

Ag-HA/TiO₂ 抗菌剂的制备及在大黄鱼中的应用

李超群, 石娟, 周丽萍, 王晴, 娄永江*

(宁波大学 食品与药学学院, 浙江 宁波 315832)

摘要: 为探究载银羟基磷灰石(AgHAp)/二氧化钛(Ag-HA/TiO₂)抗菌剂在水产品中的应用,研究了Ag-HA/TiO₂的结构表征。选取大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为测试菌株,比较了AgHAp和Ag-HA/TiO₂的抗菌性能,并初步判断Ag-HA/TiO₂对水产品特定腐败菌荧光假单胞菌和腐败希瓦氏菌(SSOs)的抗菌率,在此基础上进行了实际应用。测试了抗菌液质量浓度和浸泡时间对大黄鱼的微生物和一级鲜肉标准的影响,结果表明:Ag-HA/TiO₂负载二氧化钛、降低一半银质量分数后,结构晶形基本不变,Ag-HA/TiO₂对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌率为100%,比银质量分数为3.00%的AgHAp要好,且对该2种菌的最小抑菌质量浓度均为312.5 μg/mL;10 mg/mL Ag-HA/TiO₂对SSOs在0.5 h时抑菌率分别为(97.58±3.43)%和100%,作用时间为1 h和1.5 h时均为100%;Ag-HA/TiO₂浸泡液质量浓度越高或大黄鱼浸泡时间越长,对大黄鱼中细菌生长越有明显的抑制效果,且延长大黄鱼一级鲜肉标准的货架期。该研究结果证明,Ag-HA/TiO₂抗菌具有高效性,有望成为一种理想的水产抗菌材料。

关键词: 载银羟基磷灰石;二氧化钛;结构表征;抗菌活性

中图分类号:S983 文章编号:1673-1689(2023)11-0055-08 DOI:10.12441/spyswjs.20210422001

Preparation of Ag-HA/TiO₂ Antibacterial Agent and Application in Large Yellow Croaker

LI Chaoqun, SHI Juan, ZHOU Liping, WANG Qing, LOU Yongjiang*

(College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China)

Abstract: In order to explore the application of silver-loaded hydroxyapatite/titanium dioxide (Ag-HA/TiO₂) antibacterial agent in aquatic products, this study conducted the structural characterization of Ag-HA/TiO₂ and selected *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as the test strains for a comparison between silver-loaded hydroxyapatite (AgHAp) and titanium dioxide (Ag-HA/TiO₂) in antibacterial performance. A preliminary evaluation on the antibacterial rate of Ag-HA/TiO₂ against specific spoilage bacteria(SSOs) in aquatic products was also assessed. Based on these evaluations, the study conducted practical applications to investigate the effects of the antibacterial solution concentration and the soaking time on the microorganisms in large yellow croaker and the standard for Grade I fresh meat. The results showed that Ag-HA/TiO₂ maintained its crystalline structure after loading titanium dioxide and reducing silver content by half. The

收稿日期: 2021-04-22 修回日期: 2021-07-04

基金项目: 浙江省重点研发计划项目(2018C02025)。

* 通信作者: 娄永江(1965—),男,硕士,教授,硕士研究生导师,主要从事水产品加工与保鲜方面的研究。E-mail:louyongjiang@nbu.edu.cn

antibacterial rate of Ag-HA/TiO₂ against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was 100%, which was superior to AgHAp containing 3.00% of silver, and the minimum inhibitory concentration for both strains was 312.5 µg/mL. The antibacterial rates of 10 mg/mL Ag-HA/TiO₂ against SSOs-pseudomonas fluorescens and shewanella putrefaciens at 0.5 h were (97.58±3.43) % and 100% respectively, reaching 100% at 1 h and 1.5 h. As the Ag-HA/TiO₂ was applied to large yellow croaker, higher concentration of soaking solution or longer soaking time resulted in more pronounced inhibition effect on the growth of bacteria in large yellow croaker, extending the standard shelf life for Grade I fresh meat of large yellow croaker. The study demonstrates the high antibacterial effectiveness of Ag-HA/TiO₂ and suggests its potential as an ideal antibacterial agent for aquatic products.

Keywords: silver-loaded hydroxyapatites; titanium dioxide; structural characterization; antibacterial activity

大黄鱼肉嫩味鲜,富含蛋白质、维生素及微量元素等,是我国六大优势养殖水产品 and 主要海产经济鱼类之一^[1-3]。海水鱼在内源性酶降解、脂肪氧化和微生物作用下,极易腐败变质,其中微生物生长及代谢起决定性作用^[4]。随着人们生活水平的提高,食品安全性已成为各国普遍关注的重大问题,为了避免食物致病菌威胁人体健康,研发绿色、高效、环保的抗菌剂对海产品的鲜度保持、储存和销售有着十分重要的意义^[1,5]。生物抗菌剂的有效成分含量低、天然成分提取难度大、成本高^[6],因此探索安全有效的新型复合无机抗菌剂正成为研究热点,但目前相关报道还较少。

