

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.08.014

单宁酸改性鱼皮明胶-透明质酸复合微球的 制备及性质研究

刘世龙^{1,2}, 王彦波³, 张龙涛^{1,2}, 侯国华^{1,2}, 郑宝东^{1,2}

(1. 福建农林大学 闽台特色海洋食品加工及营养健康教育部工程研究中心, 福建 福州 350002; 2. 福建农林大学 食品科学学院, 福建 福州 350002; 3. 北京工商大学 食品与健康学院, 北京 100048)

摘要:文章以大黄鱼鱼皮中提取的鱼皮明胶(fish skin gelatin, FSG)为主体材料,通过乳液模板法制备鱼皮明胶-透明质酸(fish skin gelatin-hyaluronic acid, FSG-HA)复合微球,再利用单宁酸(tannic acid, TA)对复合微球混合交联,构建具有高抗氧化及抗菌活性的单宁酸改性鱼皮明胶-透明质酸(FSG-HA/TA)复合微球。采用动态光散射仪、透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)、激光扫描共聚焦显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM)、傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometer, FT-IR)和紫外-可见分光光度计等表征 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的微观形貌和结构,测定其抗氧化及抗菌活性。结果表明:FSG-HA 和 FSG-HA/TA 均表现出球形结构,单宁酸的交联改性降低了 FSG-HA 的粒径分布,增强了鱼皮明胶与透明质酸之间的氢键作用,使微球结构更紧密且均匀;FSG-HA 和 FSG-HA/TA 对 DPPH 自由基和 ABTS 阳离子自由基的清除率具有质量浓度依赖性,清除率最高分别达 93.75% 和 67.63%。此外,改性后 FSG-HA/TA 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制效果显著,尤其是对金黄色葡萄球菌的最高抑菌率达 95%。因此,FSG-HA/TA 具有较强的抗氧化和抗菌性能,作为食品保鲜和生物医药领域的功能性材料具有巨大的应用潜力。

关键词:大黄鱼;鱼皮明胶(FSG);复合微球;抗氧化;抗菌

中图分类号:S609.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2025)08-1098-09

Preparation and properties of tannic acid modified fish skin gelatin-hyaluronic acid composite microspheres

LIU Shilong^{1,2}, WANG Yanbo³, ZHANG Longtao^{1,2}, HOU Guohua^{1,2}, ZHENG Baodong^{1,2}

(1. Engineering Research Centre of Fujian-Taiwan Special Marine Food Processing and Nutrition, Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Fish skin gelatin(FSG) extracted from *Pseudosciaena crocea* skin was used as the main material. Fish skin gelatin-hyaluronic acid(FSG-HA) composite microspheres were prepared by the emulsion template method. Tannic acid(TA) was used to cross-link the microspheres to construct TA-modified fish skin gelatin-hyaluronic acid(FSG-HA/TA) composite microspheres with high antioxidant and antibacterial activities. Dynamic light scattering, transmission electron microscope(TEM), confocal laser scanning microscope(CLSM), Fourier transform infrared spectrometer(FTIR) and ultraviolet-visible absorption spectroscopy were used to characterize the microscopic morphology and structure of FSG-HA and FSG-HA/TA, and their antioxidant and antibacterial activities were deter-

收稿日期:2025-04-08;修回日期:2025-05-16

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2022YFD2101305)

作者简介:刘世龙(2000—),男,河南郑县人,福建农林大学硕士生;

张龙涛(1979—),男,河南南阳人,博士,福建农林大学教授,博士生导师;

侯国华(1993—),男,河南濮阳人,博士,福建农林大学讲师,通信作者,E-mail:hough@fafu.edu.cn.

mined. The results indicated that both FSG-HA and FSG-HA/TA exhibited spherical structures. The cross-linking modification of TA reduced the particle size distribution of FSG-HA microspheres, enhanced the hydrogen bonding between FSG and HA, and made the microsphere structure more compact and uniform. The scavenging rates of FSG-HA and FSG-HA/TA against DPPH radicals and ABTS cationic radicals were concentration-dependent, with the scavenging rates reaching up to 93.75% and 67.63%, respectively. In addition, the modified FSG-HA/TA had significant inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, with the inhibition rate against *Staphylococcus aureus* reaching up to 95%. In summary, FSG-HA/TA composite microspheres have strong antioxidant and antibacterial properties and exhibit significant potential as functional materials in the fields of food preservation and biomedicine.

Key words: *Pseudosciaena crocea*; fish skin gelatin(FSG); composite microspheres; antioxidant; antibacterial

复合微球作为一种新型递送载体,通常由天然聚合物或生物可降解材料制备而成,具有良好的生物相容性和生物降解性,在药物传递、营养成分和活性物质的递送中展现出巨大的潜力。天然聚合物(如明胶、海藻酸盐、壳聚糖等)因来源广泛、无毒且易于生物降解,成为复合微球的常用基础材料。源于鱼皮、鱼骨和鱼鳞等鱼类废弃物的胶原蛋白的致敏性通常低于牛胶原蛋白和猪胶原蛋白,且不受消费者信仰顾忌所影响^[1],故深受食品、化妆品等行业青睐。大黄鱼皮中含有大量胶原蛋白,常用于制备胶原蛋白,可以提高鱼类资源利用率,降低废弃物对环境的污染^[1]。基于明胶的胶体系统通常依赖于交联剂(如 CaCl_2 或戊二醛),但这些传统交联剂在使用过程中可能导致结构解离或具备潜在的毒性问题^[2]。因此,近年来学者们开始探索天然提取物作为交联剂提高明胶胶体体系性能的机理^[3]。

