

#### DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2023081703

1703 CSTR:32061.14.hjhx.2023081703

邹亮, 刘红, 郭萌萌, 等. 2-羟丙基-β-环糊精降低 BDE-47 在紫贻贝中的蓄积并减缓其毒性作用[J]. 环境化学, 2025, 44(2): 666-676. ZOU Liang, LIU Hong, GUO Mengmeng, et al. 2-Hydroxypropy-β-cyclodextrin reduced the accumulation and toxicity of BDE-47 in *Mytilus galloprovincialis*[J]. Environmental Chemistry, 2025, 44 (2): 666-676.

# 2-羟丙基-β-环糊精降低 BDE-47 在紫贻贝中的 蓄积并减缓其毒性作用\*

邹 亮1.2 刘 红1 郭萌萌2 李风铃2 谭志军2.3 耿倩倩2.4 \*\*

(1.上海海洋大学水产与生命学院,上海,201306;2.农业农村部水产品质量安全检测与评价重点实验室,中国水产科学研究院黄海水产研究所,青岛,266071;3.海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室,中国水产科学研究院黄海水产研究所,青岛,266071;4.广东省农产品质量安全风险评估重点实验室,广州,510640)

**摘 要** 四溴联苯醚(BDE-47)因其高蓄积性和多毒性特点,引发严重的生态和健康风险,是国际上 重点关注和管控的新污染物.研究通过比较 BDE-47 单独暴露和 BDE-47+2-羟丙基-β-环糊精(HPCD)联 合暴露处理的紫贻贝消化盲囊、性腺和鳃等组织中 BDE-47 蓄积和消除动态差异,测定氧化应激指标和 组织损伤,结合分子对接模拟,探讨 HPCD 对 BDE-47 蓄积、分布和毒性效应的影响.结果表明,BDE-47 在紫贻贝中的蓄积具有组织特异性;HPCD 可显著降低 BDE-47 在紫贻贝各组织中的蓄积浓度,同时加 快 BDE-47 的消除.HPCD 降低了 BDE-47 在贻贝中的残留风险.GST、SOD、CAT 活性和 GSH、MDA 含 量变化分析表明,HPCD 减轻了 BDE-47 对紫贻贝消化盲囊和性腺的氧化胁迫.BDE-47+HPCD 处理组的 综合生物标志物响应值(IBR)低于 BDE-47 处理组,组织病理损伤也较轻.分子对接显示 HPCD 减轻 BDE-47 对紫贻贝的毒性,可能是基于 HPCD 对 BDE-47 的屏蔽作用.研究结果为 HPCD 在减少海洋生物 污染物积累和消除方面的应用提供数据支持.

**关键词** 四溴联苯醚 (BDE-47), 羟丙基-β-环糊精 (HPCD), 紫贻贝, 蓄积, 毒性. 中图分类号 X-1; O6 文献标识码 A

## 2-Hydroxypropy-β-cyclodextrin reduced the accumulation and toxicity of BDE-47 in *Mytilus galloprovincialis*

ZOU Liang<sup>1,2</sup> LIU Hong<sup>1</sup> GUO Mengmeng<sup>2</sup> LI Fengling<sup>2</sup> TAN Zhijun<sup>2,3</sup> GENG Qianqian<sup>2,4</sup> \*\*

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China; 2. Key Laboratory of Testing and Evaluation for Aquatic Product Safety and Quality, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071, China; 3. State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071, China; 4. Guangdong Provincial Key Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products,

Guangzhou, 510640, China)

<sup>2023</sup> 年 8 月 17 日收稿(Received: August 17, 2023).

<sup>\*</sup> 中国水产科学研究院基本科研业务费(20603022024012,2020TD71),广东省农产品质量安全风险评估重点实验室开放课题 (SZKF202303)和山东省自然科学基金(ZR2020QD093)资助.

**Supported by** the Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS (20603022024012, 2020TD71), the Opening Project of Guangdong Province Key Laboratory of Quality Safety Risk Assessment for Agro-Products (SZKF202303) and Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2020QD093).

<sup>\*\*</sup> 通信联系人 Corresponding author, Tel: 0532-85836348, E-mail: gengqq@ysfri.ac.cn

Tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) is a typical emerging pollutants of international Abstract concern and control due to its high accumulative and multi-toxic characteristics, which poses serious ecological and health risks. To investigate the effects of 2-hydroxypropy- $\beta$ -cyclodextrin (HPCD) on the accumulation, distribution and toxicity of BDE-47, the dynamic differences in the accumulation and elimination of BDE-47 in digestive gland, gonad, gill and other tissues of blue mussel Mytilus galloprovincialis exposed to BDE-47 and BDE-47+HPCD, as well as the oxidative stress indicators and tissue damages, were studied. Molecular docking simulation was used to simulate intermolecular interactions. Results showed that the accumulation of BDE-47 in M.galloprovincialis was tissuespecific; HPCD significantly reduced the accumulation, and accelerated the clearance of BDE-47 in mussel tissues. HPCD reduced the risk of BDE-47 residues in mussels. Changes in GST, SOD, and CAT activity, GSH and MDA content indicated that HPCD alleviated the oxidative stress of BDE-47 on digestive gland and gonad. The integrated biomarker response (IBR) index was lower in the BDE-47+HPCD treatment groups than that of BDE-47, and histopathological damage was also less severe. HPCD reduced the toxicity of BDE-47 to M.galloprovincialis, which may be due to the shielding effect of HPCD on BDE-47, based on molecular docking results. Results of this study could provide data to support the application of HPCD in reducing the accumulation and elimination of pollutants from marine organisms.