在自然界中很多金属离子具有抑制和杀灭微生物的作用,其中银离子在所有金属离子中抗菌能力最强,浓度低、效果好、安全无毒^[7]。载银羟基磷灰石(AgHAp)在医学和陶瓷等抗菌处理中广泛应用,且有研究证明载银羟基磷灰石(AgHAp)具有缓释性、抗菌持久性和生物安全性等特点^[8-10],但目前还需进一步探索银纳米材料新的应用领域。

由于银价格昂贵,在光照和紫外线条件下其抗菌效果会降低,导致载银羟基磷灰石的应用受到很大限制^[5]。二氧化钛(TiO₂)作为食品添加剂和抗菌剂^[11-13],具有光催化能力,成本低,不但可以杀死绝大多数的微生物,还能降低有机污染,在杀菌的过程中不消耗自身体积,具有持久的抗菌性能^[14]。综合AgHAp和TiO₂两者的优点,将银离子与二氧化钛结合在一起,当没有光或紫外线时,银离子单独发

挥抗菌作用;当有光或紫外线时,不仅二氧化钛能发挥光催化作用杀死细菌,而且银离子也能抗菌,因此可制备一种兼具光催化抗菌和金属抗菌功能的新型抗菌剂,既可以降低银含量,同时又能获得更加高效持久的抗菌效果^[5,15]。

作者采用贻贝壳制备的AgHAp和Ag-HA/TiO₂抗菌剂,首先通过X射线衍射(XRD)、傅立叶红外光谱(FTIR)和电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)观察载银羟基磷灰石/二氧化钛(Ag-HA/TiO₂)的结构表征,并探讨了贻贝壳AgHAp和Ag-HA/TiO₂的抗菌性能,以期研究载银羟基磷灰石加入二氧化钛后对其结构和抗菌效果的影响。选用2种常见的水产品特定腐败菌(SSOs)——荧光假单胞菌和腐败希瓦氏菌,研究载银羟基磷灰石/二氧化钛是否对SSOs菌群有抗菌效果,以及载银羟基磷灰石/二氧化钛抗菌材料对大黄鱼中微生物变化的影响,旨在提高贝壳的资源利用率和产品附加值,为Ag-HA/TiO₂抗菌剂在水产品保鲜领域上的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 以贝壳为原料自制的球形羟基磷灰石,送中国科学院宁波材料技术与工程研究所检测为纯羟基磷灰石。

1.1.2 试验菌种 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、腐败希瓦氏

菌 (*Shewanella baltica*)、荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*):均购于中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.1.3 实验试剂 LB 液体培养基、LB 固体培养基、NA 培养基、PCA 培养基:杭州微生物试剂有限公司;硝酸银 (AgNO₃)、二氧化钛 (TiO₂):分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器

涡旋仪 MX-S:美国 Scilogex 公司;X 射线粉末衍射仪 (XRD):D8 Advance, Bruker 公司;智能型傅立叶红外光谱仪 (FTIR):Nicolet 6700, 美国 Thermo Fisher 公司;电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES):SPECTRO ARCOS 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 AgHAp 和 Ag-HA/TiO₂ 的制备 4 g HA 加入 100 mL 水,超声波分散,加入 100 mL 质量浓度为 2 g/L 的硝酸银,常温反应 7 h,过滤,去离子水洗涤,60 ℃烘干,研磨过 300 目筛得载银羟基磷灰石。有光条件下制得灰黑色 AgHAp 粉末样品,避光条件下制得棕黄色 AgHAp 粉末样品。

将 5.3 g 的 TiO₂ 加入 4 g HA,静置 24 h,去离子水清洗,避光环境下加入 50 mL 质量浓度为 2 g/L 的硝酸银反应 7 h,洗涤烘干,研磨过 300 目筛制得 Ag-HA/TiO₂ 复合材料样品。

1.3.2 表征方法

1)XRD 标识 X 射线、Cu-Kα 辐射,波长 0.154 06 nm,电压 40 kV,电流 40 mA,扫描范围 5°~90°,每步扫描时间为 0.2 s,温度 20 ℃,相对湿度 50%。使用高分子样品架将样品用平板玻璃压平,X 射线衍射仪测量。

2)FTIR 溴化钾 (KBr)压片,扫描范围 4 000~400 cm⁻¹,扫描次数为 32 次/min。

3)ICP-OES 将制得的样品各取 0.5 g,根据国标法溶解于 100 mL 稀硝酸 ($V_{\text{硝酸}}:V_{\text{水}}=5:95$) 中,溶解后取 1 mL 定容到 250 mL,之后用 ICP-OES 测试溶液中元素的浓度^[16]。

