

# 广元黄茶自组装锌复合物的制备及其抗菌抗炎活性研究

安鲁敬<sup>1,2</sup>, 钱益跃<sup>3</sup>, 常可<sup>1,2</sup>, 田宝明<sup>2</sup>, 穆丹<sup>1</sup>, 张明珠<sup>1\*</sup>, 陈红平<sup>2</sup>, 张相春<sup>2\*</sup>

1. 皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室, 安庆师范大学生命科学学院, 安徽 安庆 246133; 2. 茶树种质创新与资源利用全国重点实验室, 中国农业科学院茶叶研究所, 浙江 杭州 310008; 3. 浙江省金华生态环境监测中心, 浙江 金华 321000

**摘要:** 目前关于直接以茶浸提液为原料构建新型功能复合物研究较少, 本研究以广元黄茶茶汤和硫酸锌为原料, 通过绿色简便的一步自组装法成功制备了广元黄茶-锌纳米复合物 (Y-Zn)。通过紫外-可见分光光度计 (UV-vis)、透射电子显微镜 (TEM)、动态光散射 (DLS)、傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 和 X 射线光电子能谱 (XPS) 表征显示, 所合成的纳米复合物粒径均一、分散性良好。抗菌试验表明, Y-Zn 对包括耐药菌株在内的多种革兰氏阳性菌表现出剂量依赖性的抗菌效果, 并能有效抑制细菌生物膜形成; 抗氧化试验结果显示, Y-Zn 具备优异的自由基清除能力, 在  $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  质量浓度下清除率超过 80%。细胞试验证实, Y-Zn 通过下调诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和环氧化酶-2 (COX-2) 的表达, 抑制脂多糖 (LPS) 诱导的巨噬细胞炎症反应, 且斑马鱼模型显示其生物安全性良好。本研究直接以茶汤为对象开发出一种兼具多种生物活性和安全性的自组装复合物, 为我国丰富茶叶资源在生命健康领域中的应用提供了思路。

**关键词:** 茶汤; 自组装; 纳米复合物; 抗菌活性; 抗炎活性

中图分类号: S571.1; TQ460

文献标志码: A

文章编号: 1000-369X(2026)01-0139-12

DOI: 10.13305/j.cnki.jts.2026.01.005

## Preparation of Guangyuan Yellow Tea Self-Assembled Zinc Nanocomposite and Their Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities

AN Lujing<sup>1,2</sup>, QIAN Yiyue<sup>3</sup>, CHANG Ke<sup>1,2</sup>, TIAN Baoming<sup>2</sup>, MU Dan<sup>1</sup>, ZHANG Mingzhu<sup>1\*</sup>,  
CHEN Hongping<sup>2</sup>, ZHANG Xiangchun<sup>2\*</sup>

1. The Province Key Laboratory of the Biodiversity Study and Ecology Conservation in Southwest Anhui, School of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, China; 2. State Key Laboratory of Tea Plant Germplasm Innovation and Resource Utilization, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China; 3. Zhejiang Jinhua Ecological and Environmental Monitoring Center, Jinhua 321000, China

**Abstract:** Currently, few studies have reported on the direct use of tea extracts as raw materials for creating novel functional composites. This study successfully synthesized Guangyuan Yellow Tea-Zinc Nanocomposites (Y-Zn) using Guangyuan Yellow Tea infusion and zinc sulfate as raw materials through a green, simple one-step self-assembly method. Characterization via UV-vis spectrophotometry, transmission electron microscopy (TEM), dynamic light scattering (DLS), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) reveals that the synthesized nanocomposite exhibits uniform particle size and excellent

收稿日期: 2025-10-15

修订日期: 2025-11-28

基金项目: 四川省重点研发计划 (2024YFHZ0179); 安徽省新时代育人质量工程项目 (研究生教育) 教学研究一般项目 (2023jyxgyjY194); 安徽省自然科学基金青年项目 (2308085QC78)

作者简介: 安鲁敬, 男, 硕士研究生, 主要从事茶精深加工健康利用方面的研究。\*通信作者: Echo8453@163.com; zhangxc@tricaas.com

dispersion. Antibacterial experiments demonstrated that Y-Zn exhibits dose-dependent antibacterial effects against multiple Gram-positive bacteria, including drug-resistant strains, and effectively inhibits bacterial biofilm formation. Antioxidant experiments revealed its excellent free radical scavenging ability, achieving over 80% scavenging efficiency at a concentration of  $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Cellular experiments confirmed that Y-Zn suppresses lipopolysaccharide (LPS)-induced macrophage inflammatory responses by downregulating inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression. Furthermore, zebrafish models demonstrated its favorable biosafety profile. In summary, this study directly utilized tea infusion as the subject to develop a self-assembled composite that possesses multiple biological activities and safety, providing insights into the application of China's abundant tea resources in the field of life sciences and health.

**Keywords:** tea infusion, self-assembly, nanocomposite, antibacterial activity, anti-inflammatory activity

中国作为茶叶的起源国,也是全球最大的茶叶生产与消费国,茶产业在农业经济体系中占据重要地位<sup>[1]</sup>。2024年,我国茶园面积达349.52万 $\text{hm}^2$ ,已开采茶园面积317.13万 $\text{hm}^2$ ,其中涵盖绿茶、红茶、乌龙茶、黄茶等多元化品类,产业基础雄厚<sup>[2]</sup>。然而,我国茶叶产业在发展过程中面临着资源利用不充分的突出问题,制约了产业附加值的提升<sup>[3]</sup>。一方面,生产端长期存在“重春茶、轻夏秋茶”的现象;另一方面,加工与消费端对茶叶资源的利用深度不足。传统茶叶消费以冲泡饮用为主<sup>[4]</sup>,仅实现了茶叶活性成分的部分摄入,大量富含活性物质的茶叶残渣被丢弃;且在深加工领域,研究多集中于提取茶叶的特定功能成分如茶多酚、茶氨酸等。茶叶发挥健康功效的基础是多种成分的协同,因此,如果能利用茶汤直接开发功能型健康产品将会有效促进茶叶库存消耗,加快夏秋茶资源的利用。

茶叶经热水冲泡后会释放多种对人体有益的化学成分,包括茶多酚、茶氨酸、茶多糖、茶色素、咖啡碱以及较丰富的微量元素,具有抗菌、抗氧化、抗病毒、降糖降脂以及预防心血管疾病等功能<sup>[5-7]</sup>。因此茶叶中的活性物质常被用来开发功能性健康产品,其中茶多酚应用较多<sup>[8-9]</sup>。但是多酚中酚羟基的高活性导致其体外易被氧化发生结构改变,失去活性,不仅导致了茶汤体系不稳定,还使其在体内的生物利用度降低<sup>[10]</sup>。

近年来,纳米生物技术的快速发展为解决

这一问题提供了新的思路,其中自组装技术因反应条件温和、操作简便、绿色环保等优势,在功能性纳米材料制备领域得到广泛应用<sup>[11-12]</sup>。2000年,中国学者首次提出了纳米中药的概念<sup>[13]</sup>。目前,根据制备途径的不同,文献报道的中药自组装纳米复合物主要可分为两大类。第一类为“中药汤剂纳米复合物”,指在中药饮片煎煮过程中,化学成分溶出后凭借非共价键力自发进行分子识别与有序组装形成的纳米复合物,是汤剂固有的物理化学产物,例如复方白虎汤、麻杏石甘汤和葛根芩连汤中被报道的自组装复合物等<sup>[14-16]</sup>。第二类为“人为组装的中药纳米复合物”,指在体外有目的地将中药中的特定活性成分进行人工组装而制得的纳米粒,例如小檗碱-黄芩苷、人参皂苷、甘草蛋白纳米复合物,以及当归多糖、黄芪多糖等形成的纳米复合物等<sup>[17-21]</sup>。生物纳米技术在中药中的应用保持了其特定成分的活性,提高了药物疗效<sup>[22-23]</sup>。

