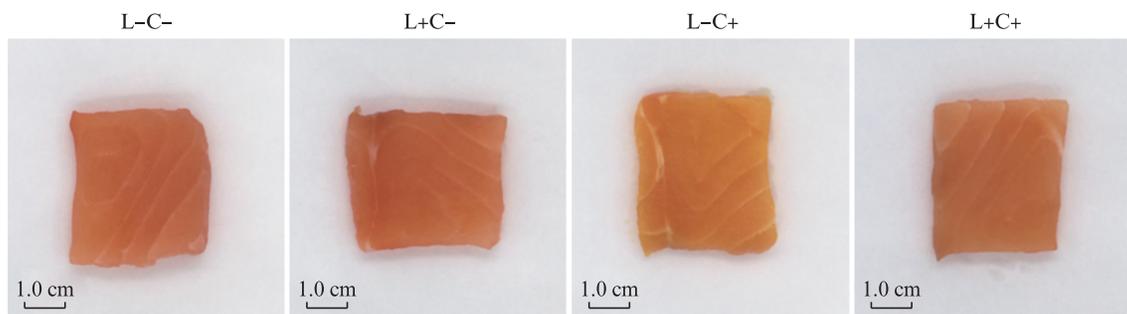


图3 经过不同处理后三文鱼的颜色变化

Fig. 3 Photograph of salmon after different treatments

此外,使用色差仪对不同方法处理后的三文鱼颜色进行色差实验,量化颜色变化,如表1数据显示,与L-C-组三文鱼相比,L+C-组的色差值为 0.8 ± 0.2 ,L+C+组色差值为 3.2 ± 0.3 ,L-C+组的色差值为 18.1 ± 0.7 。按照色差值分析, ΔE 处于

1.5与5之间时,两者颜色属于肉眼能够看出颜色差别但不明显, $\Delta E > 15$ 时,两者颜色差别明显,属于两种不同颜色,综上,姜黄素介导的PDT处理对三文鱼的色泽外观影响较小,在可接受范围内。

表1 不同处理后三文鱼的 ΔE 值
Tab. 1 The ΔE values of salmon after different treatments

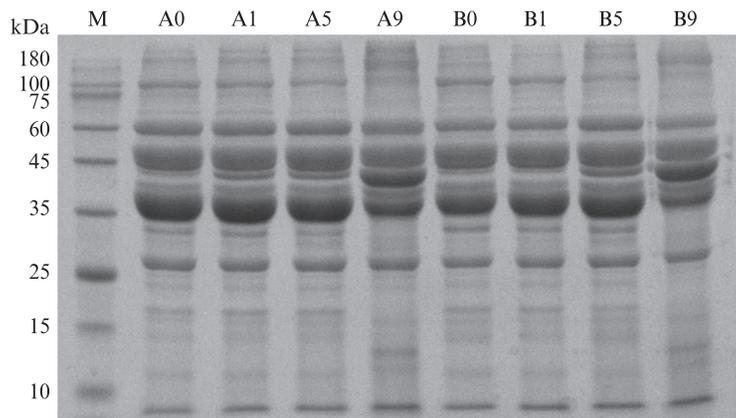
组别 Group	L*	a*	b*	ΔE
L-C-	48.4±1.2 ^c	20.5±0.6 ^a	26.7±0.3 ^b	0
L+C-	48.5±0.3 ^c	20.1±0.5 ^a	26.1±0.7 ^b	0.8±0.2
L-C+	54.8±0.6 ^a	17.4±0.5 ^b	43.4±1.8 ^a	18.1±0.7
L+C+	51.2±0.3 ^b	19.4±0.4 ^a	27.6±0.9 ^b	3.2±0.3

注:同行不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

Notes: Different lowercase letters in the same row indicate significant differences($P < 0.05$).

2.4 蛋白质 SDS-PAGE

水产品死后,随时间推移其蛋白质和结缔组



M. 标准物质;A. 未光照处理组;B. 光照处理组;0,1,5和9代表三文鱼样品贮藏天数。

M. Standard material; A. Unexposed group; B. Exposed group; 0, 1, 5, and 9 represent the number of days of storage for salmon samples.