1.3.3 Ag-HA/TiO₂ 的抗菌性测定

1)AgHAp 和 Ag-HA/TiO₂ 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌性能 分别取 10 mg 的灰黑色和棕黄色 AgHAp、Ag-HA/TiO₂、山梨酸钾放入 10 mL 试管中备用,另准备空白试管做对照^[17]。用 0.9 g/dL 的生理盐水制备菌悬液,进行 10 倍稀释法,选择 2~

3 个适宜稀释度,取 1 mL 菌悬液加入上述试管中。将上述试管在 200 r/min、37 ℃的摇床中摇动 2 h,取 0.1 mL 涂布平板,放入 37 ℃恒温箱中培养 24 h,计菌落总数。

$$I=(C_0-C)/C_0\times 100\%$$

式中: C_0 为空白组实验中的细菌数量,CFU/mL; C 为样品组实验中的细菌数量,CFU/mL; I 为抑菌率,%。

2)Ag-HA/TiO₂ 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度 (MIC) 用 0.9 g/dL 的生理盐水制备 10⁵ CFU/mL 的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌悬液,放入 4 ℃冰箱中备用^[9]。取 0.04 g 的 Ag-HA/TiO₂ 抗菌材料放入试管中,然后加入 2 mL 营养培养液,超声处理使其充分混合,将悬浊液进行连续 6 次两倍稀释,另准备空白试管,只加入 1 mL 营养培养液,然后在每支试管中加入 0.05 mL 的菌悬液。将上述试管置于 37 ℃、200 r/min 的摇床中培养 18~24 h。在培养结束前 1 h 停止摇晃,使悬浊液沉淀,将加抗菌粉体的试管与没有加抗菌粉体的试管做对照,处理液浊度和对比液浊度相等的体系中抗菌剂的质量浓度即为 MIC。

1.3.4 Ag-HA/TiO₂ 对 SSOs 菌种的抗菌性能测定 选用 2 种在水产品中常见的优势细菌——荧光假单胞菌和腐败希瓦氏菌,分别取 10 mg Ag-HA/TiO₂、山梨酸钾放入 10 mL 试管中备用,另准备空白试管做对照。用 0.9 g/dL 的生理盐水制备菌悬液,采用 10 倍稀释法,选择 2~3 个适宜稀释度,取 1 mL 菌悬液加入上述试管中。将上述试管于 200 r/min、30 ℃的摇床中摇动 0.5、1.0、1.5 h。从上述试管中取 0.1 mL 涂布平板,放入 30 ℃恒温箱中,培养 24 h,计菌落总数,抑菌率计算同上。

1.3.5 Ag-HA/TiO₂ 对大黄鱼抑菌性能测定 将若干相同质量的大黄鱼肉块置于 0、0.125、0.25 g/dL 的 Ag-HA/TiO₂ 悬浊液中浸泡 5 min,以及在 0.125 g/dL 的 Ag-HA/TiO₂ 悬浊液中浸泡 0、5、15、25 min,取出沥净水分,按不同的浸泡方法分别装入多个无菌封口袋中,并置于 4 ℃条件下。根据 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》分别测试 1、3、5、7 d 下的菌落总数。

1.4 数据处理

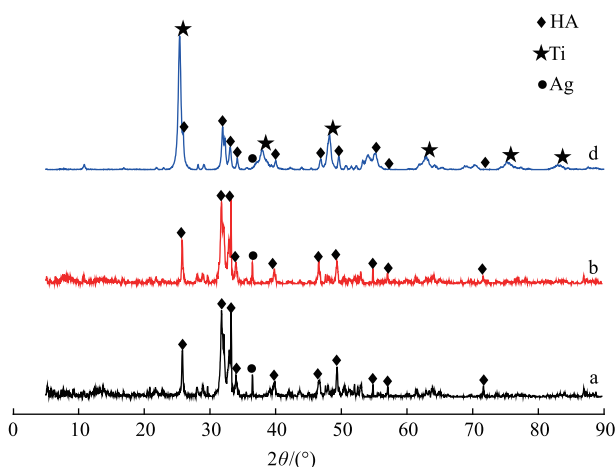
XRD、FTIR、ICP-OES 的数据为中国科学院宁波材料技术与工程研究所测试中心获取。使用 Origin 9.0 及 SPSS 进行作图 and 数据分析处理,每组

实验重复 3 次,图中不同字母代表样品存在显著性差异($P<0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 XRD 表征分析产物结构