在复合微球的制备过程中,多酚类化合物因具有良好的生理活性和无毒特性,已成为重要的交联剂和功能性添加剂。茶多酚被用于增强胶原蛋白与藻酸盐的交联,显著提高了其贮藏稳定性,其抗氧化活性能持续 6 个月^[3]。此外,异鼠李素 A 也作为交联剂在明胶水凝胶中提供了抗氧化和抗菌特性^[4]。多酚类化合物能够显著增强复合微球的生物活性,并赋予其抗氧化、抗菌等有益功能。

单宁酸(tannic acid, TA)是一种天然多酚化合物,具有丰富的羟基,可通过络合、氢键、静电相互作用和 π - π 堆积等与蛋白质、多糖等大分子相互作用^[5],赋予体系抗氧化、抗菌和抗炎等多种生物活性^[6]。有研究将其用作交联剂交联明胶微球以提高药物装载率,但其粒径较高,可能会限制其

在体内的吸收和生物利用度。透明质酸(hyaluronic acid, HA)是一种天然线性多糖,因其优异的生物相容性和生物降解性被用于各类生物医用材料中^[7]。有研究表明,HA 和 TA 的—OH 基团之间的氢键相互作用能够有效增强凝胶的机械强度,改善复合材料的性能^[8]。

为了拓宽大黄鱼鱼皮明胶(fish skin gelatin, FSG)在食品中的应用,提高复合微球递送体系的性能,本文以鱼皮明胶、透明质酸为原料,采用乳液交联法制备鱼皮明胶-透明质酸(FSG-HA)复合微球,再以单宁酸作为交联剂对其改性制备单宁酸-鱼皮明胶-透明质酸(FSG-HA/TA)复合微球,并对其形态、粒径分布等性质进行表征,通过傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)、紫外-可见分光光度计等对复合微球的结构进行测定,探究复合微球的凝胶交联机制;测定复合微球的抗氧化和抗菌活性。该研究有望为天然蛋白质的胶体系统在食品保鲜及生物医药领域中的应用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

透明质酸(分子量为 200~400 kDa)购于华西生物技术有限公司;单宁酸购于麦克莱恩生化技术有限公司;食用植物调和油购于金龙鱼食品集团有限公司;尼罗蓝 A 购于阿尔法艾莎化学有限公司;聚甘油蓖麻油酸酯购于源叶生物科技有限公司。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌由福建农林大学微生物实验室提供。其他试剂均为分析级。

1.2 仪器与设备

本实验所用仪器与设备有:RCT basic 磁力搅拌器(德国艾卡公司);BSA 系列电子天平(赛

多利斯科学仪器有限公司);Eutsch pH·700 型台式 pH 值测量仪(美国赛默飞世尔科技有限公司);DHG 系列电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);Allegra X-30R 型台式高速离心机(美国贝克曼库尔特有限公司);FDU-1200 冷冻干燥机(上海爱朗仪器有限公司);GF88DA 型高压灭菌器(致微(厦门)仪器有限公司);LRH-70 型生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);FV1200 型激光扫描共聚焦显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM)(日本奥林巴斯株式会社);HT7800 型透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)(日本日立株式会社);Zetasizer Nano 系列粒度电位仪(英国马尔文仪器有限公司);EVOLUTION Pro 型紫外-可见分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司);RF-6000 型荧光分光光度计(日本岛津公司);J-1500 型圆二色谱仪(circular dichroism, CD)(日本分光株式会社);VERTEX 70 型傅里叶变换红外光谱仪(德国布鲁克公司);Synergy H1 型酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);TG 209 F3 型热重分析仪(德国耐驰仪器制造有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 鱼皮明胶的制备

将大黄鱼鱼皮刮去附着的脂肪和异物后,洗净切成小块(0.5 cm×0.5 cm),置于 4℃ 的 0.2 mol/L NaOH 溶液中浸泡 2 h,期间不断搅拌;滤出后用清水冲洗,在室温下置于 0.05 mol/L 盐酸中浸泡 3 h;再将膨胀的鱼皮在 45℃ 的去离子水中浸泡 12 h,期间不断搅拌;滤液减压浓缩、冷冻干燥后即得鱼皮明胶,保存备用。

1.3.2 复合微球的制备

将鱼皮明胶在去离子水中溶胀 2 h,在 40℃ 下加热 10 min,将透明质酸溶液和鱼皮明胶溶液混合,搅拌 30 min,得到 FSG-HA 混合物,混合溶液中透明质酸的质量分数为 0.67%,鱼皮明胶质量分数为 10%。将 1 g 聚甘油蓖麻油酸酯加入到 20 g 大豆油中,搅拌 10 min,以获得均匀的油相;向油相中逐渐加入 2 mL 的 FSG-HA 混合物,再搅拌 10 min,制得乳液体系。

将上述乳液体系在 40℃ 下搅拌 6 h 后离心,加入超纯水洗涤下层沉淀,然后重复洗涤步骤,收集下层沉淀即为 FSG-HA 复合微球,冻干后备用。

向上述乳液体系中加入质量分数为 2.5% 的单宁酸,并在 40℃ 下搅拌 6 h 后离心,加入超纯

水洗涤下层沉淀,然后重复洗涤步骤,收集下层沉淀即为 FSG-HA/TA 复合微球,冻干后备用。

1.3.3 微观形貌和结构的表征

将 50 μL 新鲜配制的 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 分别与 10 μL 尼罗蓝 A 染料混合,染色 30 min 后,将样品置于载玻片上,将载玻片倒置在显微镜载物台上。在激发波长为 633 nm 的 CLSM 下观察 2 种样品的形态。