图4 姜黄素光动力处理后三文鱼在 4 °C 下贮藏 9 d 的蛋白质变化

Fig. 4 Changes in SDS-PAGE patterns of salmon stored at 4 °C for 9 days after photodynamic treatment with curcumin

2.5 内源酶活性

水产品贮藏过程中发生腐败变质的原因主要由两个方面:第一是水产品中微生物的生长繁殖,产生有异味及毒性等物质,影响水产品品质;另一方面是水产品本身含有的酶,在一定的环境条件下,进行各种酶促反应,分解水产品的成分,加速水产品的腐败变质^[23]。本文通过检测三文鱼中关键酶活性的变化(乳酸脱氢酶、ATP酶、脂肪酶、组织蛋白酶D)来研究姜黄素介导的 PDT 三文鱼对其内源酶的影响。

乳酸脱氢酶(LDH)是糖无氧酵解及糖异生的重要酶系之一,广泛存在于各种动物组织及细胞中。在水产品的贮藏过程中,由于糖酵解反应,产生大量的酸,使水产品的 pH 下降,品质降低。如图 5a 所示,L+C+组三文鱼中 LDH 的活性与 L-C-组相比没有发生显著变化。因此,姜黄素

介导的 PDT 三文鱼并没有对三文鱼中的 LDH 的活性造成显著影响。ATP 酶又称三磷酸腺苷酶,参与释放能量的反应体系,ATP 酶的活性与水产品中的生物化学反应密切相关,是评价水产品新鲜度的重要指标之一。图 5b 是不同处理后,三文鱼中 ATP 酶的活性。结果表明,L+C+组三文鱼中 ATP 酶的活性显著性降低,由 22.42 U/mg prot 降低至 13.50 U/mg prot($P < 0.05$)。可以得出结论,姜黄素介导的 PDT 处理可以使三文鱼中的 ATP 酶活性降低,从而减缓蛋白质降解及脂肪氧化分解等一系列生化反应的速率,降低三文鱼腐败速度,更好的保障三文鱼品质及营养价值。脂肪酶(LPS)又称甘油酯水解酶,能够逐步的将甘油三酯水解成甘油和脂肪酸。图 5c 揭示了不同处理后,三文鱼中脂肪酶的活性,L+C+组

三文鱼中脂肪酶的活性发生显著性降低,从2.11 U/g prot降低至1.44 U/g prot($P < 0.05$),证明姜黄素介导的PDT处理可以抑制三文鱼中脂肪酶的活性,从而减缓三文鱼中脂质的氧化分解速率,延长三文鱼的贮藏时间。

组织蛋白酶D在溶酶体的酸性环境中水解

蛋白质,通常被认为是水产品死后溶酶体发生降解作用的重要酶。图5d是三文鱼中组织蛋白酶D的活性。结果表明,PDT处理前后,三文鱼中的组织蛋白酶活性没有发生显著变化。姜黄素介导的PDT处理对组织蛋白酶D的活性没有造成显著影响。