如图 1 所示,AgHAp(样品 a、样品 b)的 XRD 图谱与 HA 图谱很相似,在 2θ 为 26° 、 32° 、 34° 、 40° 、 47° 和 50° 附近都有其特征峰,2 个图谱比较相近,说明载银后羟基磷灰石仍然保持原有的晶形结构^[18]。Ag-HA/TiO₂(样品 d)也都有羟基磷灰石的特征峰,说明也保持了原有的晶形结构,但 TiO₂ 特征峰 2θ 为 32° ,与 HA 的特征峰重叠了,说明钙离子部分被银离子取代,导致晶格常数增大^[9]。



a: 灰黑色 AgHAp; b: 棕黄色 AgHAp; d: Ag-HA/TiO₂。

图 1 样品 a、b、d 的 XRD 图谱

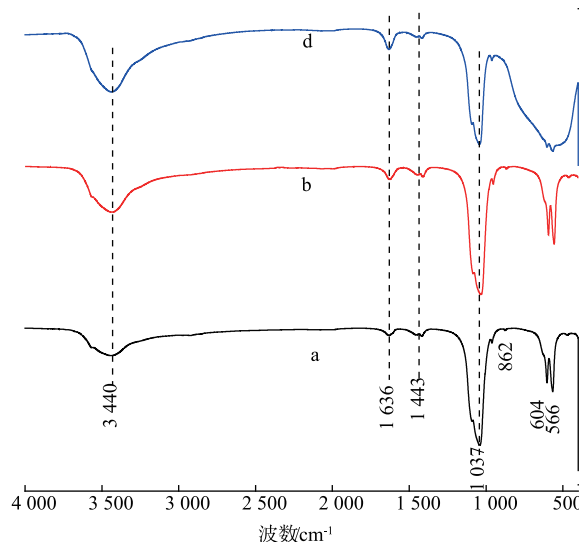
Fig. 1 XRD patterns of samples a, b and d

2.2 FTIR 表征定性分析

图 2 为 AgHAp(样品 a、样品 b)、Ag-HA/TiO₂(样品 d)的红外图谱。在 AgHAp 光谱图中,在 $3\,440$ 、 $1\,636$ 、 $1\,443$ 、 $1\,037$ 、 862 、 604 、 566 cm^{-1} 处存在明显吸收峰,其中 566 、 604 、 862 、 $1\,037\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为 PO_4^{3-} 振动引起;在 $1\,443\text{ cm}^{-1}$ 产生的分裂峰可能由于碳酸进入羟基磷灰石内部造成,是由于空气中的二氧化碳进入反应体系中,替代羟基磷灰石中的羟基产生^[19];在 $1\,636$ 、 $3\,440\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为羟基—OH 吸收峰。这些都说明 AgHAp 基本结构是由羟基磷灰石架构组成。

在 HA 同时载银和 TiO₂ 后,其吸收峰光谱吸收峰位置并没有发生明显改变,但在 862 cm^{-1} 处的吸

收峰消失, 604 cm^{-1} 和 566 cm^{-1} 处的吸收峰强度明显减弱并且呈宽化的趋势,主要是由于 PO_4^{3-} 振动峰与 TiO₂ ($600\sim 400\text{ cm}^{-1}$) 的耦合振动产生,说明 AgHAp 和 TiO₂ 复合效果较好^[5]。



a: 灰黑色 AgHAp; b: 棕黄色 AgHAp; d: Ag-HA/TiO₂。

图 2 样品 a、b、d 的 FTIR 图谱

Fig. 2 FTIR spectra of samples a, b and d

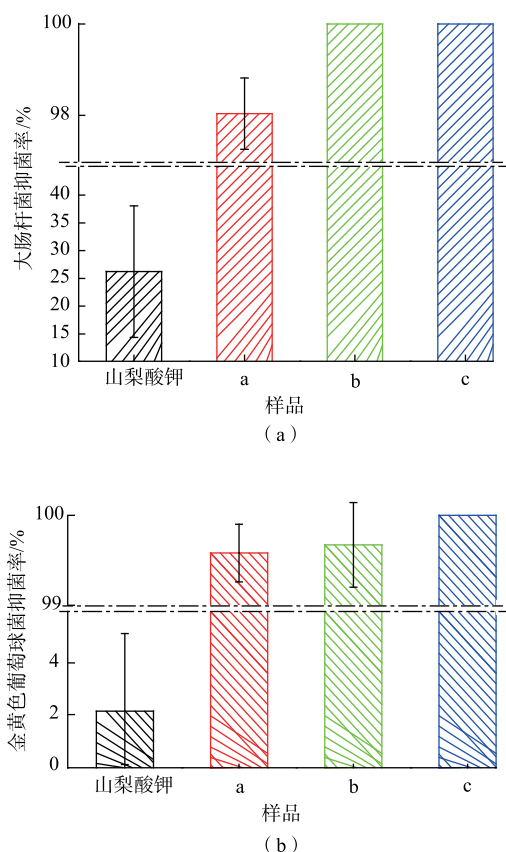
2.3 ICP-OES 表征测定元素质量分数

根据吕国玉^[5]和冯晋阳^[20]等的研究,不管在光照还是无光的情况下,AgHAp 中银离子的质量分数一般在 3.00% 左右。Ag-HA/TiO₂ 中银离子的质量分数为 1.76%,钛离子的质量分数为 31.5%,银离子质量分数明显降低。