同时,利用植物提取物与金属离子合成纳米复合物已成为纳米生物技术领域的研究热点<sup>[24-26]</sup>。已有研究证实,茶多酚与金离子、铜离子、锌离子自组装形成的纳米复合物,其抗菌活性显著高于单纯茶多酚或金属离子,且稳定性大幅提升,在食品保鲜、生物医药等领域展现出良好的应用前景<sup>[27-29]</sup>。锌离子作为人体必需的微量元素,具有良好的生物相容性与安全性,是与植物提取物制备自组装复合物的理想阳离子<sup>[30]</sup>。已有研究发现,茶多酚与锌离

子自组装形成的可食用复合物具有优异的抗菌、抗氧化活性,该复合物还可以黏附在水果表面发挥抗菌、抗氧化和保湿作用,并抑制菌生物膜形成,能够显著延缓果实腐烂,保持水果的营养品质<sup>[29]</sup>。茶汤中丰富的茶多酚(含酚羟基),可与锌离子发生配位作用,为形成稳定纳米结构提供了充足的反应位点,具备开发功能性纳米复合物的天然优势。

基于上述背景,本研究以广元黄茶茶汤与硫酸锌为原料,采用绿色简便的一步自组装法制备广元黄茶-锌纳米复合物(Y-Zn),并系统探究了其抗菌、抗氧化和抗炎等活性。利用生长曲线法和涂布平板法明确了其对多种细菌的抗菌活性以及对细菌生物膜的破坏作用。通过斑马鱼幼体安全性评价,验证其良好的生物安全性。通过自由基和活性氧(ROS)体外清除试验结合蛋白质印迹法(Western blotting)进一步明确其抗氧化及抗炎能力。本研究旨在为植物浸提液一步自组装稳态复合物的构建开发新方法,为丰富茶叶资源的精深加工和健康利用提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

细菌菌株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, 以下均简称 SA)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, 以下均简称 SE)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 以下均简称 MRSA)、万古霉素中度耐药性金黄色葡萄球菌(Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, 以下均简称 VISA)均购自美国标准培养收集所(ATCC); Raw264.7 细胞由北京大学医学院提供;广元黄茶由四川三山茶业有限公司提供,硫酸锌( $ZnSO_4$ )购自伊诺瓦(武汉)科技有限公司;总抗氧化能力测定试剂盒-酶标法[2,2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)法]购自上海麦克林生化科技股份有限公司;LB 肉汤培养基、LB 肉汤琼脂培养基、二喹啉甲酸

(BCA)蛋白试剂盒、ROS 检测试剂盒、总抗氧化能力检测试剂盒[2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)法]等均购自北京昊乐思科技有限公司;抗 $\beta$ -actin(稀释比为1:2 000)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒等购自上海碧云天生物技术有限公司;10%聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶快速制备试剂盒、脱脂奶粉购自广州亚历山生物科技有限公司。整个研究过程中所使用的水均为超纯水(18 M $\Omega$ )。

### 1.2 Y-Zn 纳米复合材料的制备与表征

采用一步组装法制备了 Y-Zn 纳米复合材料。按照 GB/T 23776—2018,将 3 g 黄茶用 150 mL 煮沸的纯水浸泡 10 min 后,超滤得到黄茶茶汤(Y)。使用 NaOH 溶液将茶汤的 pH 调节至 8~9,然后在涡旋过程中以  $V_Y:V_{Zn}=3:2$  的比例添加  $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  硫酸锌水溶液。进一步通过 3 kDa 超滤离心管进行过滤纯化,制得 Y-Zn。Y-Zn 的吸收峰使用紫外-可见分光光度计(UV-vis)检测。使用傅里叶变换红外光谱(FTIR)和 X 射线光电子能谱(XPS)测定样品表面的各种化学基团和元素组成。使用透射电子显微镜(TEM)检查 Y-Zn 的形态特征,使用 Image J 软件统计结果中的粒径分布。

### 1.3 Y-Zn 对斑马鱼模型的生物安全性评价

取健康的成年斑马鱼,挑选雌雄鱼按 1:2 比例放置在交配缸,用透明隔板隔开,次日清早拿走隔板使其在光刺激下完成交配产卵,挑除死卵,计算受精后小时数(Hours post-fertilization, hpf)。在 6 hpf 时,六孔板每孔放置 20 个胚胎,暴露于添加了不同质量浓度(0、2.5、5、10、20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) Y-Zn 的水中,每个组 5 个平行。处理至 72 hpf 时,取出幼鱼,用 0.01% 甲磺酸三卡因(Tricaine)麻醉,于体视荧光显微镜下拍照(Nikon SMZ18)。处理至 144 hpf 时,每组随机取出幼鱼于斑马鱼行为分析仪(Danio Vision, 荷兰

Noldus 公司)内适应 15 min 后,记录 10 min,统计其运动距离和速度。

#### 1.4 Y-Zn 的抗菌活性

##### 1.4.1 生长曲线法

首先将细菌 (SE、SA、VISA、MRSA) 接种于 LB 液体培养基中,在摇床中 (37 °C, 220 r·min<sup>-1</sup>) 培养过夜,然后将菌液稀释至每毫升 1×10<sup>5</sup> 菌落形成单位 (Colony forming unit, CFU),与不同质量浓度 (0、2.5、5、10、20 μg·mL<sup>-1</sup>) 的 Y-Zn 混合均匀后,以每孔 200 μL 吸至 96 孔板中,探究其抑菌效果。每隔 1 h 用酶标仪测定每个孔在 600 nm 处的吸光度,直至空白对照组的吸光度到 1.00 左右终止孵育及测定。最后将每小时测得的 4 种细菌的吸光度值进行数据处理,绘制生长曲线。并根据最后 1 h 所测得的吸光度与初始吸光度,计算细菌的抑制率。

##### 1.4.2 涂布平板法

通过 CFU 定量菌液中的细菌个数,进而表征 Y-Zn 的抗菌效果。将上述菌液稀释 10<sup>6</sup> 倍后,吸取 50 μL 菌液至 LB 琼脂平板上,用玻璃涂布器将菌液均匀地涂布在培养基表面,最后放入 37 °C 恒温培养箱中培养一定时间后,统计菌落个数。

##### 1.4.3 Y-Zn 对细菌生物膜的影响

将 MRSA 菌液与不同质量浓度的 Y-Zn 混合后接种至 96 孔板中,于 37 °C 条件下培养 8 h。培养结束后,小心吸除上清液,用 PBS 缓冲液冲洗孔底附着的生物膜,以去除多余培养基及悬浮菌体。经结晶紫染色处理 (10 mg·mL<sup>-1</sup>, 每孔 200 μL) 10 min 后,用 PBS 缓冲液洗去多余染料。随后观察并拍摄染色后的生物膜。最后用 95%乙醇溶解附着于生物膜的结晶紫,通过酶标仪测定 595 nm 波长下的吸光度,以此定量评估生物膜形成程度。