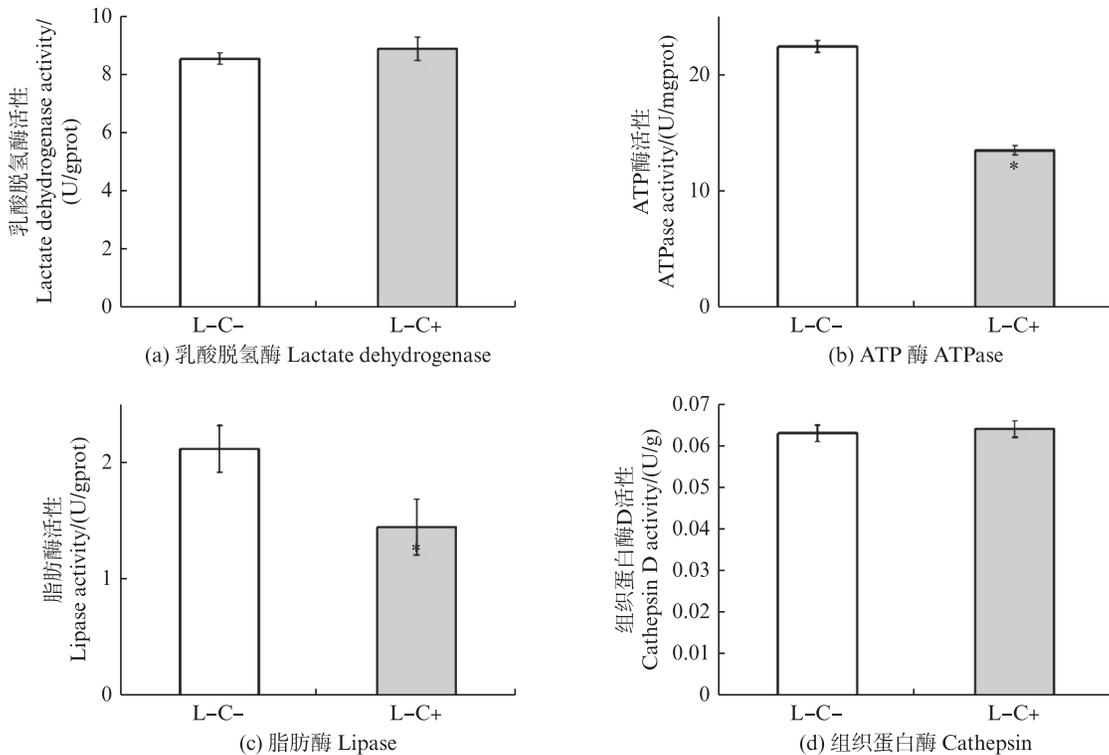


图5 姜黄素光动力处理后,三文鱼体内酶活性的变化

Fig. 5 Changes of enzyme activity in salmon after photodynamic treatment with curcumin

2.6 氨基酸和脂肪酸变化

氨基酸是影响水产品风味及营养价值的重要因素。由表2可知:三文鱼贮藏0天,L-C-组与L+C+组两组三文鱼中氨基酸无明显差异($P < 0.05$),这证明姜黄素介导的PDT处理对三文鱼中氨基酸不会产生影响。在贮藏期间,两组三文鱼中氨基酸含量均显著下降,但是L+C+组的氨基酸含量始终高于L-C-组,尤其是Ser、Ala、Lys等重要的风味氨基酸被显著保留,这是由于PDT处理显著抑制了三文鱼中的微生物的活动,从而避免了由微生物引起的氨基酸降解。综上,姜黄素介导的PDT对三文鱼中游离氨基酸具有积极作用,可以保护三文鱼中的重要氨基酸,这有助于维持三文鱼的风味和功能。

三文鱼富含多不饱和脂肪酸,游离脂肪酸是脂质水解的产物,与脂质氧化反应密切相关,因

此,通常通过检测游离脂肪酸来评估脂质氧化程度和水产品新鲜度。表3统计了两种不同方式处理三文鱼在贮藏期间脂肪酸含量变化。三文鱼贮藏0天时,L-C-组与L+C+组两者的游离脂肪酸无明显差异($P < 0.05$),这证明姜黄素介导的PDT处理对三文鱼中游离脂肪酸的成分没有不利影响。在贮藏期间,两组三文鱼中游离脂肪酸均显著下降,并且L+C+组游离脂肪酸含量始终高于L-C-组,其中三文鱼中重要不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸(DHA)和二十碳五烯酸(EPA)都得到了很好的保护,这是由于三文鱼经过了PDT处理后,三文鱼中的微生物以及部分内源酶的活性受到了抑制,三文鱼中脂质氧化速度大幅度降低。因此,姜黄素介导的PDT能够有效的延缓三文鱼中游离脂肪酸在贮藏过程的氧化分解,保障三文鱼的品质和营养成分。