将冻干的 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 重悬于超纯水中,取 10 μL 滴到铜网上,再用 10 μL 2% 的磷钨酸溶液对样品进行负染。将铜网置于 FEM 进行成像。

将 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 溶液稀释至 0.1 mg/mL,使用马尔文激光粒度分析仪对 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 的粒径和 Zeta 电位进行分析。每个样品测量 3 次,取平均值。

将 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 在超纯水中重新分散至 1 mg/mL,使用紫外-可见光分光光度计在 250~600 nm 的波长范围内进行扫描分析。

使用去离子水将不同交联时间的 FSG-HA/TA 稀释至 0.2 mg/mL,使用荧光分光光度计测定荧光光谱图。激发波长为 280 nm,发射波长范围为 250~600 nm,激发和发射狭缝宽度为 5 nm。

将稀释后的 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 溶液转移至石英比色皿中,并在氮气环境下使用圆二色性光谱仪进行分析,扫描波长范围为 180~260 nm,光程长度为 1 mm,带宽为 1 nm。

在 25℃ 下,使用傅里叶变换红外光谱仪对 TA、FSG-HA/TA 和 FSG-HA 的化学结构进行分析。将冻干样品置于金刚石模块上,在 400~4 000 cm⁻¹ 的扫描范围内记录红外光谱,扫描次数为 32 次,分辨率为 4 cm⁻¹。

1.3.4 热重分析

使用热重分析仪进行热重分析,称取一定质量样品于铝坩埚中,设置升温范围为 30~800℃,升温速率为 20℃/min,氮气流速为 50 mL/min。

1.3.5 抗氧化活性测定

将 1 mL 不同质量浓度的 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 与 1 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液混合,在室温下避光孵育 30 min,在 517 nm 处测量每种混合物的吸光度,实验重复 3 次。DPPH 自由基清除率(D)的计算公式^[9]为:

$$D = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\% \quad (1)$$

其中: A_b 为 DPPH 溶液的吸光度; A_s 为混合物的

吸光度。

将 ABTS (7.90 mmol/L) 和 $K_2S_2O_8$ (2.45 mmol/L) 按体积比 1:1 混合后反应生成 ABTS 阳离子自由基 ($ABTS^+ \cdot$), 然后在室温下避光放置 12~24 h, 备用; 向 3 mL $ABTS^+ \cdot$ 溶液中加入 100 μ L 的 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 后, 混合 10 min, 于 30 $^\circ$ C 下测量混合物吸光度。所有溶液均在制备当天使用, 所有测量均重复 3 次。 $ABTS^+ \cdot$ 清除率 (S) 的计算公式^[10] 为:

$$S = \frac{A_b' - A_s'}{A_b'} \times 100\% \quad (2)$$

其中: A_b' 为 ABTS 阳离子自由基溶液的吸光度; A_s' 为混合物的吸光度。

1.3.6 抗菌活性测定

选择大肠杆菌和金黄色葡萄球菌作为模型菌, 采用抑菌圈法和平板计数法评估 FSG-HA/TA 和 FSG-HA 的抗菌活性。抑菌圈法操作如下: 分别将 FSG-HA/TA 和 FSG-HA (50 mg) 溶解于无菌水中, 制备分散液; 取 100 μ L 细菌悬液 (1×10^5 CFU/mL) 均匀涂布于琼脂平板上; 将直径 10 mm 的滤纸片置于琼脂表面, 将样品分散液涂布于滤纸盘上; 将平板置于 37 $^\circ$ C 下培养 24 h, 然后测量滤纸片周围抑菌圈的直径。

平板计数法操作如下: 将 FSG-HA/TA 和 FSG-HA (50 mg) 溶于细菌悬液 (1×10^5 CFU/mL) 中; 充分混合后, 将细菌悬液置于 37 $^\circ$ C 摇床培养箱中培养 6 h, 将每种细菌悬液 100 μ L 涂布于琼脂平板上。以不含任何微球的细菌悬液作为对照, 将平板置于 37 $^\circ$ C 下培养 24 h, 记录菌落生长情况。抑菌率 (A) 的计算公式^[11] 为:

$$A = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\% \quad (3)$$

其中, C_0 和 C 分别为对照组和实验组的菌落计数。

1.4 数据处理

采用 Origin 2022、GraphPad Prism 9.0 绘图, SPSS 22.0 进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示显著性水平。所有实验均至少进行 3 次, 结果以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的微观形貌表征

TA 中丰富的酚羟基具有很强的氢键形成能力, 使其能够作为交联剂, 用于交联鱼皮明胶和透明质酸^[12]。采用 CLSM、TEM 分析 FSG-HA 和

FSG-HA/TA 的微观形貌, 如图 1 所示。由图 1 可知, FSG-HA 和 FSG-HA/TA 复合微球均呈现规则的球形, 这些微球分布均匀, 无明显聚集, 可能是由于微球之间存在静电相互作用, 从而使微球互相排斥^[13]。