#### 1.5 Y-Zn 抗氧化与抗炎活性测定

##### 1.5.1 Y-Zn 的抗氧化活性测定

根据待测定样品的数量配制适量的

ABTS 工作液,然后用 ABTS 工作液分别将 Y-Zn 稀释至不同质量浓度 (0、2.5、5、10、20 μg·mL<sup>-1</sup>),室温孵育 2~6 min 后,在酶标仪 734 nm 处检测吸光度,计算 ABTS 自由基清除率。使用总抗氧化能力检测试剂盒 (酶标法) 中的试剂一分别将 Y-Zn 稀释至不同质量浓度 (0、2.5、5、10、20 μg·mL<sup>-1</sup>),充分混匀。室温避光孵育 20 min 后在酶标仪 515 nm 处检测吸光值,计算 DPPH 自由基清除率。

##### 1.5.2 Y-Zn 的细胞毒性测定

将 Raw264.7 细胞 (小鼠巨噬细胞) 培养在含有 100 U·mL<sup>-1</sup> 青霉素、100 U·mL<sup>-1</sup> 链霉素和 10%胎牛血清的培养基中。所有细胞均在 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 的条件下培养。为了进行细胞毒性评估,将细胞接种在 96 孔板中,密度为每孔 1×10<sup>4</sup> 个细胞,孵育 24 h。随后用含有不同质量浓度 (0、2.5、5、10、20 μg·mL<sup>-1</sup>) Y-Zn 的新鲜培养基替换细胞培养基,并将细胞再孵育 24 h。去除培养基后,加入含有 10% CCK-8 的无血清培养基,在 37 °C 下孵育。孵育 30 min 后,在酶标仪 450 nm 处检测吸光度,计算细胞存活率。

##### 1.5.3 Y-Zn 体外清除活性氧测定

基于亚硒酸钠和谷胱甘肽的氧化还原体系生成 ROS,将 Y-Zn 样品、20 μmol·L<sup>-1</sup> 亚硒酸盐和 2 mmol·L<sup>-1</sup> GSH 在 0.15 mol·L<sup>-1</sup> PBS (pH 7.4) 中孵育 0~6 h。在 37 °C 下使用 50 μmol·L<sup>-1</sup> DCFH-DA 作为荧光探针。使用酶标仪在激发波长和发射波长分别为 488 nm 和 525 nm 处检测 ROS 的荧光强度。

$$R_{ROS} = 100 - (A_s - A_b) / (A_s' - A_b) \times 100$$

式中:  $R_{ROS}$  为 ROS 清除率,%;  $A_s$  为 Y-Zn 组的吸光度,  $A_s'$  为模型组的吸光度,  $A_b$  为对照组的吸光度。

##### 1.5.4 蛋白质印迹法试验

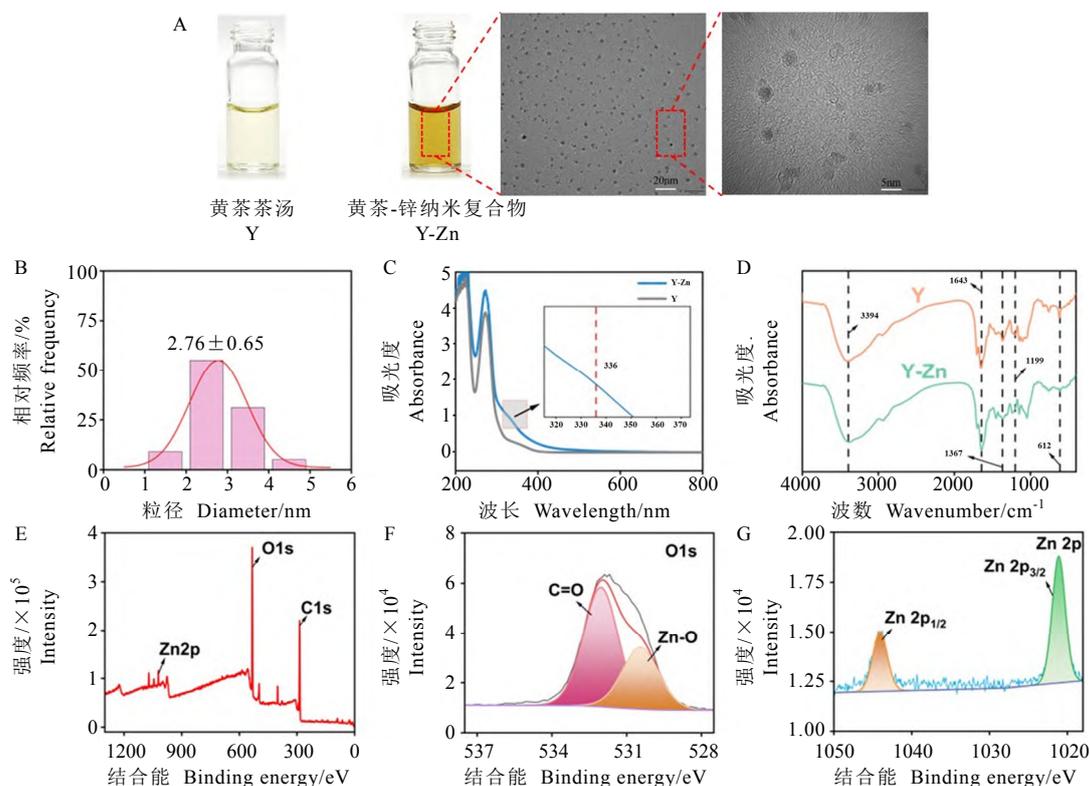
将 Raw264.7 细胞接种在 96 孔板中,密度为每孔 1×10<sup>4</sup> 个细胞,孵育 24 h。随后加入 2 μg·mL<sup>-1</sup> 脂多糖 (LPS) 诱导 Raw264.7 细胞发生炎症,同时加入 10 μg·mL<sup>-1</sup> Y-Zn 进行干预,共孵育

24 h。收集用 LPS 和 Y-Zn 处理的细胞和组织, 并进行蛋白质提取。使用含有 1% PMSF 的 RIPA 裂解液分离总蛋白。使用 BCA 蛋白检测试剂盒定量总蛋白浓度。用 10% PAGE 凝胶电泳分离总蛋白, 并转移到 PVDF 膜中。然后在室温下使用 5% 脱脂牛奶封闭膜 2 h, 并与以下特殊一抗孵育 (4 °C, 过夜):  $\beta$ -actin、环氧合酶-2 (Cyclooxygenase-2, COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (Inducible nitric oxide synthase, iNOS)。再与辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) 共孵育 1.5 h。使用 ECL 试剂盒可视化蛋白质条带密度, 并使用 Image J 软件处理原始图像。

## 2 结果与分析

### 2.1 Y-Zn 的制备与表征

Y-Zn 通过广元黄茶茶汤与锌离子在室温碱性溶液中的一步组装法合成, 反应溶液由初始的近透明色转变为特征的棕黄色, 直观表明了 Y-Zn 纳米复合物颗粒的合成 (图 1A)。首先对 Y-Zn 复合材料进行表征, 分析其形态与配位状态。TEM 分析显示, Y-Zn 具有良好的分散性, 平均粒径约为 2.76 nm (图 1B)。紫外光谱显示, Y-Zn 在 336 nm 处呈现特征峰 (图 1C)。通过 FTIR 表征了 Y 和 Y-Zn 的化学结构, 在  $3394\text{ cm}^{-1}$  处观察到 Y 的强锐峰, 归



注: A 为 Y-Zn 与 Y 颜色对比以及材料的 TEM 图像; B 为 Y-Zn 的粒径统计图; C 为 Y-Zn 紫外吸收光谱; D 为 Y-Zn 傅里叶红外光谱; E、F、G 分别为 Y-Zn X 射线光电子能谱的全谱图、O1s 谱图和 Zn 2p 谱图。

Note: A, color comparison between Y-Zn and Y, and TEM image of the Y-Zn material. B, particle size distribution statistics of Y-Zn. C, UV-vis absorption spectrum of Y-Zn. D, Fourier transform infrared (FTIR) spectrum of Y-Zn. E, F, G, survey scan, O1s spectrum, and Zn 2p spectrum from the X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis of Y-Zn, respectively.

