

藜麦皂苷与纳米银配合物的制备及其协同抗菌性的研究

荆金金¹,张若愚¹,杜雪¹,杜立冬²,刘兆利¹,林冰洁¹,张丰香¹,薛鹏^{1,*}

(1.潍坊医学院公共卫生学院,山东潍坊 261053;

2.潍坊医学院临床学院,山东潍坊 261053)

摘要:以藜麦皂苷和硝酸银为原料,通过生物还原法制备藜麦皂苷与纳米银配合物,并研究配合物的抑菌活性。利用紫外可见分光光度计(UV-vis 光谱仪)、透射电子显微镜(TEM)对藜麦皂苷与纳米银配合物进行表征分析;通过抑菌圈实验、最低抑菌浓度(MIC)实验、最小杀菌浓度(MBC)实验等研究藜麦皂苷与纳米银配合物的协同抗菌性。结果表明,藜麦皂苷与纳米银配合物为球形,粒子直径大部分集中在 10 nm 附近,单分散性好;在 420 nm 处出现特征吸收峰。藜麦皂苷与纳米银配合物对食源性微生物有较好的抑制作用和协同抑制作用,其中对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的抑制效果最好,抑菌直径分别为(11.33 ± 0.58)、(10.67 ± 1.15) mm,对正常胃黏膜上皮细胞(GES)及胃癌细胞(SGC)毒性较低。藜麦皂苷作为生物还原剂使纳米银的溶解性与分散性增强,保留了纳米银本身的广谱抗菌特性,并相互协同使纳米银抗菌活性增强。

关键词:藜麦皂苷,纳米银,配合物,抑菌作用,协同作用

Synthesis and Synergistic Antibacterial Activity of Complexes of Quinoa Saponins with Silver Nanoparticles

JING Jinjin¹,ZHANG Ruoyu¹,DU Xue¹,DU Lidong²,LIU Zhaoli¹,LIN Bingjie¹,ZHANG Fengxiang¹,XUE Peng^{1,*}

(1.School of Public Health of Weifang Medical University,Weifang 261053,China;

2.Clinical College of Weifang Medical University,Weifang 261053,China)

Abstract: Quinoa saponins and silver nitrate as raw materials, the complexes of quinoa saponins with nano-silver were prepared by biological reduction method, and the antibacterial activity of the complexes was studied. The complexes of quinoa saponins and silver nanoparticles were characterized and analyzed by ultraviolet-visible spectrophotometer (UV-vis spectrophotometer) and transmission electron microscope (TEM). The synergistic antibacterial activity of quinoa saponins and silver nanoparticles were studied by bacteriostatic circle experiment, minimal inhibitory concentration (MIC) experiment, minimum bactericidal concentration (MBC) experiment and so on. The results showed that the complex of quinoa saponins with silver nanoparticles was spherical, and the diameter of the particles was mostly concentrated around 10 nm, with good dispersity. Characteristic absorption peaks appear at 420 nm. The complex of quinoa saponins and nano-silver preform had good inhibitory effect and synergistic inhibitory effect on foodborne microorganisms, and had good inhibitory effect on *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, the bacteriostatic diameter were (11.33 ± 0.58) and (10.67 ± 1.15) mm, respectively. The low toxicity to normal gastric mucosal epithelial cell (GES) and gastric cancer cell (SGC). As a biological reducing agent, quinoa saponins enhanced the solubility and dispersion of silver nanoparticles, retained the broad-spectrum antibacterial properties of silver nanoparticles, and cooperated with each other to enhance their antibacterial properties.

Key words: quinoa saponin; nano silver; complex; antibacterial effect; synergistic effect

中图分类号:TS210.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2021)06-0050-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020060176

引文格式:荆金金,张若愚,杜雪,等.藜麦皂苷与纳米银配合物的制备及其协同抗菌性的研究[J].食品工业科技,2021,42(6):50-55,61.

JING Jinjin,ZHANG Ruoyu,DU Xue,et al.Synthesis and Synergistic Antibacterial Activity of Complexes of Quinoa Saponins with Silver Nanoparticles[J].Science and Technology of Food Industry,2021,42(6):50-55,61.(in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

收稿日期:2020-06-15

作者简介:荆金金(1993-),女,硕士研究生,研究方向:食品营养与安全,E-mail:18353687571@163.com。

*通信作者:薛鹏(1989-),男,博士,讲师,研究方向:中药化学,抗食源性致病菌功能因子筛选,E-mail:jplxp26@126.com。

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2019PH043)。

纳米银技术是在金属银单质应用的基础上发展起来的一种新兴材料技术^[1]。细菌与病毒感染作为威胁人体健康的重要因素之一,严重时可危及生命^[2]。传统强化治疗方案中广谱抗生素等药物的广泛使用,使得耐药性等问题越来越引起科学家的重视^[3]。纳米技术的出现,使银的杀菌能力产生了质的飞跃,极少的纳米银即可产生强大的杀菌作用,可在数分钟内杀死 650 多种细菌^[5-6]。纳米银杀菌具有以下特点:广谱抗菌、强效杀菌、渗透性强、修复再生、抗菌持久、无耐药性^[7-8]。但是,长期使用纳米银会有银沉积现象,银粒子也会被机体吸收产生细胞毒性,沉积过多甚至会有明显中毒现象^[1,9]。

藜麦原产于南美洲安第斯山区,是印加土著居民的主要传统食物,联合国粮农组织认为藜麦是一种单体植物即可基本满足人体基本营养需求的食物,正式推荐藜麦为最适宜人类的全营养食品。相关研究表明,植物中的皂苷提取物对鼠伤寒沙门氏菌、福氏志贺杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌有明显的抑菌效果^[10-13]。藜麦中富含生物活性物质皂苷,其主要成分为商陆酸型皂苷^[14-17],具有较好的抗氧化活性、抗菌、抗炎和增强免疫应答作用^[6-9]。