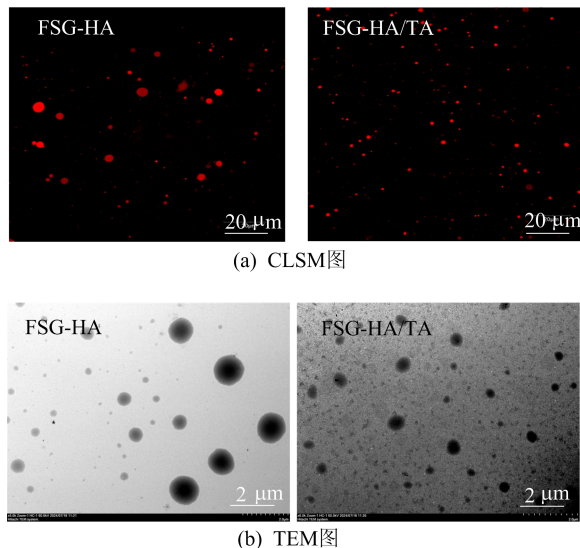


图 1 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的微观形貌

FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的 Zeta 电位和粒径分布如图 2 所示。

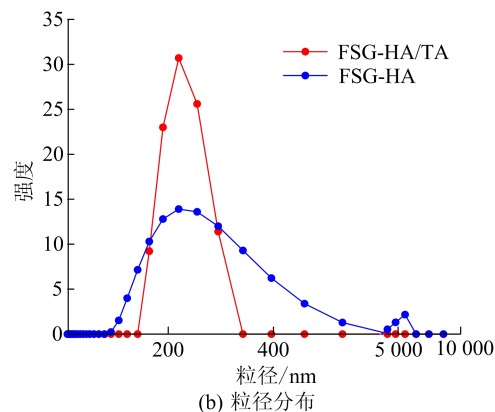
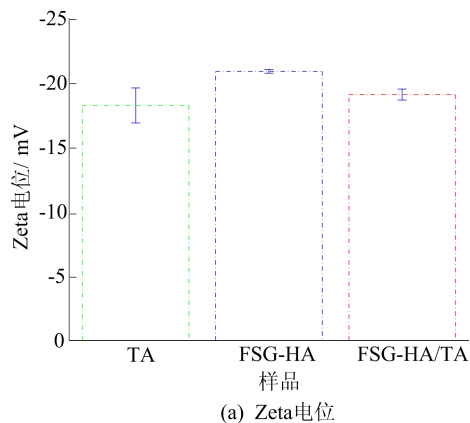


图 2 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的 Zeta 电位和粒径分布

从图 2a 可以看出, FSG-HA 的 Zeta 电位为 (-20.88 ± 0.15) mV, 低于 FSG-HA/TA 的 Zeta 电位 (-19.08 ± 0.43) mV, 表明 TA 参与了微球的形成。从图 2b 可以看出, 与 FSG-HA 平均粒径 (669.68 ± 46.11) nm 相比, FSG-HA/TA 的粒径降低到 (262.06 ± 6.98) nm, 显著低于文献[14]报道的明胶微胶囊粒径 $(74.83 \mu\text{m})$ 。此外, 与 FSG-HA 相比, FSG-HA/TA 粒径分布范围更窄, 表明 TA 交联后微球的粒径更加均匀, 这可能是由于单宁酸与鱼皮明胶和透明质酸之间形成了大量的氢键, 表现出更紧凑的结构[15]。

2.2 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的形成过程

FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的紫外-可见光吸收光谱结果如图 3 所示。

由图 3 可知: FSG-HA 在 300~600 nm 的波长范围内没有吸收峰; 使用 TA 交联后, FSG-HA/TA 在 253、273 nm 波长处出现强吸收峰, 这可能是由于 TA 作为功能基团接枝到 HA 和 FSG 骨架上, 并将酪胺共轭到聚合物骨架上导致的[16-17]。此外, 在 $\text{pH} > 7$ 时, TA 与空气中的氧气反应, 发生部分氧化, 使溶液在 356 nm 处产生新的吸收峰[18]。

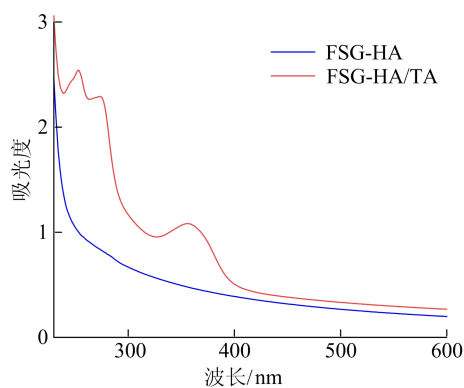


图 3 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的紫外-可见光吸收光谱图

蛋白质与多酚之间的相互作用可用荧光吸收光谱表征, 结果如图 4 所示。

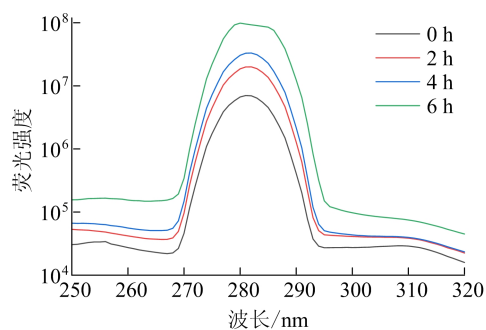


图 4 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的荧光光谱图

从图 4 可以看出, 在向 FSG 与 HA 混合体系中加入 TA 后, 复合微球的荧光强度随反应时间的延长逐渐增强, 表明 TA 与 FSG 之间发生相互作用, 这种相互作用改变了 FSG 结构并暴露出更多的酪氨酸残基, 导致不可逆的结构变化[19-21]。