Keywords tetrabromodiphenyl ether (BDE-47), 2-hydroxypropy- $\beta$ -cyclodextrin (HPCD), Mytilus galloprovincialis, accumulation, toxicity.

多溴联苯醚(poly brominated diphenyl ethers, PBDEs)是一种广泛应用的添加型溴系阻燃剂,可经产 品的生产、使用和处置回收等途径释放到环境中间,世界范围的水体、土壤、沉积物、大气、动植物甚 至人体中均可检出[2-4]. PBDEs 脂溶性较强,容易在脂肪组织蓄积,并通过食物链放大,具有神经毒 性⑤、肝毒性⑥、免疫毒性⑦、遗传毒性和内分泌干扰效应等⑧,也是潜在的致癌物⑨.2009年,斯德哥尔 摩公约将含有 4—7 个溴原子的 4 种 PBDEs 列入持久性有机污染物名单. BDE-47 是商用 PBDEs 的主 要成分,海洋环境中, BDE-47 是生物利用度最高的低溴代 PBDEs 之一, 约占 PBDEs 总量的 70%, 在水 体和沉积物中浓度高(ND--pg·L<sup>-1</sup>/ND-ng·g<sup>-1</sup>), 生物毒性比其它高溴代 PBDEs 强, 很容易在贝类和鱼 体等海洋生物中累积[10-11]. 贻贝对多数污染物有高蓄积性和耐受性,常作为海洋污染的指示生物,以鉴 别污染物的时空分布特征和毒性作用<sup>[12]</sup>.研究表明, BDE-47 可在多种海洋贝类中蓄积转化并引发毒性 效应[11,13]. 由 BDE-47 引发的生态和健康风险受到广泛关注[14-15].

2-羟丙基-β-环糊精(2-hydroxypropy-β-cyclodextrin, HPCD)是一种 β-环糊精(β-CD)衍生物,具有疏 水性空腔和亲水外围表面,被广泛应用于食品保鲜、药物传递和环境污染治理等领域[16]. HPCD 可以通 过包合、吸附等方式,将污染物包裹在空腔内部,可以促进有机污染物在环境介质中的传递,促进生物 降解;减少污染物与生物的直接作用或将生物体中结合态污染物解吸出来,降低蓄积和毒性作用17.近 年来,环糊精及其衍生物也被添加到阻燃剂中,以增强其性能同时减少阻燃剂组分向环境中释放,在污 染物的减毒和消除方面发挥重要作用, BDE-47 作为多种 PBDEs 代谢物, 在实际环境中极有可能与 HPCD 共存<sup>[18-22]</sup>.

基于以上研究背景,本实验以 BDE-47 污染风险严峻的紫贻贝为研究对象,比较 HPCD 加入后 BDE-47 在贻贝各组织中的蓄积和分布变化,并计算 BDE-47 在贻贝各组织中蓄积和消除的动力学参 数,测定氧化胁迫指标和组织损伤情况,结合分子对接模拟,以揭示 HPCD 对 BDE-47 生物蓄积、消除 和毒性的影响.

### 1 材料与方法(Materials and methods)

#### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 仪器与试剂

一台 Agilent 7890B 气相色谱仪, 配备 μECD 检测器和 DB-5MS 色谱柱(15 m×0.25 mm×0.10 μm). 一台 HS-3345 旋转切片机, 购自金华市华速科技有限公司. BDE-47 标准品(纯度>98%, Wellington Laboratories)购自北京联众行贸易有限公司, BDE-47 粉末(>95%)购自上海源叶生物科技有限公司. 2-羟丙基-β-环糊精(HPCD, >98%)购自北京沃凯生物科技有限公司. Captiva EMR-Lipid 固相萃取柱 (6 mL, 600 mg)购自美国 Agilent Technologies 公司. 乙腈、水和二甲基亚砜(DMSO)等均为 HPLC 级 别, 购自美国 Merck 公司. 超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性、还原型谷胱甘肽 (GSH)和丙二醛(MDA)含量测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所. Bouin's 固定液购自北京兰博 康斯科技有限公司. 其他试剂未作说明均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司.

#### 1.1.2 供试生物

二龄紫贻贝采集自山东青岛胶州湾养殖场,体重(12.7±1.6)g, 壳长(5.4±0.62)cm. 实验开始前, 在 洁净过滤海水中驯养 10 d 以适应实验室条件. 实验用水温度(15.2±1.9)℃, pH 7.98±0.15, 盐度 37.9%± 2.1%(*M*:*M*), 光照/黑暗周期为 14 h/10 h. 期间不间断曝气, 每天定时投喂 1 次螺旋藻粉(0.06% 体重 比), 暂养期间贻贝死亡率<1%.

#### 1.2 实验方法

1.2.1 暴露实验与样本采集

暴露实验:称取 BDE-47 溶于 DMSO 中, 配制 100 μg·mL<sup>-1</sup> 的 BDE-47 储备液, 实验时用海水稀释至 所需刻度. 暂养结束后选取健康且大小均一的紫贻贝, 随机分到 12 只养殖箱中(90 cm×60 cm×30 cm, 装有 50 L 溶液), 每个养殖箱中 60 只. 12 只养殖箱分为 4 组:海水对照组、溶剂对照组、BDE-47 处理 组(10 ng·mL<sup>-1</sup>)和 BDE-47+HPCD 处理组(10 ng·mL<sup>-1</sup> BDE-47+60 ng·mL<sup>-1</sup> HPCD, 物质的量比约为 1:2), 每组设置 3 个重复. 实验在半静态条件下开展, 每 24 h 更换等浓度暴露溶液, 其它条件与暂养时一致.