2.4 Ag-HA/TiO₂ 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌性能

2.4.1 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果
图 3 为不同实验材料作用于大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌结果。AgHAp(样品 a、样品 b)和 Ag-HA/TiO₂(样品 d)的抗菌效果与山梨酸钾有显著性差异,AgHAp 和 Ag-HA/TiO₂ 之间没有显著性差异,但是灰黑色的 AgHAp(样品 a)抗菌效果略弱于棕黄色的 AgHAp(样品 b)和 Ag-HA/TiO₂,说明银离子在光照条件下变色导致抗菌效果减弱。样品 a 对大肠杆菌的抑菌率为 $(98.04\pm 0.78)\%$,对金黄色葡萄球菌的抑菌率为 $(99.58\pm 0.32)\%$;样品 b 对大肠杆菌的抑菌率为 100%,对金黄色葡萄球菌的抑菌率为 $(99.67\pm 0.47)\%$,与其他研究中钙磷盐和银离子制备的 AgHAp 抗菌效果接近^[21-22],说明贝壳粉 AgHAp

可以代替钙磷盐 AgHAp,达到提高贝壳资源利用率和节约成本的作用。可以看出,Ag-HA/TiO₂ 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率均为 100%, 说明其抗菌效果没有因为银离子质量分数的降低而减弱, 且 TiO₂ 的加入使银离子和 TiO₂ 发挥协同作用获得了更好的抗菌效果, 不仅增强抗菌性, 还可能由于 TiO₂ 对光的吸收作用抑制银离子的变色, 进一步延长 Ag-HA/TiO₂ 的抗菌持久性。



a: 灰黑色 AgHAp; b: 棕黄色 AgHAp; c: Ag-HA/TiO₂。

图 3 不同抗菌粉体对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌效果

Fig. 3 Antibacterial effects of different antibacterial powders on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

2.4.2 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌质量浓度 (MIC) Ag-HA/TiO₂ 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 值均为 312.5 μg/mL, 测试数据符合日本抗菌协会制定的《银等无机抗菌剂的自主规格及其抗菌试验法》中规定的无机抗菌剂抗菌性能要求, MIC 值小于 800 μg/mL^[5,23]。在实际应用中,

高载银量一方面会提高生产成本, 不利于工业化生产。另一方面可能会造成银离子超标, 引起重金属污染^[23], 因此尽量降低载银量。

2.5 Ag-HA/TiO₂ 对荧光假单胞菌和腐败希瓦氏菌的抑菌效果

图 4~5 为 Ag-HA/TiO₂ 和山梨酸钾对荧光假单胞菌和腐败希瓦氏菌抑菌率的柱状图。可以看出, 样品对菌种的抗菌效果随着作用时间的增长没有显著性差异, 但 Ag-HA/TiO₂ 的抗菌效果明显比山梨酸钾的抗菌效果要好。而 Ag-HA/TiO₂ 与荧光假单胞菌的作用时间为 0.5 h 时抑菌率为 (97.58±3.43)%, 1 h 和 1.5 h 时抑菌率为 100%; 与腐败希瓦氏菌在 3 个不同作用时间的抑菌率均为 100%。实验样品的菌落总数显著低于对照样品, 表明 Ag-HA/TiO₂ 抗菌剂对这 2 种水产品特定腐败菌有很强的抑菌作用, 有望成为一种较理想的水产保鲜材料。

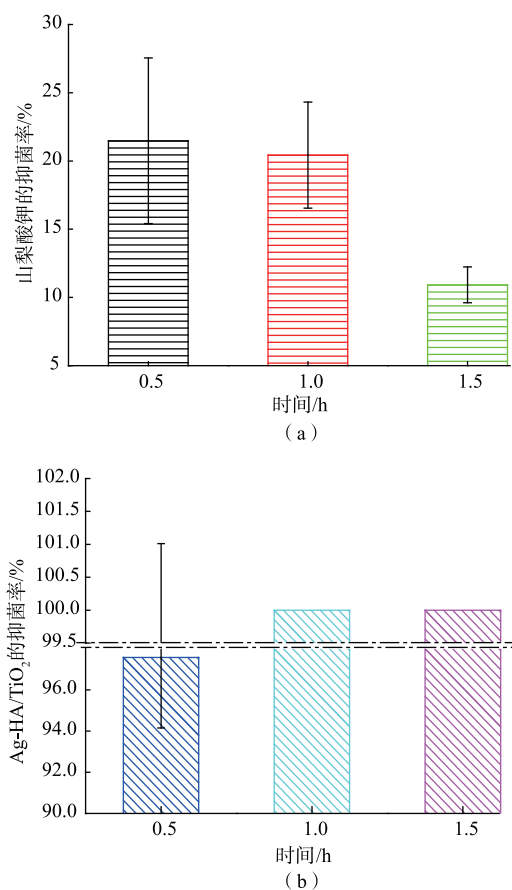


图 4 不同作用时间下样品对荧光假单胞菌的抑菌率

Fig. 4 Inhibition rate of samples against *Pseudomonas fluorescens* under different treated time