表 2 三文鱼游离氨基酸的变化
Tab. 2 Change of free amino acid in salmon

	mg/100 g					
	0 d		5 d		9 d	
	L-C-	L+C+	L-C-	L+C+	L-C-	L+C+
牛磺酸 Tau	50.55±2.08 ^a	51.51±1.66 ^a	29.56±0.96 ^c	36.44±1.14 ^b	20.15±1.07 ^c	26.49±1.33 ^d
天冬氨酸 Asp	10.06±0.11 ^a	11.09±0.23 ^a	3.37±0.57 ^c	4.28±0.76 ^b	1.28±0.73 ^d	1.78±0.83 ^d
苏氨酸 Thr	10.71±0.93 ^a	10.61±0.77 ^a	8.32±0.33 ^c	9.11±0.51 ^b	7.15±0.69 ^d	8.57±0.73 ^c
丝氨酸 Ser	14.33±1.13 ^a	15.83±1.08 ^a	6.51±2.01 ^c	9.74±0.88 ^b	2.24±0.44 ^c	4.08±0.92 ^d
谷氨酸 Glu	14.87±1.61 ^a	14.64±1.30 ^a	7.35±0.91 ^c	9.21±1.48 ^b	3.59±0.82 ^d	3.95±0.78 ^d
甘氨酸 Gly	18.53±1.21 ^a	18.56±1.11 ^a	13.95±0.19 ^b	14.72±1.57 ^b	10.10±1.06 ^c	10.82±0.78 ^c
丙氨酸 Ala	52.17±2.44 ^a	53.53±2.13 ^a	26.35±1.16 ^d	45.52±2.88 ^b	20.24±1.78 ^c	33.25±2.01 ^c
γ-氨基丁酸 GABA	2.32±0.21 ^a	2.42±0.27 ^a	1.18±0.22 ^b	1.01±0.36 ^b	0.28±0.04 ^c	0.29±0.11 ^c
缬氨酸 Val	16.10±0.67 ^a	15.08±0.77 ^a	14.09±0.54 ^b	13.67±0.83 ^b	12.51±0.45 ^c	11.94±0.62 ^c
甲硫氨酸 Met	29.62±2.11 ^a	28.35±2.45 ^a	12.57±1.77 ^c	18.16±1.07 ^b	4.80±1.48 ^d	4.12±1.36 ^d
半胱氨酸 Cys	1.16±0.22 ^b	1.51±0.07 ^a	0.56±0.10 ^c	0.73±0.09 ^b	0.05±0.01 ^d	0.09±0.02 ^d
异亮氨酸 Ile	20.36±1.82 ^a	20.95±2.06 ^a	10.57±1.55 ^c	13.38±2.01 ^b	3.85±1.07 ^d	3.91±0.96 ^d
亮氨酸 Leu	15.45±1.27 ^a	15.56±1.36 ^a	12.23±1.53 ^c	13.82±0.79 ^b	10.27±1.00 ^c	11.24±1.11 ^d
酪氨酸 Tyr	9.96±1.07 ^a	9.40±0.97 ^a	7.58±0.93 ^c	8.27±0.65 ^b	6.13±0.66 ^d	5.98±0.58 ^d
苯丙氨酸 Phe	28.56±2.78 ^a	27.90±2.66 ^a	18.37±1.77 ^c	20.89±2.21 ^b	10.02±1.06 ^d	9.86±0.99 ^d
鸟氨酸 Orn	8.05±0.76 ^a	7.82±0.65 ^a	2.94±1.18 ^c	4.42±1.52 ^b	0.39±0.11 ^d	0.48±0.14 ^d
赖氨酸 Lys	25.20±2.21 ^a	24.98±1.96 ^a	19.45±1.32 ^c	21.57±0.69 ^b	13.84±0.77 ^d	19.49±0.94 ^c
组氨酸 His	23.42±1.78 ^a	24.06±1.65 ^a	13.78±0.99 ^c	16.33±1.66 ^b	2.18±0.21 ^c	8.97±0.57 ^d
精氨酸 Arg	6.01±0.76 ^a	5.71±0.69 ^a	2.12±0.99 ^c	3.37±0.58 ^b	0.24±0.09 ^d	0.61±0.11 ^d

注:同行不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

Notes: Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$).

表 3 三文鱼脂肪酸的变化
Tab. 3 Change of fatty acid in salmon

	mg/100g					
	0D		5D		9D	
	L-C-	L+C+	L-C-	L+C+	L-C-	L+C+
月桂酸 C12:0	1.75±0.23 ^a	1.79±0.33 ^a	1.06±0.18 ^c	1.27±0.22 ^b	0.42±0.06 ^c	0.58±0.10 ^b
十三烷酸 C13:0	0.34±0.06 ^a	0.41±0.09 ^a	0.40±0.11 ^a	0.41±0.07 ^a	0.38±0.08 ^a	0.43±0.08 ^a
肉蔻酸 C14:0	0	0	0.05±0.03 ^c	0.15±0.02 ^b	0.12±0.03 ^b	0.22±0.02 ^a
十五烷酸 C15:0	2.41±0.11 ^a	2.53±0.07 ^a	2.37±0.09 ^a	2.41±0.10 ^a	2.32±0.13 ^a	2.43±0.06 ^a
十六烷酸 C16:0	341.35±7.51 ^a	343.61±6.67 ^a	297.53±5.82 ^c	315.62±4.97 ^b	263.14±7.72 ^c	284.98±6.68 ^d
棕榈油酸 C16:1(n-7)	53.64±4.62 ^a	55.91±3.33 ^a	29.79±2.97 ^c	36.54±3.82 ^b	14.21±2.07 ^c	20.09±1.99 ^d
硬脂酸 C18:0	230.37±5.52 ^a	228.45±4.78 ^a	201.62±3.86 ^c	213.77±2.52 ^b	178.79±3.22 ^c	193.90±2.86 ^d
油酸 C18:1(n-9)	298.79±6.82 ^a	303.38±5.56 ^a	223.51±7.11 ^c	237.48±5.33 ^b	159.93±4.32 ^c	170.51±5.21 ^b
亚油酸 C18:2(n-6)	64.64±3.22 ^a	63.66±1.07 ^a	38.29±1.77 ^c	42.96±2.12 ^b	17.48±1.18 ^c	20.22±2.02 ^d
亚麻酸 C18:3(n-3)	48.45±1.08 ^a	47.72±0.99 ^a	44.62±0.97 ^b	45.23±1.22 ^b	41.54±0.72 ^c	40.30±0.86 ^c
花生酸 C20:0	3.74±0.77 ^a	3.77±0.54 ^a	2.53±0.66 ^c	2.85±0.71 ^b	1.99±0.31 ^d	2.04±0.52 ^a
二十碳烯酸 C20:1(n-9)	7.78±0.42 ^a	7.66±0.33 ^a	6.57±0.63 ^c	6.92±0.31 ^b	5.64±0.78 ^c	6.28±0.66 ^d
廿碳五烯酸 C20:5(n-3)	41.08±3.38 ^a	39.14±5.57 ^a	34.43±2.28 ^c	36.74±3.51 ^b	28.09±2.27 ^d	33.70±2.82 ^c
二十二碳五烯酸 C22:5(n-3)	4.25±0.03 ^a	4.23±0.03 ^a	3.98±0.08 ^c	4.14±0.06 ^b	3.72±0.04 ^d	3.98±0.01 ^c
二十二碳六烯酸 C22:6(n-6)	37.62±1.86 ^a	37.56±2.07 ^a	33.72±0.53 ^d	36.29±0.91 ^b	30.92±1.98 ^c	35.17±0.78 ^c