消除实验:暴露实验后,将紫贻贝转移到洁净海水中净化 10 d 至无 BDE-47 检出,其中 BDE-47+ HPCD 处理组继续添加 60 ng·mL<sup>-1</sup> 的 HPCD 直至实验结束.

1.2.2 样本前处理与仪器分析

在暴露实验开始的第 0、1、3、5、7、14、21、28 d 随机取 12—15 只(每个养殖箱 4—5 只)贻贝,解 剖分离消化盲囊、鳃、性腺、外套膜和闭壳肌等部位,合并同一养殖箱的组织样本,冻干后研磨成粉末 用于 BDE-47 含量测定. BDE-47 含量测定参考耿倩倩和 Komolafe 的方法<sup>[11,23]</sup>,并根据实际情况优化, 具体方法如下:准确称取(0.20±0.01)g冻干粉,加入 10 mL 乙腈-水(80:20, V:V), 1.0 g氯化钠并涡旋 30 s,水浴条件下超声辅助萃取 10 min,之后 4000 r·min<sup>-1</sup>离心 5 min,移取 5 mL 上清液过 Captiva EMR-Lipid 小柱净化,收集萃取液, 40 ℃ 氮气吹干,加入 1 mL 正己烷溶解,过 0.22 µm 滤膜后待测.

仪器分析: 气相色谱(GC)程序升温条件: 100 ℃ 保持 1 min, 20 ℃·min<sup>-1</sup> 升温至 320 ℃ 保持 5 min. 进样量: 1 μL, 进样方式: 不分流. 外标法定量 BDE-47 含量以干重计(μg·g<sup>-1</sup>).

质量控制:同时做方法空白、空白加标和基质加标,以控制整个分析过程的准确度和精密度.

1.2.3 氧化损伤等生化指标测定

基于预实验测定结果,选取暴露 28 d 的 6—10 只贻贝,冰上快速解剖分离消化盲囊和性腺,以 1:9(*V*:*V*)体积比加入遇冷生理盐水匀浆,4 ℃下 5000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取上清液待测;GST 活性测 定采用比色法,以GSH 浓度降低的方式反映;还原型 GSH 含量测定原理是 GSH 可与二硫代二硝基苯 甲酸(DTNB)反应,生成一种黄色化合物,可在 405 nm 下进行比色定量测定;SOD 活性测定以反应体 系中 SOD 抑制率对应的酶量表示,CAT 活性测定采用钼酸铵法,MDA 含量测定使用 TBA,具体测定 方法参照检测试剂盒说明书操作.参考文献 [24] 中方法,将所得指标进行均一化处理,绘制响应星状 图,计算综合生物标志物响应(IBR)指数.贻贝脂肪含量测定采用酸水解法(GB/T 5009.6—2016 食品安 全国家标准食品中脂肪的测定).

1.2.4 组织切片制备

选取暴露 28 d 的 3—5 只贻贝,解剖分离消化盲囊和性腺,置于 Bouin's 固定液中固定 48 h,用于 制备组织病理切片.经梯度乙醇溶液脱水,二甲苯、甲苯和石蜡透明处理,浸蜡和包埋后,将蜡块修整 为 1 cm<sup>3</sup> 左右,在旋转切片机中切成厚度介于 3—5 µm 的切片,之后经过烤片、贴片和苏木精-伊红染 色(H&E 染色)处理后,置于光学显微镜下观察.

1.2.5 分子对接

分子对接用于模拟 BDE-47 与 HPCD 可能的相互作用模式. BDE-47 和 HPCD 的 3D 结构用 Chem Bio Office 构建,将 BDE-47 定义为配体, HPCD 作为受体,在 MMFF94x 力场下将配体和受体分子能量 最小化. 对接时,配体分子构象设为柔性可旋转,迭代次数为 1000 次,梯度测试值为 0.01,根据对接能 量(S值)选择最优得分构象.

1.2.6 蓄积与消除动力学分析

采用 Origin 2021 软件中的一阶非线性蓄积-消除模型, 对每个处理组贻贝组织在各取样时间点的 BDE-47 平均含量进行蓄积和消除动力学拟合<sup>[11]</sup>.首先按照公式(1)计算消除动力学参数(*K*<sub>e</sub>, d<sup>-1</sup>):

$$C_t = C_{t=0} \times \mathrm{e}^{-K_{\mathrm{e}}t} \tag{1}$$

式中,  $C_t$ 是消除实验在时间 t 时贻贝组织中 BDE-47 含量( $ng \cdot g^{-1}$ ),  $C_{t=0}$ 是消除实验开始时对应组织中 BDE-47 的含量( $ng \cdot g^{-1}$ ).

按照公式(2)的非线性回归,计算蓄积速率常数( $K_a$ , mL·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>):

$$C_t = \frac{\mathbf{C} \times K_a}{K_e} \times \left(1 - \mathrm{e}^{-K_e t}\right) \tag{2}$$

式中,  $C_t$ 是蓄积实验在时间 t 时贻贝组织中 BDE-47 含量( $ng \cdot g^{-1}$ ), C 是暴露溶液中 BDE-47 的浓度 ( $ng \cdot mL^{-1}$ ).

按照公式(3)计算消除半衰期(t<sub>1/2</sub>, d):

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_{\rm e}}$$
(3)

动力学来源生物富集因子(BCF<sub>k</sub>, mL·g<sup>-1</sup>)按照公式(4)计算:

$$BCF_{k} = \frac{K_{a}}{K_{e}}$$
(4)

式中, K<sub>a</sub>和 K<sub>e</sub>值分别为计算所得蓄积和消除速率常数.