图 1 Y-Zn 的制备与表征

Fig. 1 Preparation and Characterization of Y-Zn

因于 O-H 伸缩振动, 表明羟基含量较高 (图 1D)。Y-Zn 同样在  $3\ 394\ \text{cm}^{-1}$  处呈现强锐峰 (图 1D)。相较于 Y, Y-Zn 在  $1\ 643$ 、 $1\ 199$ 、 $612\ \text{cm}^{-1}$  处的峰形弱化并向左位移, 同时在  $1\ 367\ \text{cm}^{-1}$  处出现新峰 (图 1D), 表明锌离子与多酚形成络合, 导致多酚分子间相互作用发生改变。

通过 XPS 进一步验证了 Y-Zn 的组成和配位状态 (图 1E), 结果揭示 Y-Zn 中锌离子的双峰模式, 在  $1\ 021.1\ \text{eV}$  和  $1\ 044.1\ \text{eV}$  处出现两个强峰, 分别对应 Zn  $2p_{3/2}$  和 Zn  $2p_{1/2}$  的结合能 (图 1G)。此外, 在  $532.4\ \text{eV}$  与  $530.5\ \text{eV}$  处的两个峰分别归因于 Zn-O 键与 C=O 键 (O  $1s$  信号) 的配位键 (图 1F)。以上结果表明, 锌离子以氧化锌形式存在, 取代苯环羟基与多酚形成配合物<sup>[31]</sup>。

## 2.2 Y-Zn 的生物安全性

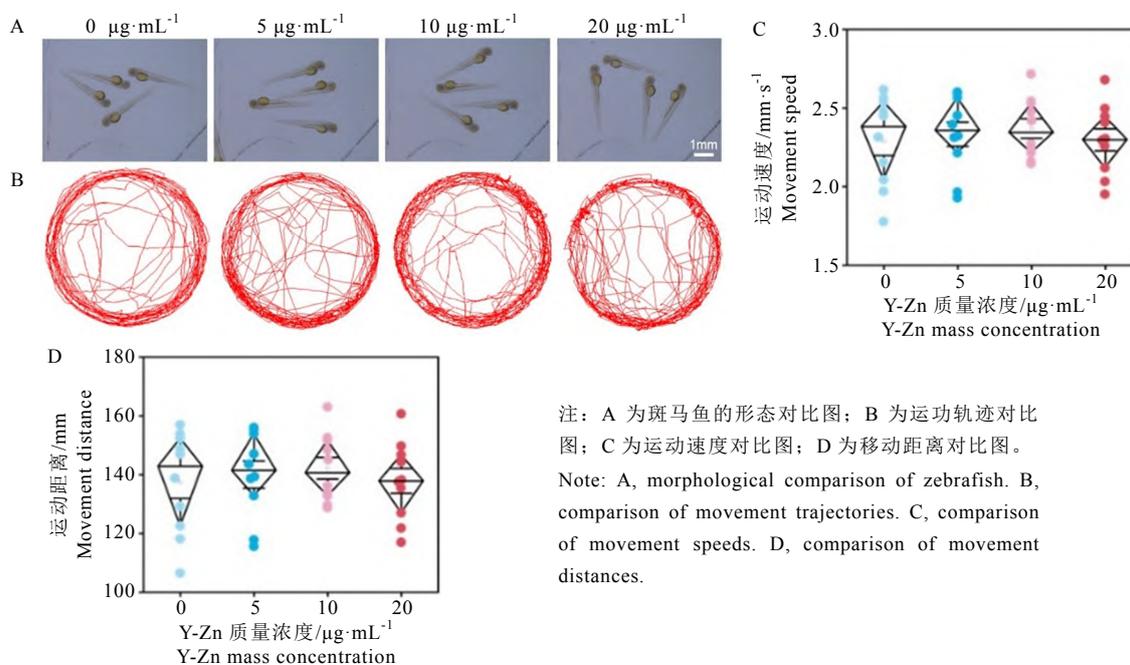
Y-Zn 的生物安全是其作为健康产品应用的前提。本研究以斑马鱼胚胎作为模式生物, 使用急性毒性试验评估 Y-Zn 的生物毒性。如图 2A 所示, 在与不同质量浓度 ( $0$ 、 $5$ 、 $10$ 、

$20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 Y-Zn 共同孵育  $36\ \text{h}$  后, 均未观察到斑马鱼有明显的形态变化。对斑马鱼运动轨迹的可视化结果显示, 不同处理组之间没有明显差异 (图 2B)。对斑马鱼运动行为进行了评估和量化, 在 Y-Zn 的最高质量浓度 ( $20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 处理下, 斑马鱼的运动速度和移动距离都与对照组相当 (图 2C、图 2D)。以上结果表明, Y-Zn 具有良好的生物安全性, 为其进一步开发健康产品奠定了基础。

## 2.3 Y-Zn 的抗菌活性分析

通过生长曲线法和涂布平板法评估 Y-Zn 对 4 种革兰氏阳性菌 (SE、SA、VISA、MRSA) 的抗菌活性。试验以体系中加入的  $\text{Zn}^{2+}$  浓度为基准计算 Y-Zn 的浓度。

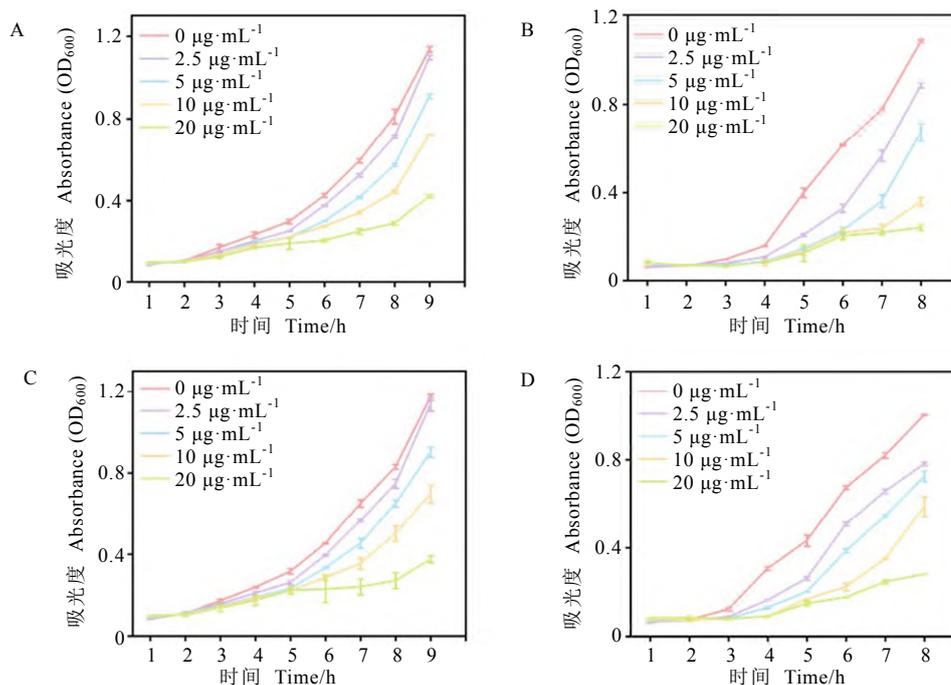
通过测量细菌在  $600\ \text{nm}$  处的生长曲线 ( $\text{OD}_{600}$ ) 来确定 Y-Zn 的抗菌性能。结果表明 (图 3), Y-Zn 对 4 种细菌有明显的剂量依赖性的抗菌效果。低质量浓度 ( $2.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 Y-Zn 对细菌的生长几乎没有抑制效果。而当 Y-Zn 质量浓度为  $20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  时, 对细菌的生长有显著的抑制效果。涂布平板法结果表明,