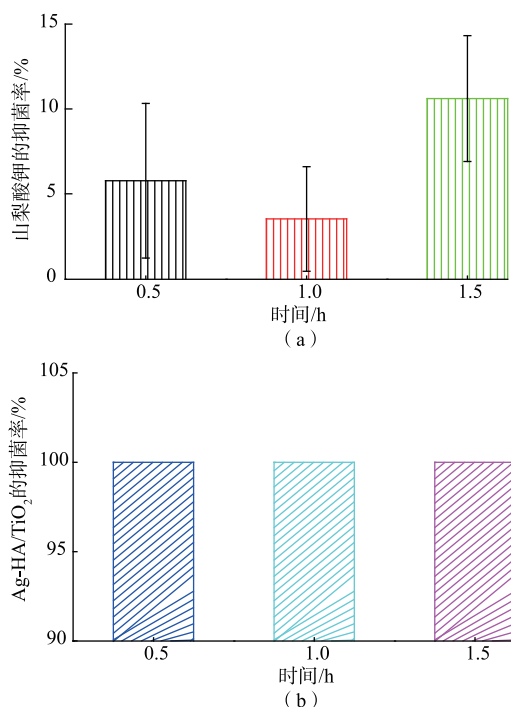


图5 不同作用时间下样品对腐败希瓦氏菌的抑菌率

Fig. 5 Antibacterial rate of samples against *Shewanella putrefaction* under different treated time

2.6 Ag-HA/TiO₂ 处理对大黄鱼中微生物的影响

鱼死后,随着冰藏时间的延长,其体内微生物的增长和繁殖是导致鱼肉腐败变质的主要原因,因此,在贮藏过程中检测鱼肉中微生物动态变化能够反映鱼体新鲜程度^[24]。如图6所示,在贮藏初期,3组的菌落总数相差不大,随着贮藏时间的加长,0 g Ag-HA/TiO₂ 处理后菌落总数在第7天为(5.34±0.1) lg (CFU/g),增长最快;0.125 g Ag-HA/TiO₂ 处理后的菌落总数在第7天为(5.06±0.05) lg (CFU/g);0.250 g Ag-HA/TiO₂ 处理后的菌落总数在第7天为(4.8±0.04) lg (CFU/g),增长最慢,菌落总数也明显低于其他2组,说明在浸泡作用时间同为5 min的情况下,随着 Ag-HA/TiO₂ 质量的增加,抑菌效果变好。0 g 与 0.125、0.250 g Ag-HA/TiO₂ 处理后的大黄鱼具有显著性差异,Ag-HA/TiO₂ 处理后大黄鱼抑制细菌生长效果明显。参考标准规定一级鲜肉菌落总数小于4 lg (CFU/g),0 g Ag-HA/TiO₂ 浸泡的大黄鱼在第1天菌落总数为(4.23±0.04) lg (CFU/g)的情况下,0.25 g Ag-HA/TiO₂ 浸泡的大黄鱼第5天菌落总数为(3.87±0.15) lg (CFU/g),未超过4 lg (CFU/g),延长了一级鲜肉货架期^[25-27]。

由图7可以看出,随着冰藏时间的延长,Ag-HA/TiO₂ 浸泡时间越长抑菌效果越好。浸泡时间为0 min时,在大黄鱼菌落总数为(4.16±0.06) lg (CFU/g)的情况下,浸泡15 min时第1天菌落总数为(3.84±0.04) lg (CFU/g),符合一级鲜肉标准;浸泡25 min时第5天菌落总数为(3.70±0.09) lg (CFU/g),仍未超过一级鲜肉标准,与在0.250 g的Ag-HA/TiO₂ 中浸泡5 min时延长货架期的效果相同。

由图6~7可以看出,经过Ag-HA/TiO₂ 浸泡液处理过的大黄鱼与未经过处理的大黄鱼菌落总数有明显差异,菌落总数在1~5 d抑菌效果明显,且随着质量和时间的增加,在3~5 d菌落总数甚至开始出现下降的情况,证明在这段时间内Ag-HA/TiO₂ 抑制和杀灭细菌的效果最好。

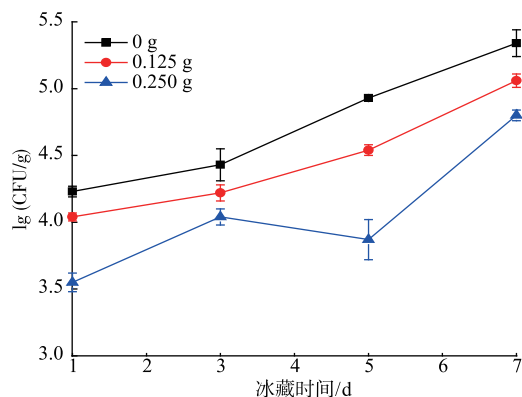


图6 不同质量 Ag-HA/TiO₂ 处理后大黄鱼贮藏期间菌落总数的变化

Fig. 6 Changes of the total number of colonies of large yellow croaker treated with different content of Ag-HA/TiO₂ during storage