依据公式(5)计算观测所得生物富集系数(BCF<sub>o</sub>, mL·g<sup>-1</sup>):

$$BCF_{o} = \frac{C_{m}}{C_{w}}$$
(5)

式中,  $C_m$ 为蓄积实验结束时贻贝组织中 BDE-47 平均含量( $ng \cdot g^{-1}$ ),  $C_w$ 为暴露溶液中 BDE-47 实测浓 度( $ng \cdot mL^{-1}$ ).

1.3 数据分析

本研究中实验数据的统计使用 SPSS 20.0 软件, Duncan's 法进行多重比较, 显著水平 P = 0.05, 以均值 $\pm$  SD 值表示, 使用 Origin 2021 软件绘图.

### 2 结果与讨论(Results and discussion)

#### 2.1 HPCD对 BDE-47在贻贝中蓄积、分布和消除的影响

蓄积和代谢消除阶段,对照组和各处理组紫贻贝的生长状态良好,死亡率均<1%.紫贻贝消化盲囊、性腺、鳃、闭壳肌、外套膜和整贝(软组织)中 BDE-47 含量-时间变化如图 1 所示, 拟合所得蓄积和 消除动力学参数列于表 1.



(n=3,含量以干重计算,均值±SD)

**Fig.1** Changes of tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) content in digestive gland, gonad, gill, mantle, adductor muscle and whole mussel (soft tissue) of blue mussel during accumulation and elimination(*n*=3, dry weight, mean ± SD)

表1 BDE-47 处理组第	3DE-47+HPCD 处理组的紫贻贝组织中 BDE-47 的蓄积和消除动力学参数
----------------	---

Table 1	The accumulation and elimination kinetic parameters of BDE-47 in the tissues of blue mussels treated with BDE-47
	and BDE-47+HPCD

组别 Group	组织 Tissue	$K_{\rm e}/{\rm d}^{-1}$	$K_{\mathrm{a}}/(\mathrm{mL}\cdot\mathrm{g}^{-1}\cdot\mathrm{d}^{-1})$	$t_{1/2}/d$	$\text{BCF}_k\!/\!(mL\!\cdot\!g^{-1})$	$BCF_o/(mL \cdot g^{-1})$
	消化盲囊(digestive gland)	0.2447	720.6	2.83	2944.8	5725.5
	性腺(gonad)	0.2595	580.1	2.67	2235.5	5032.2
DDF 47	鳃(gill)	0.5322	913.2	1.30	1715.9	3587.8
BDE-4/	外套膜(mantle)	0.1932	257.9	3.59	1334.9	2898.5
	闭壳肌(adductor muscle)	0.2363	284.0	2.93	1201.9	2365.2
	整贝(whole mussel)	0.2152	428.9	3.22	1993.0	3983.4
	消化盲囊(digestive gland)	0.2875	579.4	2.41	2015.3	4214.8
	性腺(gonad)	0.2521	384.0	2.75	1523.2	3693.9
BDE-47	鳃(gill)	0.6622	840.5	1.05	1269.3	2646.8
+HPCD	外套膜(mantle)	0.3718	423.3	1.86	1138.5	2329.7
	闭壳肌(adductor muscle)	0.2171	203.4	3.19	936.9	2194.7
	整贝(whole mussel)	0.4892	702.2	1.42	1435.4	3092.7

#### (1)BDE-47 蓄积和分布.

暴露开始后 1 d, 紫贻贝各部位均可检测到 BDE-47, 随暴露时间延长, BDE-47 含量均逐渐增大, 至 第 28 天时达到最大值; BDE-47 处理组与 BDE-47+HPCD 处理组蓄积趋势一致: 在暴露阶段 BDE-47 含量持续增加, 至第 28 天仍未观察到平台期, 说明紫贻贝对 BDE-47 的蓄积能力较强; 各取样时间点的 紫贻贝组织中 BDE-47 含量顺序大致为: 消化盲囊>性腺>鳃>闭壳肌和外套膜, 消化盲囊是 BDE-47 蓄积的靶组织.

在蓄积开始阶段(1—5 d), HPCD 对紫贻贝中 BDE-47 的蓄积量无显著影响, 各处理组的 BDE-47 含量接近; 随暴露时间延长, BDE-47+HPCD 处理组的贻贝组织中 BDE-47 含量总体上低于 BDE-47 处理组, 这一现象在消化盲囊和性腺中更为明显, HPCD 降低了 BDE-47 在紫贻贝各组织中的蓄积浓度.

(2)BDE-47 消除特征

在消除阶段的前期, BDE-47 含量降低较为明显, 后期消除速率有不同程度的减缓. 经过 10 d 的消除, 各处理组紫贻贝组织中仍有一定比例的 BDE-47 残留, BDE-47 处理组残留量约为蓄积终点含量的 20.4%—50.7%, BDE-47+HPCD 处理组为 9.0%—20.9%; BDE-47 残留量顺序: BDE-47 处理组, 性腺>鳃> 消化盲囊>闭壳肌>外套膜; BDE-47+HPCD 处理组, 性腺>消化盲囊>外套膜>鳃>闭壳肌. 紫贻贝对 BDE-47 的消除能力较差, BDE-47 在紫贻贝中存在较高的残留风险. 在消除阶段几乎所有时间点的含量均是 BDE-47 处理组>BDE-47+HPCD 处理组, HPCD 促进了紫贻贝对 BDE-47 的消除. 主要表现为 HPCD 加入后, BDE-47 的消除速率 *K*e 值增大, 蓄积速率 *K*a 值和富集系数(BCFk 和 BCF0)降低, 并且具 有更短的消除半衰期(表 1). 紫贻贝整贝(软组织)中 BDE-47 的蓄积和消除的趋势与各组织类似.