注:同行不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

Notes: Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.7 持水力的变化与组织切片分析

持水力可以反映肌间纤维截留不易流动水流失的能力,通过检测三文鱼的持水力性能可以反映三文鱼肌原蛋白的完整性和三文鱼的变质程度^[24]。经过不同方法处理过的三文鱼贮藏9 d内的持水力变化如图6a所示。在贮藏期间,L-C-组与L+C+组两组的三文鱼的持水力都随贮藏时

间的增加而不断降低。在贮藏0天时,两组三文鱼的持水力并没有表现出明显差异,但是随着贮藏时间的增加,L-C-组三文鱼持水力下降速率远高于L+C+组三文鱼,在贮藏时间达到第7天时,两组表现出明显的差距。这证明姜黄素介导的PDT处理可以保持三文鱼的持水力性能。

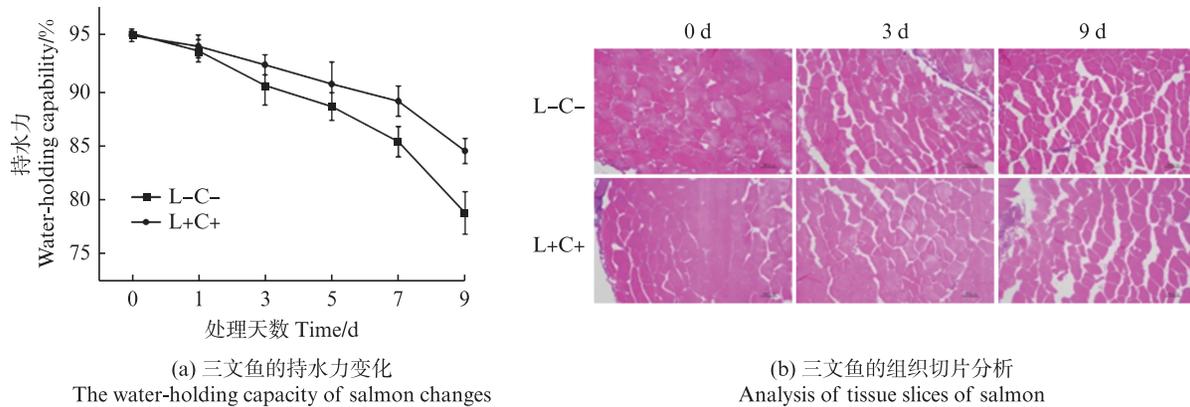


图6 姜黄素光动力对三文鱼在4℃下贮藏9 d的持水力和组织切片的影响

Fig. 6 The effect of curcumin photodynamic therapy on the water holding capacity and tissue sectioning of salmon stored at 4℃ for 9 days

图6b显示了在4℃环境条件下两种不同处理方式的三文鱼贮藏9天的鱼肌肉纤维光镜图像,在贮藏时间0天时,三文鱼肌肉纤维排列紧密,结构完整。当贮藏时间达到3天时,两组都出现了肌纤维轻度分离,肌纤维间隙增大的现象,但L+C+组的稍优于L-C-组。当贮藏时间为9 d时,我们可以观察到,两组三文鱼肉的肌纤维均出现了明显的分离现象,并且肌纤维完整性丧失,其中,L+C+三文鱼的平均肌纤维间隙增加到40.5 μm,L-C-组增加到51.3 μm。因此姜黄素介导的PDT处理三文鱼可以在一定程度上保持肌肉的完整性,延缓肌纤维间隙的增加。