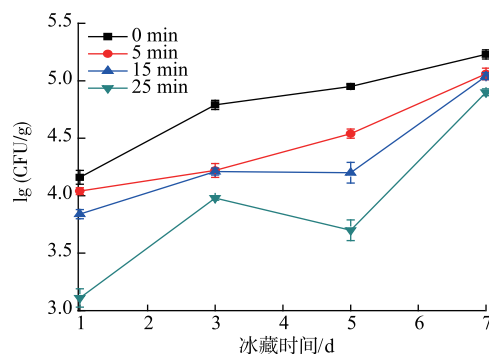


图7 Ag-HA/TiO₂ 处理不同时间大黄鱼后贮藏期间菌落总数的变化

Fig. 7 Changes in the total number of colonies of large yellow croaker treated with Ag-HA/TiO₂ for different time during storage

3 结 语

1) 为了降低 AgHAp 的银离子质量, 同时又能获得高效的抗菌性, 将 AgHAp 和 TiO₂ 结合起来, 制备的 Ag-HA/TiO₂ 的银离子的质量分数降低为 1.76%, 负载银和 TiO₂ 后 HA 晶体结构没有发生明显变化; 贝壳 AgHAp 的抗菌效果与钙磷盐 AgHAp 抗菌效果接近, 解决传统上钙磷盐成本大和废弃贝壳污染环境的问题; Ag-HA/TiO₂ 对大肠杆菌和金黄

色葡萄球菌的抑菌率均为 100%, 最小抑菌质量浓度均为 312.5 $\mu\text{g/mL}$, 效果优于 AgHAp; 10 mg/mL Ag-HA/TiO₂ 作用 0.5 h 时对假单胞菌和希瓦氏菌的抑菌率分别为 $(97.58 \pm 3.43)\%$ 和 100%, 作用时间 1、1.5 h 时抑菌率均为 100%, 抑菌效果强; Ag-HA/TiO₂ 能抑制大黄鱼中细菌的生长, 延长一级鲜肉的货架期, 为食品安全问题提供了有效途径, 但其保鲜能力还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 王玉婷, 邵秀芝, 冀国强. 茶多酚、壳聚糖、柠檬酸复合保鲜大黄鱼的配比优化研究[J]. 食品工业, 2011, 32(6): 41-43.
WANG Y T, SHAO X Z, JI G Q. Study on optimization of formula of tea polyphenol, chitosan and citric acid in compound preservation of pseudosciaena crocea[J]. *The Food Industry*, 2011, 32(6): 41-43. (in Chinese)
- [2] 王晓阳, 郭全友, 姜朝军, 等. 养殖大黄鱼鲜度保持及特定腐败菌特征研究进展[J]. 包装工程, 2020, 41(17): 15-24.
WANG X Y, GUO Q Y, JIANG C J, et al. Advances in research on freshness maintenance and characteristics of specific spoilage organisms of cultured large yellow croaker[J]. *Packaging Engineering*, 2020, 41(17): 15-24. (in Chinese)
- [3] 刘家富. 大黄鱼养殖与生物学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2013.
- [4] LI T T, WANG D F, LIU N, et al. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* by cinnamaldehyde[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 269: 98-106.
- [5] 吕国玉. 载银羟基磷灰石 / 二氧化钛抗菌材料的制备和抗菌性能研究[D]. 成都: 四川大学, 2007.
- [6] 张艳霞, 谢成民, 周纷, 等. 大黄鱼保鲜技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(13): 299-303, 309.
ZHANG Y X, XIE C M, ZHOU F, et al. Research progress on preservation technology of pseudosciaena crocea[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(13): 299-303, 309. (in Chinese)
- [7] MULLIGAN A M, WILSON M, KNOWLES J C. The effect of increasing copper content in phosphate-based glasses on biofilms of *Streptococcus sanguis*[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(10): 1797-1807.
- [8] 徐伏秋, 陈华军, 丁梧秀. 载银羟基磷灰石抗菌粉体和陶瓷的制备及抗菌性能[J]. 无机化学学报, 2013, 29(12): 2582-2586.
XU F Q, CHEN H J, DING W X. Preparation and antibacterial property of Ag-doped hydroxyapatite antibacterial powders and antibacterial ceramic[J]. *Chinese Journal of Inorganic Chemistry*, 2013, 29(12): 2582-2586. (in Chinese)
- [9] 史杏园. 载银羟基磷灰石粉体和抗菌釉的制备及抗菌性能研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2017.
- [10] 卢旻鹏. 载银纳米抗菌复合骨填充材料治疗兔胫骨慢性骨髓炎的实验研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2010.
- [11] WEIR A, WESTERHOFF P, FABRICIUS L, et al. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(4): 2242-2250.
- [12] AMNA T, HASSAN M S, YOUSEF A, et al. Inactivation of foodborne pathogens by NiO/TiO₂ composite nanofibers: a novel biomaterial system[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6(4): 988-996.
- [13] 王露露, 彭珂珂, 侯培磊. 纳米材料在食品领域的生产及应用[J]. 食品工业, 2017, 38(9): 258-260.
WANG L L, PENG K K, HOU P L. Nanomaterials for products and application in food[J]. *The Food Industry*, 2017, 38(9): 258-260. (in Chinese)
- [14] 陈奇, 闫峻, 王玖, 等. 二氧化钛在食品领域的应用及安全性研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2019, 36(10): 938-940.
CHEN Q, YAN J, WANG J, et al. Advances on applications and safety of TiO₂ in food field[J]. *Journal of Environment and Health*, 2019, 36(10): 938-940. (in Chinese)
- [15] 任大军, 尚珊珊. 羟基磷灰石作为催化材料的研究进展[J]. 化学试剂, 2021, 43(1): 28-33.
REN D J, SHANG S S. Progress of hydroxyapatite as catalytic material[J]. *Chemical Reagents*, 2021, 43(1): 28-33. (in Chinese)
- [16] 刘子阳, 耿振, 李朝阳. 牡蛎壳为原料制备医用 CaCO₃/HA 复合生物材料[J]. 无机材料学报, 2020, 35(5): 601-607.
LIU Z Y, GENG Z, LI Z Y. Preparing biomedical CaCO₃/HA composite with oyster shell[J]. *Journal of Inorganic Materials*,