BDE-47 在紫贻贝中存在组织特异性蓄积和消除. BDE-47 脂溶性较强, 消化盲囊和性腺脂肪含量 高于其它组织(消化盲囊 13.4%, 性腺 13.7%, 其它组织均<8%, 以干重计), 消化盲囊也是贝类代谢的重 要部位, BDE-47 经鳃等组织吸收后倾向于在这两种组织中蓄积, 其它有机污染物在贻贝中蓄积和分布 的组织差异也被证实<sup>[11,26]</sup>. BDE-47 在贻贝性腺中的高浓度蓄积或可引发贝类繁殖异常. 鳃是 BDE-47 吸收和消除的重要部位, 这与鳃丝有较大的接触表面积和丰富的血管有关. 研究表明, γ-CD 可通过与 全氟烷基辛酸(PFOA)形成包合物, 逆转 PFOA 与血清蛋白(HSA)的结合, 从而降低蓄积<sup>[27]</sup>; 而加入 β-CD 或者氨基键合的 β-CD 也有助于将全氟(2-甲基-3-氧杂己酸, GenX)从 HAS-GenX 复合体中提取 出来, 从而缓解污染<sup>[28]</sup>. 与上述环糊精相似, HPCD 也具有疏水性内腔和亲水外壁, 容易和疏水性的污 染物通过非共价相互作用形成包合物, 改变赋存形态, 降低生物有效性从而降低蓄积; HPCD 也可能逆 转贻贝中 BDE-47 的结合, 促进其代谢消除<sup>[18-19]</sup>. 模拟生物膜吸收研究表明, HPCD 可降低多种有机污 染物的表观渗透率从而降低污染物的吸收量<sup>[29]</sup>, 因此本研究中 HPCD 存在下降低 BDE-47 蓄积和促进 消除作用可能是以上多因素影响的结果.

#### 2.2 HPCD 对 BDE-47 毒性效应的影响

#### 2.2.1 HPCD 对 BDE-47 所致氧化损伤影响

研究表明, BDE-47 暴露可在许多无脊椎动物中引发过氧化应激反应, 并诱导机体的抗氧化防御功能, 保护生物体免受氧化损伤<sup>[25,29-30]</sup>.本研究中, 蓄积 28 d 的消化盲囊和性腺中抗氧化酶活性(GST、SOD 和 CAT) 脂质过氧化生物标记物(MDA)和非酶抗氧化剂(GSH)均受到 BDE-47 和 BDE-47+ HPCD 暴露的影响, 相关结果列于图 2. 与对照组相比, BDE-47 和 BDE-47+HPCD 显著(*P*<0.05)抑制消化盲囊和性腺 GST 活性, 并且 BDE-47 处理组抑制作用较大(图 2A); GSH 含量变化趋势与 GST 一致 (图 2B). BDE-47 和 BDE-47+HPCD 暴露处理的 SOD(图 2C)和 CAT(图 2D)酶活性, MDA(图 2E)含量 均显著(*P*<0.05)高于对照组, 并且前者 MDA 含量的诱导升高作用高于后者.

GST 是一种关键的 II 相解毒酶, GSH 是一种重要的非酶抗氧化剂. GST 催化 GSH 与许多亲电化 学物质结合并生成水溶性物质, 在外源化学物质的抗氧化防御中发挥重要作用. GST 活性的降低表明 生物体无法适应 BDE-47 暴露处理引起的过氧化胁迫, 这与之前关于 PBDEs 等污染物对贻贝暴露胁迫 的研究一致<sup>[31]</sup>. 与 BDE-47 处理组相比, BDE-47+HPCD 暴露处理组 GST 活性和 GSH 含量降低幅度较 小, 说明后者氧化胁迫的程度更低. SOD 是一种重要的抗氧化酶, 因为它能将超氧自由基(O<sup>2-</sup>)分解为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 以消除活性氧(ROS), 保护机体免受氧化损伤. CAT 是消除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的酶, 与 SOD 一起协同作用保 护生物体维持稳态平衡,具有抗炎作用<sup>[32]</sup>. SOD 和 CAT 活性的显著升高说明 BDE-47 诱导 O<sup>2-</sup>生成造 成氧化胁迫; MDA 是生物体内膜脂过氧化的产物, MDA 含量升高意味着 O<sup>2-</sup>并没有被彻底清除,造成 ROS 的积累<sup>[24,33]</sup>. BDE-47+HPCD 处理组 MDA 含量显著低于 BDE-47 处理组,表明 HPCD 减轻了 BDE-47 诱导的氧化胁迫作用. SOD、CAT、MDA 测定结果与 GST、GSH 测定结果一致.

图 2F, 2G 所示为综合生物标志物星图,各指标中以 SOD 的响应值最高,GST、GSH 和 MDA 的响应值相近,CAT 响应值最低.IBR 值可以综合多种生物标志物对污染胁迫的反应,用于评估污染物毒性效应.IBR 值越高,毒性反应越大<sup>[34]</sup>.消化盲囊 BDE-47 和 BDE-47+HPCD 处理组的 IBR 值(图 2F、G 中相邻生物标志物的辐射线围成的星状图面积之和)分别为 3.40 和 1.47,性腺中分别为 1.26 和 0.82.说明 BDE-47 处理组的各生物标志物指标对暴露胁迫的反应更高.氧化应激各项指标和 IBR 值结果说明 HPCD 大幅度降低了 BDE-47 诱导的氧化胁迫和毒性作用.