姜黄素介导的PDT通过减少三文鱼中微生物的数量,降低了三文鱼中肌原蛋白等大分子物质的降解速度,保障了三文鱼结构完整性,延缓肌纤维间隙的增加,延缓了三文鱼持水力下降的速度。

2.8 LF-NMR对水分分布研究

低场核磁共振技术(LF-NMR)可以向我们揭示三文鱼中水分的存在状态,水在三文鱼中的变化规律,是评估三文鱼新鲜度的重要指标。如图7a,为我们展示了在4℃环境中贮藏9 d时间

内三文鱼中 T_2 水群迁移弛豫时间分布, T_{21} 是困在蛋白质密集的肌原纤维网络机构中的固定水; T_{22} 代表的是与大分子紧密结合的结合水; T_{23} 则是肌纤维间隙中的自由水,自由水占比的增加,意味着三文鱼的腐败程度增加。随着贮藏时间的增加, T_{22} 的占比不断减少, T_{23} 的占比不断增加。在贮藏时间为0天时,L-C-组与L+C+组三文鱼中3种水分占比无明显变化。当贮藏时间达到第5天之后,两组三文鱼的 T_{23} 占比已经出现明显差距,L+C+组 T_{23} 占比明显低于L-C-组。证明姜黄素介导的PDT处理三文鱼可以延缓三文鱼中固定水和结合水等水分向自由水进行水分迁移^[21]。

磁共振成像(MRI)技术作为LF-NMR技术的一项补充,可以直观展示水分子在食品基质中的空间分布情况^[25]。如图7b所示,两种不同方式处理的三文鱼随着贮藏时间的增加,图片颜色均由红色转变到蓝色,其中L+C+组的样品亮度均高于L-C-组,以上结果说明,随着贮藏时间的增加,两组三文鱼中的均分都在逐渐流失,姜黄素介导的PDT处理也可以延缓三文鱼水分流失的速度,保障三文鱼的品质。这一结果与前面的持水力实验结论相符,这一现象是因为姜黄素介导

的 PDT 减少三文鱼中微生物的数量,抑制内源酶的活性,降低了三文鱼中蛋白质和脂质等大分子

物质的降解速度,保障了三文鱼结构完整性,减少了三文鱼的水分损失。

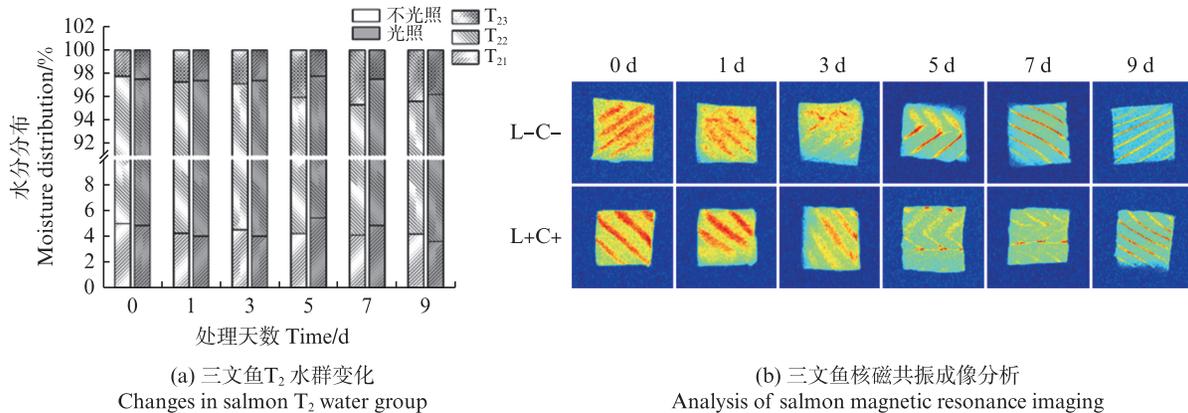


图7 姜黄素光动力对三文鱼的 T₂ 水群和核磁共振成像影响

Fig. 7 Effect of curcumin photodynamic therapy on T₂ water group and magnetic resonance imaging of salmon