- 2020,35(5):601-607. (in Chinese)
- [17] 叶彬,崔凯,冯庆玲,等. 载银氟磷灰石抗菌剂的制备和耐高温性能研究[J]. 无机材料学报,2003,18(2):485-489.
YE B, CUI K, FENG Q L, et al. Synthesis and high temperature resistance properties of silver loaded fluorapatite antibacterial[J]. **Journal of Inorganic Materials**, 2003, 18(2):485-489. (in Chinese)
- [18] 黄宇玫,李敏,曾芳,等. 鲮鱼鱼鳞提胶残渣制备羟基磷酸钙的工艺[J]. 食品工业,2019,40(4):62-66.
HUANG Y M, LI M, ZENG F, et al. The preparation of hydroxyapatite by gelatin-extracted residue from bighead carp scales[J]. **The Food Industry**, 2019, 40(4):62-66. (in Chinese)
- [19] 卢志华. 羟基磷灰石修饰碳纳米管自组装技术及其复合材料研究[D]. 济南:山东大学,2008.
- [20] 冯晋阳,吴建锋,徐晓虹. 羟基磷灰石抗菌剂的研究[J]. 硅酸盐通报,2004,23(4):6-10.
FENG J Y, WU J F, XU X H. Study on the antibacterial agent of hydroxyapatite[J]. **Bulletin of the Chinese Ceramic Society**, 2004, 23(4):6-10. (in Chinese)
- [21] 李晓爽. 梯度多孔载 Ag 羟基磷灰石基复合陶瓷的制备及性能研究[D]. 锦州:辽宁工业大学,2020.
- [22] CIOBANU C S, MASSUYEAU F, CONSTANTIN L V, et al. Structural and physical properties of antibacterial Ag-doped nano-hydroxyapatite synthesized at 100 °C[J]. **Nanoscale Research Letters**, 2011, 6(1):1-8.
- [23] 邓城. 纳米银 / 羟基磷灰石 / 硅藻土复合陶瓷的制备及性能研究[D]. 赣州:江西理工大学,2017.
- [24] 张素珍. 魔芋葡甘聚糖 / 海藻酸钠共混改性及其在大黄鱼保鲜中的应用[D]. 福州:福建农林大学,2014.
- [25] 崔宇,刘华巍,谢晶,等. 竹醋精制液对冷藏草鱼的保鲜作用[J]. 世界竹藤通讯,2012,10(1):5-8.
CUI Y, LIU H W, XIE J, et al. Preservation of grass carp using purified bamboo vinegar[J]. **World Bamboo and Rattan**, 2012, 10(1):5-8. (in Chinese)
- [26] 江承佳,余宁翔,熊华. 多孔银 - 磁性甲壳素微球的制备及其抗菌性能[J]. 食品与生物技术学报,2020,39(9):32-38.
JIANG C J, YU N X, XIONG H. Fabrication and antibacterial properties of porous silver-magnetic chitin microspheres [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2020, 39(09):32-38. (in Chinese)
- [27] 孙丹,乐琳,王斌,等. 香叶醇烷基改性壳寡糖的高效制备及表征[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(5):21-27.
SUN D, YUE L, WANG B, et al. Facile synthesis and characterization of geraniol alkyl modified chitosan oligosaccharides[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2021, 40(5):21-27. (in Chinese)