2.3 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的结构分析

TA、FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的 FTIR 谱图如图 5 所示。由图 5 可知: TA 的特征峰主要出现在 3334 cm^{-1} (O—H 伸缩)、 1705 cm^{-1} (C=O 伸缩)、 1611 cm^{-1} 和 1535 cm^{-1} (C=C 键伸缩)、 1198 cm^{-1} (C—O 键伸缩)、 757 cm^{-1} (C—C 弯曲)[22-24]; FSG-HA 和 FSG-HA/TA 分别在 1743 cm^{-1} 和 1747 cm^{-1} 处出现吸收峰, 这是由于透明质酸与鱼皮明胶反应生成的酯基中的 C=O 键所致[25]; 与 FSG-HA 相比, FSG-HA/TA 的红外光谱中, 酰胺 I 带的 O—H 键吸收峰从 3305 cm^{-1} 移至 3292 cm^{-1} , 酰胺 II 带的 N—H 键吸收峰从 1550 cm^{-1} 移至 1539 cm^{-1} , 这种位移是由于加入的单宁酸与鱼皮明胶和透明质酸之间形成了新的氢键。此外, FSG-HA/TA 在 1182 cm^{-1} 处的特征峰表现出 C—O 伸缩, 这可能是由于 FSG-HA/TA 中存在部分未完全交联的 TA 被包封在微球内部[26-27]。

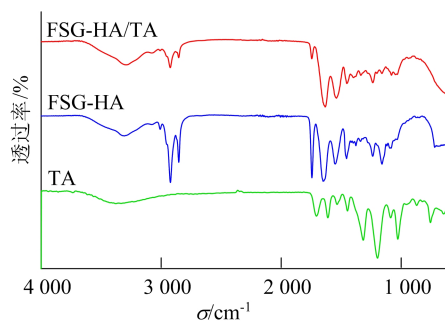


图 5 TA、FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的 FTIR 谱图

采用圆二色谱仪分析 TA 交联对 FSG-HA 二级结构的影响, 鱼皮明胶溶液在 198 nm 处出现负峰, 在 222 nm 处出现正峰, 分别对应无规卷曲构象和三螺旋结构[28]。FSG-HA/TA 和 FSG-HA 的 CD 谱图如图 6 所示, 可以看出, 在 222 nm 附近均缺乏明显的正峰, 表明鱼皮明胶、透明质酸与单宁酸三者之间的交联破坏了三螺旋结构。此外, 与 FSG-HA 相比, FSG-HA/TA 在 198 nm 处的负峰强度显著降低, 表明单宁酸与鱼皮明胶发生了作用, 从而改变了鱼皮明胶的二级结构[29]。本文研究结果与文献[30]结果一致, 结果表明, 具

有酚羟基的化合物可以与多肽链的 C=O 或 N-H 形成氢键,导致氢键网络的改变和蛋白质的 α 螺旋结构的减少。

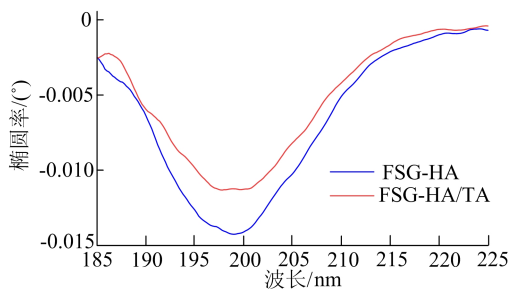


图 6 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的 CD 谱图

2.4 热稳定性分析

本文通过热重分析(thermogravimetric analysis, TGA)研究 FSG-HA/TA 的热稳定性。各复合微球的质量损失曲线以及相应的微商热重分析(derivative thermogravimetric, DTG)曲线如图 7 所示。

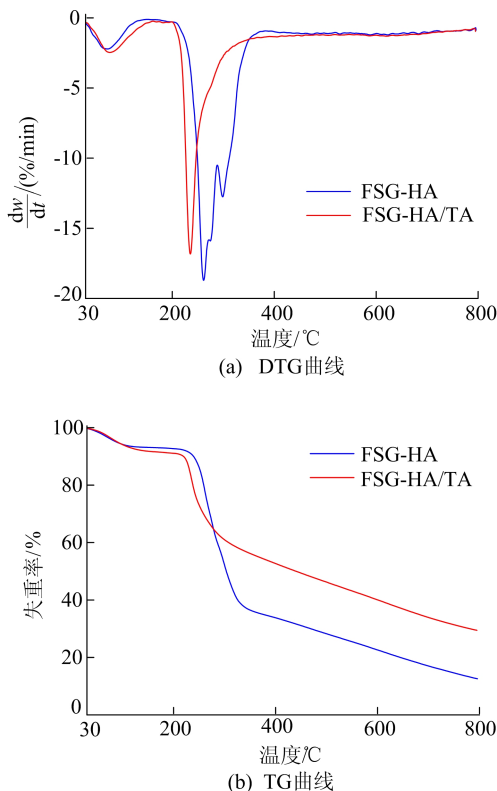


图 7 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的热稳定性分析

从图 7a 可以看出 FSG-HA 的分解主要分为 3 个阶段:第 1 阶段发生在 100 °C 左右,这主要归因于水分的蒸发^[31];第 2 阶段和第 3 阶段分别发生在 220~270 °C 和 288~356 °C。相比之下,

FSG-HA/TA 的分解减少为 2 个阶段,这是由于与 TA 的交联作用削弱了原组分间的相互作用,并使最大分解峰略微转移至较低的温度^[32]。

从图 7b 可以看出,FSG-HA/TA 在氮气中燃烧至 800 °C 后,残余量(29.4%)高于 FSG-HA 的残余量(12.5%)。由此可见,TA 的交联提高了 FSG-HA/TA 的热稳定性。