注: A 为斑马鱼的形态对比图; B 为运动轨迹对比图; C 为运动速度对比图; D 为移动距离对比图。  
Note: A, morphological comparison of zebrafish. B, comparison of movement trajectories. C, comparison of movement speeds. D, comparison of movement distances.

图 2 Y-Zn 对斑马鱼毒性评估

Fig. 2 Toxicity assessment of Y-Zn on zebrafish



注: A、B、C、D 分别代表耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、万古霉素中度耐药性金黄色葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌。

Note: A, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. B, Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. C, *Staphylococcus aureus*. D, *Staphylococcus epidermidis*.

图 3 Y-Zn 的抗菌活性 (生长曲线法)

Fig. 3 Antibacterial activity of Y-Zn evaluated by the growth curve method

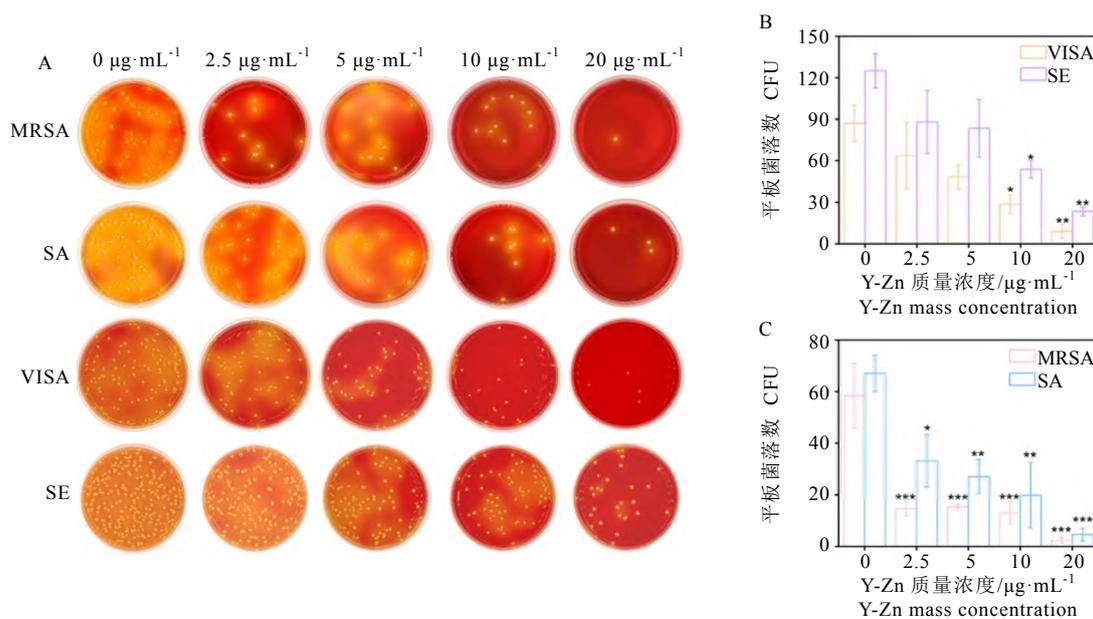
4 种细菌在平板上的菌落总数随着 Y-Zn 质量浓度的增加而降低,当 Y-Zn 质量浓度为 20 µg·mL<sup>-1</sup> 时, MRSA 的平板上几乎没有菌落形成, SE 的平板上相对于对照组,其菌落数量也大大降低(图 4A)。对平板上菌落数量统计结果显示, Y-Zn 对 4 种革兰氏阳性菌的抗菌效果具有明显的剂量依赖性。以上结果都说明了 Y-Zn 有较好的抗菌活性。

生物膜是复杂的细菌群落,形成由多种营养物质(包括多糖、蛋白质和细胞外 DNA)组成的自支撑基质<sup>[32]</sup>。该基质充当保护屏障,使细菌能够在恶劣的环境中生存。研究进一步探究了 Y-Zn 对 MRSA 生物膜的抑制作用。首先,细菌上清液拍照对比结果显示,随着 Y-Zn 质量浓度的增加,MRSA 菌液越澄清,表明其中细菌数量越少(图 5A)。细菌生物膜结晶紫染色的结果显示,随着 Y-Zn 质量浓度的增加,

这些细菌的生物膜面积减小,表明其对 MRSA 生物膜的抑制率增加(图 5C)。同样,对乙醇溶解后的结晶紫的 OD 值测定结果也说明了 Y-Zn 对细菌生物膜的抑制效果(图 5B)。

#### 2.4 Y-Zn 的抗氧化与抗炎活性分析

氧化应激与慢性炎症是多种疾病的共同病理基础<sup>[33-35]</sup>,本研究通过体外自由基清除试验和细胞炎症模型,系统评价 Y-Zn 的抗氧化与抗炎活性。首先通过 ABTS 自由基清除试验检测电子转移能力, DPPH 自由基清除试验分析氢原子供给活性进而综合评价其总抗氧化能力。结果显示, Y-Zn 对 ABTS 和 DPPH 两种自由基都有显著的清除能力,当 Y-Zn 质量浓度为 20 µg·mL<sup>-1</sup> 时,其对 ABTS 自由基的清除率为 95.73% (图 6A),对 DPPH 自由基的清除率为 81.69% (图 6B)。Y-Zn 对 ABTS