3 结论与讨论

在本研究中,姜黄素介导 PDT 成功延长了三文鱼的货架期,对于三文鱼的贮藏起到了积极作用。使用成本低廉的姜黄素联合 LED 光源可以有有效的保障三文鱼在储存期间的品质。本研究通过色差分析、蛋白质凝胶电泳以及游离氨基酸和脂肪酸变化,证明了姜黄素介导的 PDT 处理不会对三文鱼色泽和成分等原有品质造成负面影响。此外,本文还从微生物和内源酶活性的角度深入分析了姜黄素介导 PDT 对三文鱼的保鲜机制,即姜黄素在 PDT 处理过程中产生大量 ROS,这些 ROS 攻击三文鱼上的微生物、ATP 酶和脂肪酶,对微生物和酶中的蛋白质、脂质和核酸等大分子物质造成氧化损伤,破坏它们的结构完整性、降低其活性,从而延缓贮藏期间三文鱼肉中与风味相关的氨基酸的游离氨基酸的降解速率和脂质氧化分解速率,达到保鲜的效果。通过对三文鱼组织结构探究发现,姜黄素介导 PDT 有利于维持三文鱼的肌肉完整性,保持三文鱼的持水能力,通过延缓三文鱼水分的流失达到保鲜的目的。因此,本研究对姜黄素光动力在细菌灭活和水产品保鲜方面的作用提供了新的认识,为其在食品工业中的潜在应用奠定了基础。

作者声明本文无利益冲突

参考文献:

[1] LULIJWA R, ALFARO A C, YOUNG T. Metabolomics

in salmonid aquaculture research: Applications and future perspectives[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2022, 14(2): 547-577.

[2] FIDALGO L G, PINTO C A, DELGADILLO I, et al. Hyperbaric storage of vacuum-packaged fresh Atlantic salmon (*Salmo salar*) loins by evaluation of spoilage microbiota and inoculated surrogate-pathogenic microorganisms[J]. *Food Engineering Reviews*, 2021, 13(3): 651-659.

[3] ANAGNOSTOPOULOS D A, PARLAPANI F F, BOZIARIS I S. The evolution of knowledge on seafood spoilage microbiota from the 20th to the 21st century: Have we finished or just begun?[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 120: 236-247.

[4] CHAN S S, ROTH B, JESSEN F, et al. Water holding properties of Atlantic salmon [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022, 21(1): 477-498.

[5] LIU D, GU W M, WANG L, et al. Photodynamic inactivation and its application in food preservation [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(14): 2042-2056.

[6] SHENG L, LI X R, WANG L X. Photodynamic inactivation in food systems: A review of its application, mechanisms, and future perspective [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 124: 167-181.

[7] YU X P, ZHENG P, ZOU Y, et al. A review on recent advances in LED-based non-thermal technique for food safety: current applications and future trends [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(25): 7692-7707.

[8] PENHA C B, BONIN E, DA SILVA A F, et al. Photodynamic inactivation of foodborne and food spoilage bacteria by curcumin [J]. *LWT-Food Science and*