2.5 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的抗氧化活性

FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的抗氧化活性如图 8 所示。图 8 中: ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$ 。

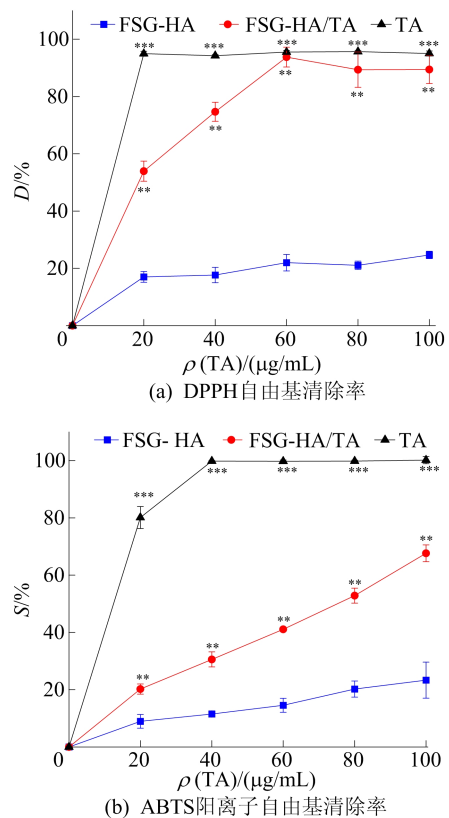


图 8 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的抗氧化活性

从图 8a 可以看出,FSG-HA/TA 对 DPPH 自由基清除率随单宁酸质量浓度的增加而增加,且当单宁酸质量浓度为 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时 DPPH 自由基清除率达到峰值,表现出质量浓度依赖效应;在质量浓度为 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,FSG-HA 和 FSG-HA/TA 对 DPPH 自由基清除率分别为 $(22.00 \pm 2.88)\%$ 和 $(93.75 \pm 3.46)\%$ 。表明使用 TA 交联鱼皮明胶和透明质酸可以增强微球的抗氧化能力,这是由于单宁酸的没食子酰基团具有强大的供氢和供电子能力^[33]。

从图 8b 可以看出,FSG-HA/TA 对 ABTS 阳离子自由基清除率随单宁酸质量浓度的增加而

增加,在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到 67.63%。以上结果表明,单宁酸的交联在增强抗氧化特性方面具有显著作用^[34],单宁酸具有成为强抗氧化特性的蛋白质基胶体体系交联剂的潜力。

2.6 抗菌活性分析

单宁酸的杀菌作用机制主要是通过抑制糖和氨基酸的摄取以及抑制 NorA 外排泵来抑制细菌的生长^[35-36]。FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的抗菌活性如图 9 所示。

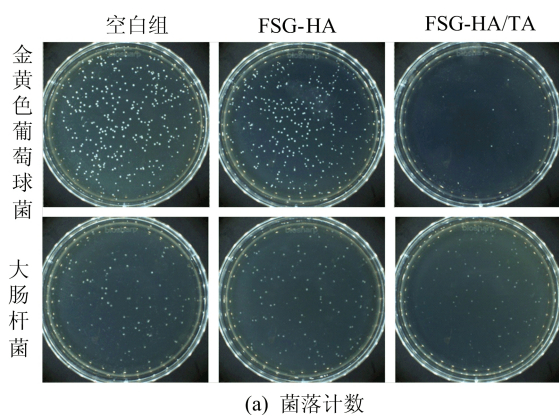
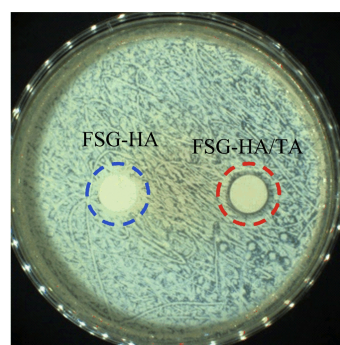


图 9 FSG-HA 和 FSG-HA/TA 的抗菌活性

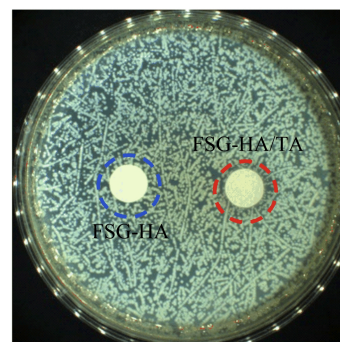
由图 9 可知,FSG-HA 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均未表现出显著的抗菌活性,然而,FSG-HA/TA 可抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长,抑菌率分别为 30%和 95%。

复合微球对不同菌株的抑菌圈直径如图 10 所示。

由图 10 可知,与 FSG-HA 相比,FSG-HA/TA 的抑菌圈直径更大,表明使用 TA 交联增强了复合微球的抗菌活性。复合微球中 TA 的存在抑制了细菌生长,且 TA 对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌的抑制作用强于革兰氏阴性菌大肠杆菌。这是由于 FSG-HA/TA 具有更高的 Zeta 电位,增强了与细菌膜的静电相互作用,从而进一步提高了其抗菌效力^[37]。