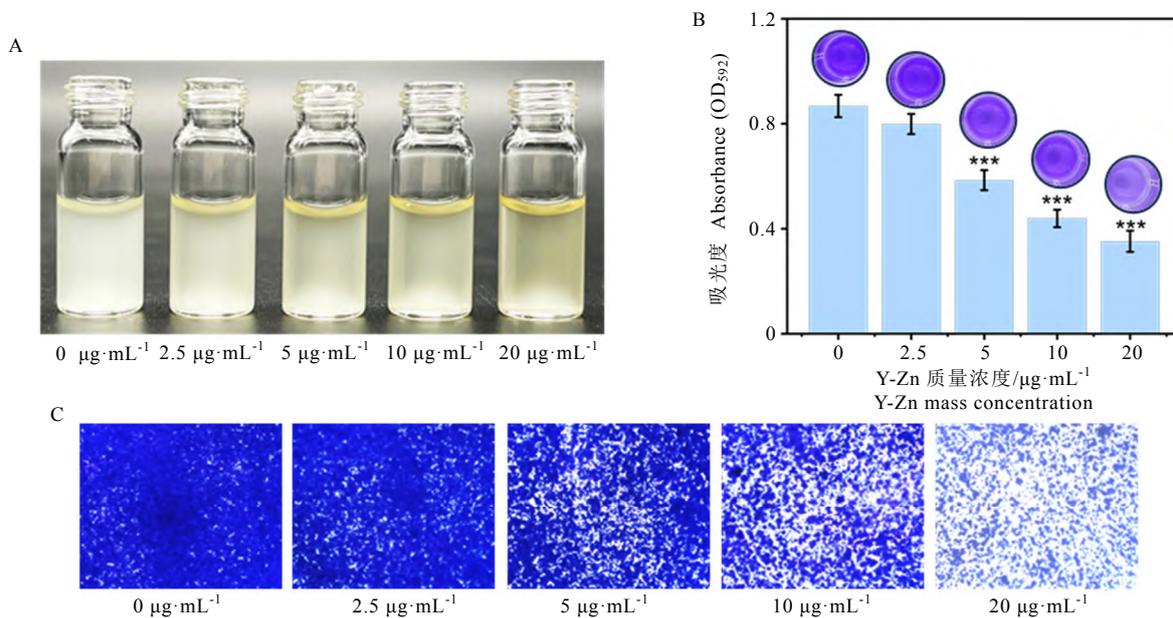


注: A 为 4 种细菌的涂布平板图, B 为 VISA 和 SE 的平板菌落统计图, C 为 MRSA 与 SA 的平板菌落数统计图。数据以平均值±标准差表示, \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ 。

Note: A, the plate spread images of the four bacterial strains (MRSA, VISA, SA and SE). B, the quantification of colony-forming units (CFUs) for VISA/SE. C, the quantification of colony-forming units (CFUs) for MRSA/SA. Data are presented as mean ± standard deviation. \*,  $P < 0.05$ . \*\*,  $P < 0.01$ . \*\*\*,  $P < 0.001$ .

图 4 Y-Zn 的抗菌活性 (涂布平板法)

Fig. 4 Antibacterial activity of Y-Zn evaluated by the spread plate method

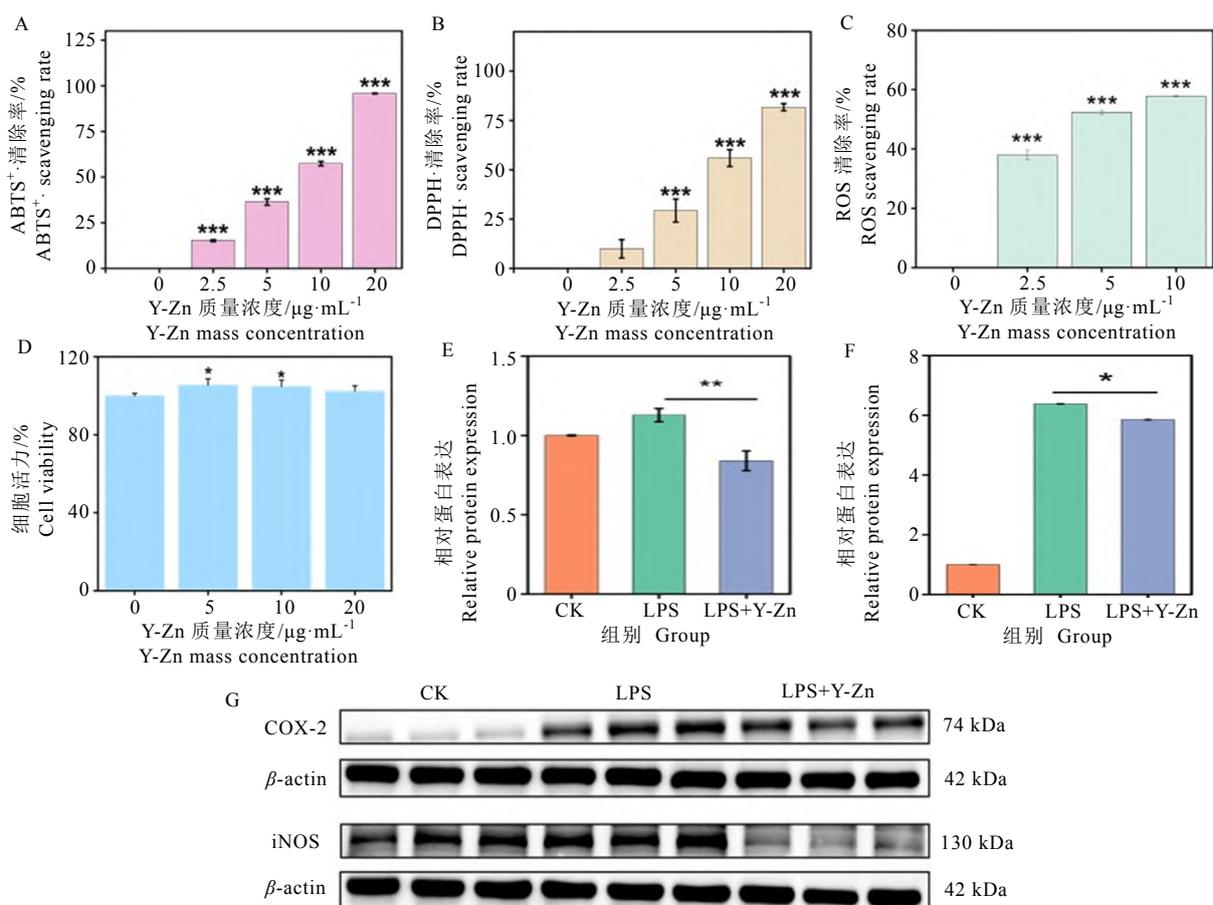


注: A 为 MRSA 与不同质量浓度 Y-Zn 共孵育 8 h 后上清液对比图, B 为乙醇溶解结晶紫后的 OD<sub>592</sub>, C 为 MRSA 生物膜结晶紫染色。数据以平均值±标准差表示; \*\*\*,  $P < 0.001$ 。

Note: A, comparison of supernatant appearance after co-incubation of MRSA with different mass concentrations of Y-Zn for 8 h. B, OD<sub>592</sub> measurements after ethanol dissolution of crystal violet. C, crystal violet staining of MRSA biofilm. Data are presented as mean ± standard deviation. \*\*\*,  $P < 0.001$ .

图 5 Y-Zn 对细菌生物膜的抑制

Fig. 5 Inhibition of bacterial biofilms by Y-Zn



注:A为Y-Zn对ABTS<sup>+</sup>的清除效果;B为Y-Zn对DPPH·的清除效果;C为Y-Zn的体外ROS清除效果;D为Y-Zn对RAW264.7的细胞毒性;E为不同处理组中iNOS表达水平;F为不同处理组中COX-2表达水平;G为各处理组中COX-2和iNOS的Western blot条带结果, $\beta$ -actin作为内参蛋白。数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,\*表示 $P < 0.05$ ,\*\*表示 $P < 0.01$ ,\*\*\*表示 $P < 0.001$ 。

Note: A, ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activity of Y-Zn. B, DPPH· scavenging activity of Y-Zn. C, *in vitro* reactive oxygen species (ROS) scavenging effect of Y-Zn. D, cytotoxicity of Y-Zn on RAW 264.7 cells. E, iNOS expression in different treatment groups. F, COX-2 expression in different treatment groups. G, Western blot results of COX-2 and iNOS, with  $\beta$ -actin as the loading control. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation. \*,  $P < 0.05$ . \*\*,  $P < 0.01$ . \*\*\*,  $P < 0.001$ .