**图 2** 紫贻贝消化盲囊和性腺中谷胱甘肽-S-转移酶活性(GST, A),还原型谷胱甘肽含量(GSH, B),超氧化物歧化酶 (SOD, C)和过氧化氢酶活性(CAT, D),丙二醛含量变化(MDA, E),综合生物标志物星图(F-消化盲囊, G-性腺) (28 d, n=3,均值±SD, P=0.05)

**Fig.2** Glutathione S-transferase activity (GST, A), glutathione content (GSH, B), superoxide dismutase (SOD, C) and catalase activity (CAT, D), malondialdehyde content change (MDA, E), integrated biomarker star chart (F-digestive gland, G-gonad) in digestive gland and gonad of blue mussel(28 d, *n*=3, mean ± SD, *P*=0.05)

2.2.2 HPCD 对 BDE-47 所致消化盲囊和性腺病理变化的影响

(1)消化盲囊

对照组(图 3A)消化盲囊中可见形态正常的消化管(dt),内含管腔(1)和分泌物(sp),外侧包围着单层或连续的消化细胞和嗜碱性细胞,内壁间质组织呈现"星形"结构,周围连接组织(ct)正常,未发现明显的萎缩或者坏死等结构损伤;BDE-47处理组(图 3B)消化盲囊中观察到明显的消化管萎缩(at),组织脱落(ex),血细胞浸润(hi)和连接组织纤维化(fi)等损伤,内壁间质组织"星形"结构不明显.BDE-47+HPCD处理组(图 3C)消化盲囊表现为消化管萎缩(at),组织脱落(ex)连接组织纤维化(fi),内壁间质组织"星形"结构同样不明显,组织损伤与BDE-47处理组无明显差别.

### (2)性腺

对照组(图 3D)雄性紫贻贝性腺处于生精中期,可见发育正常的精巢组织,大量初级次级精母细胞(\*)

呈辐射状排列,滤泡边界清晰可见; BDE-47处理组(图 3E)精母细胞辐射状排列不规则,且精母细胞数量明显少于对照组,滤泡边界模糊; BDE-47+HPCD处理组(图 3F)精巢组织的滤泡边缘模糊增厚,精母细胞数量和排列和对照组相比变化不大,精巢损伤低于 BDE-47处理组.

对照组(图 3G)可见发育完全的紫贻贝卵巢,表现为结构正常的梨形、圆形或卵圆形的卵细胞(1),大小均一,卵细胞内含细胞核(2)与核仁(3),细胞核比例适中,与核质界限分明,核仁清晰可见,着色较深;卵细胞外有滤泡壁(4)包围,滤泡间隙较小.BDE-47处理组(H)卵细胞数量明显减少,细胞核增大,核仁分散不清晰,且滤泡壁模糊增厚(5),相邻滤泡间隙变大(6).BDE-47+HPCD处理组(图 31)卵细胞数量变化不显著,但也表现为滤泡壁模糊增厚(7)和滤泡间隙增大(8)的现象,损伤程度低于BDE-47暴露组.



图 3 紫贻贝消化盲囊和性腺的组织病理切片照片(28 d, H&E 染色) Fig.3 Histopathological pictures of the digestive gland and gonad of blue mussel (28 d, H&E staining)

研究表明, PBDEs 可诱导双壳贝类的炎症反应并导致消化管等的损伤<sup>[15,35]</sup>. 本研究中消化管萎缩 表现为管腔增大或小管厚度增加, 这是由炎症反应造成的, 消化管内腔组织脱落是由消化细胞坏死引 起的, 血细胞浸润是由于管腔细胞破损, 血细胞进入管腔引发. HPCD 对 BDE-47 蓄积的消化盲囊组织 损伤影响较小, 这可能是由于两个处理组的消化盲囊中均蓄积了较高浓度的 BDE-47 导致的. 基于脊 椎动物的毒性实验表明, BDE-47 具有生殖发育毒性和遗传毒性<sup>[36]</sup>. 本研究中各处理组紫贻贝性腺均有 不同程度的损伤, 比如生殖细胞数量降低等, 说明 BDE-47 可能影响其生殖功能, 由 BDE-47 引发的海 洋无脊椎动物尤其是双壳贝类的生殖功能异常也应当引起足够重视. 组织病理研究结果表明 HPCD 一 定程度上减轻了对紫贻贝消化盲囊和性腺的组织损伤.

### 2.2.3 分子对接

分子对接可直观展示主客体化合物之间的相互作用方式,优选后的包合物构型列于图 4.分子对 接模拟结果表明,BDE-47 分子部分进入 HPCD 空腔,分子在空腔内部折叠,位于空腔居中位置.其中 BDE-47 的部分苯环,醚键和溴原子靠近 HPCD 小口端,部分基团暴露在空腔外部.分子对接模拟计算 BDE-47 和 HPCD 的结合能为-4.16 cal·mol<sup>-1</sup>,说明 BDE-47 和 HPCD 可以形成较为稳定的包合物.基于 分子对接的结果,推测 HPCD 对 BDE-47 蓄积、分布的影响和毒性降低的作用可能是由于 HPCD 对游 离态 BDE-47(暴露溶液中)的屏蔽作用,或对结合态 BDE-47(贻贝组织中)的解吸附作用,降低 BDE-47 的蓄积并加速消除,继而减缓其毒性作用<sup>[19]</sup>.