- Technology, 2017, 76: 198-202.
- [9] YANG Q Q, FARHA A K, KIM G, et al. Antimicrobial and anticancer applications and related mechanisms of curcumin-mediated photodynamic treatments [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 97: 341-354.
- [10] CHEN B W, HUANG J M, LI H H, et al. Eradication of planktonic *Vibrio parahaemolyticus* and its sessile biofilm by curcumin-mediated photodynamic inactivation [J]. Food Control, 2020, 113: 107181.
- [11] 檀利军, 胡钰梅, 陈博文, 等. 姜黄素介导的光动力技术对副溶血性弧菌与腐败希瓦氏菌的杀灭效果[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 83-91.
- TAN L J, HU Y M, CHEN B W, et al. Inactivation of curcumin-mediated photodynamic technology on *Vibrio parahaemolyticus* and *Shewanella putrefaciens* [J]. Food Science, 2022, 43(3): 83-91.
- [12] CHEN L, DONG Q F, SHI Q D, et al. Novel 2, 3-dialdehyde cellulose-based films with photodynamic inactivation potency by incorporating the β -cyclodextrin/curcumin inclusion complex [J]. Biomacromolecules, 2021, 22(7): 2790-2801.
- [13] HUANG J M, CHEN B W, LI H H, et al. Enhanced antibacterial and antibiofilm functions of the curcumin-mediated photodynamic inactivation against *Listeria monocytogenes* [J]. Food Control, 2020, 108: 106886.
- [14] LI Y L, XU Y, LIAO Q M, et al. Synergistic effect of hypocrellin B and curcumin on photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* [J]. Microbial Biotechnology, 2021, 14(2): 692-707.
- [15] LIU F, LI Z J, CAO B 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: 204-210.
- [16] CHEN L, SHI Q D, DONG Q F, et al. Covalent grafting of 5-aminolevulinic acid onto polylactic acid films and their photodynamic potency in preserving salmon [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(1): 905-919.
- [17] PENG Z Y, WANG G C, ZENG Q H, et al. Synthesis, antioxidant and anti-tyrosinase activity of 1, 2, 4-triazole hydrazones as antibrowning agents [J]. Food Chemistry, 2021, 341: 128265.
- [18] WANG J J, LIU G, HUANG Y B, et al. Dissecting the disulfide linkage of the N-terminal domain of HMW 1Dx5 and its contributions to dough functionality [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(30): 6264-6273.
- [19] ZANG J H, XU Y S, XIA W S, et al. The impact of desmin on texture and water-holding capacity of ice-stored grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(2): 464-471.
- [20] WANG M, WANG J J, SUN X H, et al. Preliminary mechanism of acidic electrolyzed water ice on improving the quality and safety of shrimp [J]. Food Chemistry, 2015, 176: 333-341.
- [21] WANG S, XIANG W, FAN H Z, et al. Study on the mobility of water and its correlation with the spoilage process of salmon (*Salmo solar*) stored at 0 and 4 °C by low-field nuclear magnetic resonance (LF NMR ^1H) [J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(1): 173-182.
- [22] NOKES B, APEL M, JONES C, et al. Aminolevulinic acid (ALA): photodynamic detection and potential therapeutic applications [J]. Journal of Surgical Research, 2013, 181(2): 262-271.
- [23] TEIXEIRA B, FIDALGO L, MENDES R, et al. Changes of enzymes activity and protein profiles caused by high-pressure processing in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(11): 2851-2860.
- [24] 郑文雄, 杨榕琳, 水珊珊, 等. 热加工对3种带鱼肌球蛋白功能特性的影响 [J]. 食品科学, 2024, 45(7): 211-217.
- ZHENG W X, YANG R L, SHUI S S, et al. Effect of heat processing on the functional properties of myosin in three kinds of Hairtail [J]. Food Science, 2024, 45(7): 211-217.
- [25] MARCONE M F, WANG S N, ALBABISH W, et al. Diverse food-based applications of nuclear magnetic resonance (NMR) technology [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 729-747.

Study on the preliminary mechanism of curcumin-mediated photodynamic technology to guarantee the quality safety of salmon

ZHANG Han¹, WANG Jingjing^{1,2,3}, ZHAO Yong^{1,2}

(1. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Laboratory of Storage and Preservation Quality and Safety Risk Assessment of Aquatic Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 3. Foshan University, Foshan 528000, Guangdong, China)

Abstract: Salmon is popular among consumers because of its rich nutrition and tender taste, but it is easy to be contaminated by microorganisms during processing and storage, resulting in nutrient loss and tissue structure destruction. In this study, curcumin was used as photosensitizer to preserve salmon by Photodynamic technology (PDT). The bacteriostatic efficiency of curcumin-mediated photodynamics was investigated by detecting the proliferation of microorganisms in salmon treated with PDT, and the mechanism of PDT to guarantee the quality of salmon was preliminatively explored from the perspective of color difference, endogenous enzyme activity, tissue slices and water migration. The results showed that 150 $\mu\text{mol/L}$ curcumin combined with light treatment for 1 h could effectively kill 1.6 $\log_{10}\text{CFU/g}$ microorganisms in salmon. In addition, curcumin-mediated PDT significantly inhibited the activity of ATPase and lipase in salmon, delayed the degradation of free amino acids and free fatty acids, thus guaranteeing the structural integrity and moisture content of salmon, and extended its shelf life by 2 d. This study can provide data and theoretical support for the photodynamic technology to guarantee the quality of salmon, and promote its practical application in the field of food preservation.

Key words: curcumin; photodynamic technology; salmon; freshness preservation

《上海海洋大学学报》第一届青年编委会名单

(按姓氏拼音字母排序)

常 亮	陈雷雷	丁兆阳	董忠典	方 舟
冯志华	高春霞	龚 理	韩雨哲	何云海
胡 鹏	姬南京	焦 阳	李松林	李 昀
梁 箫	廖明玲	林 田	刘必林	鲁康乐
鲁 仙	梅 俊	聂鸿涛	欧阳萍	强 俊
任效忠	石 军	宋 锐	苏国欢	孙乐常
孙钦秀	孙晓杰	孙 诤	唐 浩	汪振华
王 芳	王 浩	王连生	王伟隆	王旭波
王有基	王振华	温 彬	谢诗玮	熊 瑛
徐后国	徐嘉杰	徐永江	许竞翔	薛凌展
杨炳忠	杨胜龙	于爱清	湛垚垚	张 俊
张世勇	张 玮	赵 岩	赵永强	周 成
周建设	周演根	朱江峰		