图6 Y-Zn体外抗氧化以及抗炎活性

Fig. 6 *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of Y-Zn

自由基的清除率更高,可能归因于其水分散性良好,以及与ABTS<sup>+</sup>的单电子转移(SET)反应机制高度匹配,而其对DPPH·自由基的清除则可能受限于在有机溶剂中的分散性及较大的空间位阻效应<sup>[36]</sup>。

同时,利用亚硒酸钠/谷胱甘肽氧化还原体系<sup>[37]</sup>对Y-Zn的ROS清除能力进行了评价。

如图6C所示,当Y-Zn质量浓度为2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对ROS的清除率为37.99%,10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时清除率提高到57.81%。以上结果表明,Y-Zn能有效且剂量依赖性地清除体系中的ROS。

考虑到氧化应激与炎症反应之间存在密切的相互作用<sup>[34]</sup>,尤其ROS作为关键的细胞内第二信使,能够激活iNOS等重要的炎症信

号通路<sup>[38]</sup>, 推测 Y-Zn 可能通过其抗氧化效应干预炎症过程。本研究利用 LPS 诱导的 RAW264.7 炎症模型<sup>[39]</sup>, 评估了 Y-Zn 的抗炎能力。为了 Y-Zn 能够在细胞层面上应用, 首先通过 CCK-8 检测 Y-Zn 对 RAW264.7 的细胞毒性, 结果表明, RAW264.7 细胞在经过不同质量浓度的 Y-Zn 处理后, 都没有产生明显的细胞毒性 (图 6D)。进一步通过蛋白质印迹法检测不同处理的 RAW264.7 细胞中与炎症相关的蛋白的表达水平, 探究 Y-Zn 的抗炎效果。iNOS 和 COX-2 是经典的炎症诱导酶, 他们的过度表达是炎症反应的标志性事件<sup>[40]</sup>。蛋白质印迹法试验结果显示, 与空白对照组相比, LPS 刺激显著上调了 RAW264.7 细胞中 iNOS 和 COX-2 蛋白的表达水平; 而经 Y-Zn 处理后, 这两种蛋白的表达都呈现下调的趋势 (图 6E、6F、6G)。以上结果表明, Y-Zn 具有优异的体外抗氧化性能, 并且具有体内抗炎的潜力。

### 3 结论

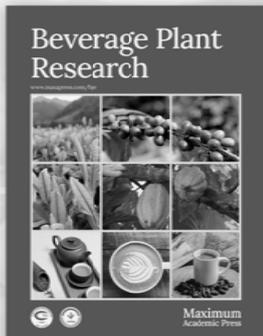
本研究直接以茶汤为对象, 在室温下利用简便、温和的水相一步自组装方法成功制备了稳态的 Y-Zn, 并发现其具有显著的抑菌活性与抗炎活性。UV-vis、TEM、DLS、FTIR、XPS 等多种表征技术结果相互印证, 证实了自组装复合物的成功制备。Y-Zn 对革兰氏阳性菌 (SE、SA、VISA、MRSA) 表现出优异的抗菌效果, 对耐药菌株 (MRSA、VISA) 的有效抑制更凸显了其在应对抗生素耐药性挑战方面的应用潜力。此外, Y-Zn 具有良好自由基和 ROS 的清除能力, 可以有效缓解 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症反应, 显著下调关键炎症相关蛋白 iNOS 与 COX-2 的表达, 同时具有良好的生物安全性。综上所述, 本研究直接使用茶汤自组装成稳态高活性复合物, 不仅拓展了茶精深加工新途径, 也为天然多功能生物活性材料的设计奠定了基础。

### 参考文献

- [1] 姜仁华, 陈富桥, 潘昌健, 等. 关于发展茶业新质生产力的思考[J]. 中国茶叶, 2024, 46(11): 1-6.  
Jiang R H, Chen F Q, Pan C J, et al. Thoughts on developing new quality productivity in the tea industry [J]. China Tea, 2024, 46(11): 1-6.
- [2] 梅宇. 2024 年中国茶叶生产与内销形势分析[J]. 中国茶叶, 2025, 47(6): 24-30.  
Mei Y. Analysis of China's tea production and domestic sales in 2024 [J]. China Tea, 2025, 47(6): 24-30.
- [3] 杨亚军. 坚持问题导向推动我国茶业高质量发展——我国茶产业发展现状与建议[J]. 中国茶叶, 2023, 45(1): 1-5.  
Yang Y J. Adhere to problem orientation and promote high-quality development of China's tea industry: current situation and suggestions of tea industry development in China [J]. China Tea, 2023, 45(1): 1-5.
- [4] 尹军峰. 中国茶饮创新发展态势与启示[J]. 中国茶叶, 2025, 47(3): 1-5.  
Yin J F. The innovative development trend and enlightenment of China's tea drinking [J]. China Tea, 2025, 47(3): 1-5.
- [5] 俞蓉欣, 郑芹芹, 陈红平, 等. 儿茶素生物医用纳米材料研究进展[J]. 茶叶科学, 2022, 42(4): 447-462.  
Yu R X, Zheng Q Q, Chen H P, et al. Recent advances in catechin biomedical nanomaterials [J]. Journal of Tea Science, 2022, 42(4): 447-462.
- [6] Zhang Y X, Feng X Y, Lin H Y, et al. Tieguanyin extracts ameliorated DSS-induced mouse colitis by suppressing inflammation and regulating intestinal microbiota [J]. Food & Function, 2022, 13(24): 13040-13051.
- [7] Yang M C, Zhou L, Kan Z P, et al. Beneficial health effects and possible health concerns of tea consumption: a review [J]. Beverage Plant Research, 2025, 5: e035. doi: 10.48130/bpr-0025-0036.
- [8] 徐伟, 俞蓉欣, 张相春, 等. 多酚自组装抗菌生物材料的构建及其应用进展[J]. 茶叶科学, 2024, 44(1): 1-15.  
Xu W, Yu R X, Zhang X C, et al. Construction of polyphenol self-assembly antibacterial biomaterials and progress in their applications [J]. Journal of Tea Science, 2024, 44(1): 1-15.
- [9] Yang M, Zhang X, Yang C S. Bioavailability of tea polyphenols: a key factor in understanding their mechanisms of action *in vivo* and health effects [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(7): 3816-3825.