 图 4 分子对接模拟的 BDE-47 与 HPCD 相互作用空间构型 (a, b-侧视图, c, d-俯视图)
 Fig.4 Optimized structures of BDE-47 included into HPCD (a, b-side view; c, d-top view)

# 3 结论(Conclusion)

(1)BDE-47 在紫贻贝中的蓄积具有组织特异性; HPCD 显著降低 BDE-47 在紫贻贝各组织中的蓄积浓度, 加快 BDE-47 的清除: 加入 HPCD 后, BDE-47 蓄积速率常数(*K*<sub>a</sub>)、消除半衰期(*t*<sub>1/2</sub>)和生物富集因子(BCF<sub>k</sub>, BCF<sub>o</sub>)减小, 消除动力学参数(*K*<sub>e</sub>)增大.

(2) HPCD 减轻了 BDE-47 对紫贻贝消化盲囊和性腺的氧化胁迫和组织损伤; HPCD 降低 BDE-47 在紫贻贝中的残留风险的同时也减轻了 BDE-47 对紫贻贝的毒性.

(3)BDE-47 蓄积、分布和消除动态,以及氧化损伤的结果表明贻贝消化盲囊和性腺组织损伤减轻与 HPCD 降低 BDE-47 的蓄积量并减轻氧化胁迫有关.

(4)分子对接结果表明 HPCD 可能通过对 BDE-47 的屏蔽或者解吸附作用降低 BDE-47 在贻贝中的蓄积,继而减缓其毒性作用.研究结果为 HPCD 在减少海洋生物污染物蓄积和促进消除方面的应用 提供参考.

#### 参考文献 (References)

- [1] ABBASI G, LI L, BREIVIK K. Global historical stocks and emissions of PBDEs[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(11): 6330-6340.
- [2] CHUPEAU Z, MERCIER F, ROUXEL E, et al. Pre- and post-natal exposure of children to organophosphate flame retardants: A nationwide survey in France[J]. Environment International, 2022, 168: 107435.
- [3] PEI J, YAO H, WANG H, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in water, surface sediment, and suspended particulate matter from the Yellow River, China: Levels, spatial and seasonal distribution, and source contribution[J]. Marine Pollution Bulletin, 2018, 129(1): 106-113.
- [4] QI J, WANG X L, FAN L, et al. Levels, distribution, childhood exposure assessment, and influencing factors of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in household dust from nine cities in China[J]. Science of the Total Environment, 2023, 874: 162612.
- [5] ZHUANG J, PAN Z J, QIN Y, et al. Evaluation of BDE-47-induced neurodevelopmental toxicity in zebrafish embryos[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(18): 54022-54034.
- [6] CHEN F, FENG L, ZHENG Y L, et al. 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) induces mitochondrial dysfunction and related liver injury via eliciting miR-34a-5p-mediated mitophagy impairment[J]. Environmental Pollution, 2020, 258: 113693.
- [7] GAO Q, ZHOU Z Y, HE Y N, et al. BDE-47 induces immunotoxicity in RAW<sub>264.7</sub> macrophages through the reactive oxygen speciesmediated mitochondrial apoptotic pathway[J]. Molecules, 2023, 28(5): 2036.
- [8] LEE H J, KIM G B, LEE R F. Genotoxicity and development effects of brominated flame retardant PBDEs and UV-exposed PBDEs on grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) embryo[J]. Marine Pollution Bulletin, 2012, 64(12): 2892-2895.
- [9] XIE B M, LIN X Q, WU K S, et al. Adipose tissue levels of polybrominated diphenyl ethers in relation to prognostic biomarkers and

progression-free survival time of breast cancer patients in eastern area of Southern China: A hospital-based study[J]. Environmental Research, 2023, 216(Pt 4): 114779.

- [10] BELTRÁN E M, GONZÁLEZ-DONCEL M, GARCÍA-MAURIÑO J E, et al. Effects of life cycle exposure to dietary 2,2',4,4'tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on medaka fish (*Oryzias latipes*)[J]. Aquatic Toxicology, 2022, 245: 106133.
- [11] 耿倩倩, 郭萌萌, 李风铃, 等. BDE-47 在紫贻贝中的分布、蓄积、消除和毒性效应 [J]. 中国环境科学, 2022, 42(3): 1385-1393.

GENG Q Q, GUO M M, LI F L, et al. Tissue distribution, accumulation, elimination characteristics and toxicity of 2,2',4,4'tetrabromodiphenyl ether in blue mussel[J]. China Environmental Science, 2022, 42(3): 1385-1393 (in Chinese).

- [12] PROVENZA F, RAMPIH D, PIGNATTELLI S, et al. Mussel watch program for microplastics in the Mediterranean Sea: Identification of biomarkers of exposure using *Mytilus galloprovincialis* [J]. Ecological Indicators, 2022, 142: 109212.
- [13] ESPINOSA RUIZ C, MORGHESE M, RENDA G, et al. Effects of BDE-47 exposure on immune-related parameters of *Mytilus galloprovincialis*[J]. Aquatic Toxicology, 2019, 215: 105266.
- [14] 董梦洁,李兴红.我国典型电子垃圾循环地区人体血清中多溴联苯醚浓度与特征的时间变化趋势 [J].环境化学,2020, 39(6):1504-1512.

DONG M J, LI X H. Temporal changes in the profiles and concentrations of polybrominated diphenyl ethers in human serum collected from a typical e-waste recycling area in China[J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(6): 1504-1512 (in Chinese).