(a) 金黄色葡萄球菌



(b) 大肠杆菌

图 10 复合微球对不同菌株的抑菌圈直径

3 结 论

本研究成功制备了基于单宁酸交联改性的 FSG-HA 复合微球,并系统评估了其理化特性。结果表明,在 FSG-HA 复合微球中引入单宁酸,显著提升了其抗氧化能力。在 DPPH 自由基和 ABTS 阳离子自由基清除实验中,FSG-HA/TA 复合微球表现出了质量浓度依赖的抗氧化活性。此外,FSG-HA/TA 复合微球对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌展现显著的抗菌活性,尤其对金黄色葡萄球菌的抑制效果达到 95%。结果表明,FSG-HA/TA 复合微球是一种具有良好抗氧化和抗菌性能的天然蛋白质基胶体系统,该系统可以拓宽大黄鱼皮明胶在食品中的应用范围,在食品保鲜和生物医药领域具有巨大的应用潜力。

[参 考 文 献]

- [1] MO W Y, MAN Y B, WONG M H. Use of food waste, fish waste and food processing waste for China's aquaculture industry: needs and challenge[J]. Science of The Total Environment, 2018, 613/614: 635-643.
- [2] AMJADI S, HAMISHEHKAR H, GHORBANI M. A novel smart PEGylated gelatin nanoparticle for codelivery of doxorubicin and betanin; a strategy for enhancing the thera-

- peutic efficacy of chemotherapy[J]. *Materials Science and Engineering*, 2019, 97: 833-841.
- [3] RUAN J, PEI H, LI T, et al. Preparation and antioxidant activity evaluation of tea polyphenol-collagen-alginate microspheres[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45(2): e15187.
- [4] KIM N, KIM S, KIM T, et al. Ishophloroglucin A-based multifunctional oxidized alginate/gelatin hydrogel for accelerating wound healing[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 245: 125484.
- [5] YI K, CHENG G, XING F. Gelatin/tannin complex nanospheres via molecular assembly[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2006, 101(5): 3125-3130.
- [6] JING W, XIAOLAN C, YU C, et al. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 154: 113561.
- [7] LI Z, ZHANG L, SHAN Y, et al. Fabrication of high internal phase emulsions (HIPEs) using pea protein isolate-hyaluronic acid-tannic acid complexes; application of curcumin-loaded HIPEs as edible inks for 3D food printing[J]. *Food Chemistry*, 2024, 460: 140402.
- [8] GWAK M A, HONG B M, PARK W H. Hyaluronic acid/tannic acid hydrogel sunscreen with excellent anti-UV, antioxidant, and cooling effects[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 191: 918-924.
- [9] ZENG Y, MAO S, HUANG B, et al. Formation of tannic acid-binding ovalbumin amyloid fibril hydrogels; enhanced antibacterial and antioxidant properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 156: 110333.
- [10] DUDONNÉ S, VITRAC X, COUTIÈR E P, et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(5): 1768-1774.
- [11] National Committee for Clinical Standards. Performance standards for antibacterial disk susceptibility tests; M2-A6; S[S]. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
- [12] ZUO T, LYU B, GAO D, et al. Reinforcing and protecting leather-based relics using gelatin/tannic acid composites [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 277: 134184.
- [13] LUPO B, MAESTRO A, PORRAS M, et al. Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate cocoa polyphenols[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 38: 56-65.
- [14] 朱贵琴, 朱月, 陈滕, 等. 单宁酸交联明胶微球的制备及载药性能研究[J]. *山东化工*, 2024, 53(14): 12-16.
- [15] CHANG K, LIAO H, CHEN J. Preparation and characterization of gelatin/hyaluronic acid cryogels for adipose tissue engineering; *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(11): 9012-9026.
- [16] EREL-UNAL I, SUKHISHVILI S A. Hydrogen-bonded multilayers of a neutral polymer and a polyphenol [J]. *Macromolecules*, 2008, 41(11): 3962-3970.
- [17] MOGHADDAM M M, JOOYBAR E, IMANI R, et al. Development of injectable microgel-based scaffolds via enzymatic cross-linking of hyaluronic acid-tyramine/gelatin-tyramine for potential bone tissue engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 279: 135176.
- [18] MENEZES M D L L, PIRES N D R, DA CUNHA P L R, et al. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2019, 19: 7-15.
- [19] ACHARYA D P, SANGUANSRI L, AUGUSTIN M A. Binding of resveratrol with sodium caseinate in aqueous solutions[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2): 1050-1054.
- [20] JIANG Z H, HUANGFU Y P, JIANG L, et al. Structure and functional properties of whey protein conjugated with carboxymethyl cellulose through maillard reaction [J]. *LWT*, 2023, 174: 114406.
- [21] YANG T, YANG H, FAN Y, et al. Interactions of quercetin, curcumin, epigallocatechin gallate and folic acid with gelatin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: 124-131.
- [22] LI N, YANG X, LIU W, et al. Tannic acid cross-linked polysaccharide-based multifunctional hemostatic microparticles for the regulation of rapid wound healing[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2018, 18(11): 1800209.
- [23] LIANG X, CAO K, LI W, et al. Tannic acid-fortified zeinpectin nanoparticles: stability, properties, antioxidant activity, and *in vitro* digestion[J]. *Food Research International*, 2021, 145: 110425.
- [24] TAHERI P, JAHANMARDI R, KOOSHA M, et al. Physical, mechanical and wound healing properties of chitosan/gelatin blend films containing tannic acid and/or bacterial nanocellulose[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 154: 421-432.
- [25] HE S L, ZHOU Z H, PENG C, et al. Morphology and size control of gelatin/hyaluronic acid composite microsphere for drug delivery[J]. *Materials Technology*, 2016, 31(3): 145-152.
- [26] ARUNAGIRI V, TSAI H, DARGE H F, et al. Preparation of physically crosslinked polyelectrolyte Gelatin-Tannic acid- κ -Carrageenan (GTC) microparticles as hemostatic agents[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 191: 324-334.
- [27] YU W, YOU H, LI X, et al. pH-responsive chitosan hollow microspheres pro-flavor based on interfacial Schiff-base bonding for controlled release of cinnamaldehyde[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 156: 110260.
- [28] LIU F, CHIOU B, AVENA-BUSTILLOS R J, et al. Study of combined effects of glycerol and transglutaminase on properties of gelatin films[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 65: 1-9.