- [10] Mereles D, Hunstein W. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for clinical trials: more pitfalls than promises? [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(9): 5592-5603.
- [11] Xu C, Zhou S, Song H Z, et al. Green tea polyphenols-derived hybrid materials in manufacturing, environment, food and healthcare [J]. *Nano Today*, 2023, 52: 101990. doi: 10.1016/j.nantod.2023.101990.
- [12] Xiang X J, Feng X, Lu S J, et al. Indocyanine green potentiated paclitaxel nanoprodrugs for imaging and chemotherapy [J]. *Exploration*, 2022, 2(4): 20220008. doi: 10.1002/EXP.20220008.
- [13] Wang Y L, Mu Y, Zhang Y L, et al. Accessible and effective nanomedicines: self-assembly products from Chinese herbal medicines (CHMs) [J]. *Advanced Functional Materials*, 2025, 35(9): 2416151. doi: 10.1002/adfm.202416151.
- [14] Wu J J, Yang Y, Yuan X Y, et al. Role of particle aggregates in herbal medicine decoction showing they are not useless: considering *Coptis chinensis* decoction as an example [J]. *Food Function*, 2020, 11(12): 10480-10492.
- [15] Zhou J W, Liu J, Lin D, et al. Boiling-induced nanoparticles and their constitutive proteins from *Isatis indigotica* Fort. root decoction: purification and identification [J]. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2017, 7(2): 178-187.
- [16] Lü S W, Su H, Sun S, et al. Isolation and characterization of nanometre aggregates from a Bai-Hu-Tang decoction and their antipyretic effect [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 12209. doi: 10.1038/s41598-018-30690-5.
- [17] Lin D, Du Q, Wang H Q, et al. Antidiabetic micro-/nanoaggregates from Ge-Gen-Qin-Lian-Tang decoction increase absorption of baicalin and cellular antioxidant activity *in vitro* [J]. *BioMed Research International*, 2017, 2017: 9217912. doi: 10.1155/2017/9217912.
- [18] Zhou J W, Gao G Z, Chu Q P, et al. Chromatographic isolation of nanoparticles from Ma-Xing-Shi-Gan-Tang decoction and their characterization [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 151(3): 1116-1123.
- [19] Zhou J W, Zhang J, Gao G Z, et al. Boiling licorice produces self-assembled protein nanoparticles: a novel source of bioactive nanomaterials [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(33): 9354-9361.
- [20] Zhang Y, Cui Z, Mei H, et al. *Angelica sinensis* polysaccharide nanoparticles as a targeted drug delivery system for enhanced therapy of liver cancer [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 219: 143-154. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.04.041.
- [21] Li T, Wang P L, Guo W B, et al. Natural berberine-based Chinese herb medicine assembled nanostructures with modified antibacterial application [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(6): 6770-6781.
- [22] Dai L, Zhu W Y, Si C L, et al. "Nano-Ginseng" for enhanced cytotoxicity against cancer cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(2): 627. doi: 10.3390/ijms19020627.
- [23] Li J M, Zhang Y L, Jin T, et al. Advanced pharmaceutical nanotechnologies applied for Chinese herbal medicines [J]. *Advanced Science*, 2025, 12(31): e00167. doi: 10.1002/advs.202500167.
- [24] Yadi M, Mostafavi E, Saleh B, et al. Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review [J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2018, 46(s3): S336-S343.
- [25] Wang S S, Wang Z Q, Li Z G, et al. Recent advances in tea and other plant polyphenol biomaterials for antibacterial and disease treatment [J]. *Beverage Plant Research*, 2025, 5: e010. doi: 10.48130/bpr-0025-0012.
- [26] Du Y J, Huo Y, Yang Q, et al. Ultrasmall iron-gallic acid coordination polymer nanodots with antioxidative neuroprotection for PET/MR imaging-guided ischemia stroke therapy [J]. *Exploration*, 2023, 3(1): 20220041. doi: 10.1002/EXP.20220041.
- [27] Yu R X, Chen H P, He J, et al. Engineering antimicrobial metal-phenolic network nanoparticles with high biocompatibility for wound healing [J]. *Advanced Materials*, 2024, 36(6): e2307680. doi: 10.1002/adma.202307680.
- [28] Ye Y, Zheng Q Q, Wang Z Q, et al. Metal-phenolic nanoparticles enhance low temperature photothermal therapy for bacterial biofilm in superficial infections [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2024, 22: 713. doi: 10.1186/s12951-024-02985-5.
- [29] Xu W, Jia X Y, Yang M C, et al. Tea polyphenol self-assembly nanocomposite coating for fruit preservation [J]. *ACS Nano*, 2025, 19(31): 28146-28159.
- [30] Jeejeebhoy K. Zinc: an essential trace element for parenteral nutrition [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(s5): S7-S12.
- [31] Biesinger M C, Payne B P, Grosvenor A P, et al. Resolving surface chemical states in XPS analysis of first row

- transition metals, oxides and hydroxides: Cr, Mn, Fe, Co and Ni [J]. Applied Surface Science, 2011, 257(7): 2717-2730.
- [32] Beroz F, Yan J, Meir Y, et al. Verticalization of bacterial biofilms [J]. Nature Physics, 2018, 14(9): 954-960.
- [33] Chong Z Z, Souayah N. Oxidative stress: pathological driver in chronic neurodegenerative diseases [J] 2025, 14(6): 696. doi: 10.3390/antiox14060696.
- [34] Joorabloo A, Liu T Q. Recent advances in reactive oxygen species scavenging nanomaterials for wound healing [J]. Exploration, 2024, 4(3): 20230066. doi: 10.1002/EXP.20230066.
- [35] Peng H B, Yao F B, Zhao J X, et al. Unraveling mitochondria-targeting reactive oxygen species modulation and their implementations in cancer therapy by nanomaterials [J]. Exploration, 2023, 3(2): 20220115. doi: 10.1002/EXP.20220115.
- [36] Takatsuka M, Goto S, Kobayashi K, et al. Evaluation of pure antioxidative capacity of antioxidants: ESR spectroscopy of stable radicals by DPPH and ABTS assays with singular value decomposition [J]. Food Bioscience, 2022, 48: 101714. doi: 10.1016/j.fbio.2022.101714.
- [37] 时杰, 王永安, 孙基泽, 等. 亚硒酸钠通过活性氧(ROS)/谷胱甘肽(GSH)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)轴诱导非小细胞肺癌 A549 细胞铁死亡[J]. 中国无机分析化学, 2024, 14(1): 124-130.
- Shi J, Wang Y A, Sun J Z, et al. Sodium selenite induces ferroptosis in non-small cell lung cancer A549 cells via reactive oxygen species(ROS)/glutathione(GSH)/glutathione peroxidase 4(GPX4) axis [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2024, 14(1): 124-130.
- [38] Lo J, Liu C C, Li Y S, et al. Punicalagin attenuates LPS-Induced Inflammation and ROS production in microglia by inhibiting the MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathway and NLRP3 inflammasome activation [J]. Journal of Inflammation Research, 2022, 15: 5347-5359. doi: 10.2147/JIR.S372773.
- [39] Meng X Q, Wei Q, Wang S Y, et al. Anti-inflammatory effect of polysaccharides from *Sambucus williamsii* Hance roots in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages and acute lung injury in mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 306(Part1): 141368. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.141368.
- [40] Akhtar M, Rafique H, Alam Y, et al. Pectin (RG-1)-like polysaccharides isolated from *Gastrodiae rhizoma* via fractional ethanol precipitation: potent inhibitors of pro inflammatory enzyme modulation targeting iNOS and COX-2 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 322(Part4): 146784. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.146784.



Beverage Plant  
Research

Maximum  
Academic Press




期刊官网      微信公众号

官网: [www.maxapress.com/bpr](http://www.maxapress.com/bpr)

联系期刊: [bpr@maxapress.com](mailto:bpr@maxapress.com)

## 《饮料植物研究》

致力于发表饮料植物生物学、化学、加工及健康功能领域的  
原创研究成果、方法、综述、评论和前沿观点

联合主办




双主编

**陈宗懋 院士**  
中国农业科学院茶叶研究所

**张大鹏 教授**  
美国农业部农业研究局

合作出版

**Maximum  
Academic Press**

执行主编

**陈亮 研究员**  
中国农业科学院茶叶研究所

国际知名数据库收录

Emerging Sources Citation Index (ESCI)    Scopus®    CABI

期待您的投稿!