- [15] GENG Q Q, GUO M M, WU H Y, et al. Effects of single and combined exposure to BDE-47 and PFOA on distribution, bioaccumulation, and toxicity in blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*)[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 228: 113014.
- [16] WACŁAWEK S, KRAWCZYK K, SILVESTRI D, et al. Cyclodextrin-based strategies for removal of persistent organic pollutants[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2022, 310: 102807.
- [17] 任佰萍. 环糊精与典型持久性有机污染物的相互作用及对其生物降解的影响 [D]. 大连: 大连理工大学, 2020: 56-60.
  REN B P. Interactions of cyclodextrins with typical persistent organic pollutants and effects of their conjugates on the biodegration of organic pollutants [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2020: 56-60 (in Chinese).
- [18] de FÁTIMA ABREU VENCESLAU A, dos SANTOS F E, de FÁTIMA SILVA A, et al. Cyclodextrins as effective tools to reduce the toxicity of atrazine[J]. Energy, Ecology and Environment, 2018, 3(2): 81-86.
- [19] GENG Q Q, XIE J C, WANG X, et al. Preparation and characterization of butachlor/(2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin inclusion complex: Improve soil mobility and herbicidal activity and decrease fish toxicity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(46): 12198-12205.
- [20] FLISZÁR-NYÚL E, BOCK I, CSEPREGI R, et al. Testing the protective effects of cyclodextrins vs. alternariol-induced acute toxicity in HeLa cells and in zebrafish embryos [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2022, 95: 103965.
- [21] LUDA M P, ZANETTI M. Cyclodextrins and cyclodextrin derivatives as green char promoters in flame retardants formulations for polymeric materials. A review [J]. Polymers, 2019, 11(4): 664.
- [22] 王银,罗姣,王光辉.甘氨酸-β-环糊精对西玛津和镉的毒性影响研究 [J]. 环境污染与防治, 2014, 36(2): 19-22.
  WANG Y, LUO J, WANG G H. Study on the effect of glycine-β-cyclodextrin on toxicity of simazine and Cd[J]. Environmental Pollution & Control, 2014, 36(2): 19-22 (in Chinese).
- [23] KOMOLAFE O, BOWLER B, DOLFING J, et al. Quantification of polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners in wastewater by gas chromatography with electron capture detector (GC-ECD)[J]. Analytical Methods, 2019, 11(27): 3474-3482.
- [24] 迟潇,陈碧鹃,孙雪梅,等. 基于 IBR 模型研究 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎的毒性效应 [J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4): 192-202.

CHI X, CHEN B J, SUN X M, et al. Toxic effects of BDE-47 and BDE-153 on *Cynoglossus semilaevis* Gunther based on IBR model[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(4): 192-202 (in Chinese).

- [25] LIU C C, WANG B Y, ZHOU B, et al. The responses of *Oncorhynchus mykiss* coping with BDE-47 stress via PXR-mediated detoxification and Nrf2-mediated antioxidation system[J]. Aquatic Toxicology, 2019, 207: 63-71.
- [26] LARSSON J, SMOLARZ K, ŚWIEŻAK J, et al. Multi biomarker analysis of pollution effect on resident populations of blue mussels from the Baltic Sea[J]. Aquatic Toxicology, 2018, 198: 240-256.
- [27] WEI X J, WANG Q, LIU C. Nanopore sensing of γ-cyclodextrin induced host-guest interaction to reverse the binding of perfluorooctanoic acid to human serum albumin[J]. Proteomics, 2022, 22(5/6): e2100058.
- [28] PERERA N L D, MIKSOVSKA J, O'SHEA K E. Elucidation of specific binding sites and extraction of toxic Gen X from HSA employing cyclodextrin[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 425: 127765.
- [29] 邹德菲.环糊精对有机物的模拟生物膜吸收性能的影响 [D].大连:大连理工大学, 2014: 32-33.
  ZOU D F. Effect of cyclodextrins on mimic bio-membrane absorption of organic chemicals[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2014: 32-33 (in Chinese).

675

- [31] VIDAL-LIÑÁN L, BELLAS J, FUMEGA J, et al. Bioaccumulation of BDE-47 and effects on molecular biomarkers acetylcholinesterase, glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase in *Mytilus galloprovincialis* mussels[J]. Ecotoxicology, 2015, 24(2): 292-300.
- [32] 蒋安祺, 刘慧, 王为木. 纳米 ZnO 对中华圆田螺的氧化应激效应 [J]. 环境化学, 2017, 36(4): 892-897.
  JIANG A Q, LIU H, WANG W M. Oxidative stress of nano ZnO on *Cipangopaludina* cahayensis [J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(4): 892-897 (in Chinese).
- [33] CANLI E G, BAYKOSE A, USLU L H, et al. Changes in energy reserves and responses of some biomarkers in freshwater mussels exposed to metal-oxide nanoparticles [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2023, 98: 104077.
- [34] ZHENG Q, FENG M B, DAI Y. Comparative antioxidant responses in liver of *Carassius auratus* exposed to phthalates: An integrated biomarker approach[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2013, 36(3): 741-749.
- [35] MESSINA C M, ESPINOSA RUIZ C, REGOLI F, et al. BDE-47 exposure modulates cellular responses, oxidative stress and biotransformation related-genes in *Mytilus galloprovincialis* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 107(Pt B): 537-546.
- [36] SONG M Q, WANG Y J, CHEN Z H, et al. Human CYP enzyme-activated genotoxicity of 2, 2', 4, 4'-tetrabromobiphenyl ether in mammalian cells[J]. Chemosphere, 2022, 291: 132784.