- regularized nonlocal self-similarity denoiser for compressive sensing based CT reconstruction[J]. Journal of the Franklin Institute, 2023, 360(6): 4172-4195.
- [4] YANG C, GU Y, CHEN B, et al. 2-D learned proximal gradient algorithm for fast sparse matrix recovery[J]. IEEE Transactions on Circuits and Systems II: Express Briefs, 2021, 68(4): 1492-1496.
- [5] XIA Y, ZHOU L K. Adaptive iterative hard thresholding for low-rank matrix recovery and rank-one measurements [J]. Journal of Complexity, 2023, 76: 1-19.
- [6] FAZEL M. Matrix rank minimization with applications[D]. Stanford; Stanford University, 2002.
- [7] FAZEL M, HINDI H, BOYD S. A rank minimization heuristic with application to minimum order system approximation[C]//Proceedings of the 2001 American Control Conference. Arlington; IEEE, 2001: 4734-4739.
- [8] WRIGHT J, MA Y. High-dimensional data analysis with low-dimensional models: principles, computation, and applications[M]. Cambridge, Eng. : Cambridge University Press, 2018: 151-160.
- [9] RECHT B, FAZEL M, PARILLO P. Guaranteed minimum rank solution of matrix equations via nuclear norm minimization[J]. SIAM Review, 2010, 52(3): 471-501.
- [10] CAI J, CANDÈS E J, SHEN Z. A singular value thresholding algorithm for matrix completion[J]. SIAM Journal on Optimization, 2010, 20(4): 1956-1982.
- [11] XU K, ZHANG Y, XIONG Z. Iterative rank-one matrix completion via singular value decomposition and nuclear norm regularization[J]. Information Sciences, 2021, 578: 574-591.
- [12] ZHAO T, ZHANG Y L, ZHANG L W. The stability of a generalized variational inequality problem with the nuclear norm function [J]. SCIENTIA SINICA Mathematica, 2022, 52(1): 85-104.
- [13] TOH K C, YUN S. An accelerated proximal gradient algorithm for nuclear norm regularized linear least squares problems[J]. Pacific Journal of Optimization, 2010, 6(3): 615-640.
- [14] CANDÈS E J, TAO T. Decoding by linear programming [J]. IEEE Transactions on Information Theory, 2005, 51(11): 4203-4215.
- [15] CAI T T, ZHANG A. Compressed sensing and affine rank minimization under restricted isometry[J]. IEEE Transactions on Signal Processing, 2013, 61(13): 3279-3290.
- [16] GOLDFARB D, MA S Q. Convergence of fixed-point continuation algorithms for matrix rank minimization [J]. Foundations of Computational Mathematics, 2011, 11(2): 183-210.
- [17] WANG J, KWON S, SHIM B. Near optimal bound of orthogonal matching pursuit using restricted isometric constant[J]. EURASIP Journal on Advances in Signal Processing, 2012, 1: 1-7.
- [18] FOUCART S, SUBRAMANIAN S. Iterative hard thresholding for low-rank recovery from rank-one projections [J]. Linear Algebra and its Applications, 2019, 572: 117-134.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 1105 页)

- [29] RUAN C, KONG J, HE X, et al. Interaction between polyphenols and amyloids; from the view of prevention of protein misfolding disorders related diseases[J]. Food Materials Research, 2022, 2(1): 1-15.
- [30] XU J, WANG Q, YU J, et al. Effect of Fe(III) on soybean protein-gallic acid hydrogel: structure, functional properties, and digestive properties [J]. Food Hydrocolloids, 2024, 156: 110309.
- [31] BAZMANDEH A Z, MIRZAEI E, FADAIE M, et al. Dual spinneret electrospun nanofibrous/gel structure of chitosan-gelatin/chitosan-hyaluronic acid as a wound dressing; *in-vitro* and *in-vivo* studies[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 359-373.
- [32] YAN M, AN X, DUAN S, et al. A comparative study on cross-linking of fibrillar gel prepared by tilapia collagen and hyaluronic acid with EDC/NHS and genipin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 213: 639-650.
- [33] LOU W, CHEN Y, MA H, et al. Antioxidant and α -amylase inhibitory activities of tannic acid[J]. J Food Sci Technol, 2018, 55(9): 3640-3646.
- [34] LI T, WANG L, ZHANG X, et al. Complexation of rice glutelin fibrils with cyanidin-3-O-glucoside at acidic condition; thermal stability, binding mechanism and structural characterization[J]. Food Chemistry, 2021, 363: 130367.
- [35] BELHAOUES S, AMRI S, BENSOUILAH M. Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* link aerial parts[J]. South African Journal of Botany, 2020, 131: 200-205.
- [36] PANDEY A, NEGI P S. Phytochemical composition, *in vitro* antioxidant activity and antibacterial mechanisms of *Neolamarckia cadamba* fruits extracts[J]. Natural Product Research, 2018, 32(10): 1189-1192.
- [37] HE Q, ZHANG L, YANG Z, et al. Antibacterial mechanisms of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus*; alterations in membrane compositions and characteristics[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2022, 75: 102902.

(责任编辑 闫杏丽)