在医学领域应用过程中,药物应兼顾生物相容性与低毒性,藜麦麸皮原材料成本低廉,且植物提取物与纳米银配合后具有较强的杀菌和抑菌的作用^[18-20],还可促进伤口愈合^[18]。本实验采用藜麦皂苷与纳米银相配合,并对配合物进行表征,确定其稳定性;随后证实了配合物对五种食源性微生物的抑制作用和抑菌效果,为后续深入研究打下基础。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

青霉素(80万单位) 山东鲁抗医药股份有限公司;头孢克肟抗之霸 100 mg/片,天津华津制药有限公司;普通肉汤培养基、琼脂、血琼脂培养基 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC-6538)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, BNCC-102555)、沙氏肠炎杆菌(*Salmonella enteritidis*, BNCC-103134)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, ATCC-14579)、李斯特菌(*Listeria*, ATCC-19119) 广东省微生物菌种保藏中心;人正常胃黏膜细胞(GES)、胃癌细胞(SGC) 上海康朗生物科技有限公司;甲醇 北京汇海科仪科技有限公司;无菌脱纤维绵羊血 郑州九龙微生物制品有限公司;硝酸银 国药集团化学试剂有限公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide DMSO)、磷酸盐缓冲液 PBS Sigma 公司;噻唑蓝 MTT 上海紫衣试剂厂。

YXQ-LS-70A 型立式压力蒸汽灭菌器 上海博讯实业有限公司;BPMJ-150F 型霉菌培养箱 上海一恒科学仪器有限公司;SW-CJ-2F 型双人双面净化工作台 苏州净化设备有限公司;AR224CN 电子天平 常州奥豪斯仪器有限公司;KQ-500DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;1510

酶标仪 Thermo Fisher Scientific Oy;电热鼓风干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;高速冷冻离心机 Sigma;Thermo 台式离心机 美国 Thermo Forma 公司;UV-5100B 可见分光光度计 上海元析仪器有限公司;HT7700 透射电子显微镜 日本日立;Zetasizer Nano ZS90 纳米粒径电位分析仪 英国马尔文仪器有限公司;CO₂ 恒温细胞培养箱 美国 Thermo Forma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 藜麦总皂苷及皂苷单体的制备 以藜麦麸皮为原料,藜麦总皂苷^[21]及皂苷单体^[22]由实验室前期制备。藜麦总皂苷经分光光度法鉴定,纯度 $\geq 62\%$ 。藜麦皂苷单体 Q3(3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl-phytolaccagenic acid-28-O- β -D-glucopyranosyl)、Q4(3-O- α -L-arabinopyranosyl-phytolaccagenic acid-28-O- β -D-glucopyranosyl ester)经核磁共振(NMR)鉴定,纯度 $\geq 98\%$ 。

1.2.2 藜麦皂苷与纳米银配合物的制备 藜麦皂苷 5 mg,加入蒸馏水 5 mL 充分溶解后,加入 100 mL 2 mmol/L 的硝酸银溶液,避光搅拌,溶液由无色变为浅棕色悬浊液,实验过程中每隔 2 h 取上清液 1 mL,进行紫外-可见光谱扫描,证明新物质生成。待溶液为浅棕色并不再变色后将悬浊液平均分配于 4 个 50 mL 离心管中,以 13000 r/min 离心 20 min。弃上清液,并用超纯水漂洗 3 次至上清液无色,收集底部沉淀。冷冻干燥,称取 10 mg 与 10 mL 蒸馏水充分混和,超声波清洗器振荡 20 min,配制成 1 mg/mL 的悬浊液^[2],通过紫外-可见光谱扫描与透射电子显微镜(TEM)分析,确定沉淀为藜麦皂苷与纳米银配合物。

1.2.3 藜麦皂苷与纳米银配合物表征 紫外-可见光谱扫描:用紫外-可见分光光度计,在 200~800 nm 的范围内扫描水、藜麦皂苷、纳米银、硝酸银、藜麦皂苷与纳米银配合物溶液,得到吸光光谱^[8,23-26]。

透射电子显微镜(TEM)分析:将所制备的抗菌液(藜麦皂苷与纳米银配合物混悬液)稀释到适当浓度,用夹着铜网的镊子夹浸入到溶液中,反复捞取数次,直至铜网上附着可见液滴。后将镊子平放,60 °C 的烘箱中干燥后将其转移到场发射透射电镜中,在 300 kV 加速电压下对样品进行观察^[27]。

纳米粒径电位分析:取少量制备得到的配合物溶于 1 mL 水,置于比色皿中,使用 Zetasizer Nano ZS90 纳米粒径电位分析仪测量所得配合物粒径,每次实验重复三次^[28]。

1.2.4 抑菌活性测试

1.2.4.1 菌种的活化 称取 3 g 普通肉汤培养基和 1.5 g 琼脂粉,加热溶解于 100 mL 蒸馏水中并不停搅拌,置于三角瓶中 121 °C 高压灭菌 15 min,倾入无菌平皿,冷却后制成培养基。称取 3.8 g 血琼脂培养基,加热溶解于 100 mL 蒸馏水中并不停搅拌,冷却至 50~55 °C 时,无菌操作加入预温至 36 °C 的 5% (V/V) 无菌脱纤维绵羊血,混匀,倾入平皿制成鲜红色血培养基。

分别将沙门氏菌、蜡状芽孢杆菌、表面葡萄球菌和金黄色葡萄球菌培养液划线涂布于普通肉汤培养基上,将单核细胞增生李斯特菌培养液划线涂布于血琼脂培养基上,培养 24 h,连续传代。

1.2.4.2 细菌悬液制备 将培养后的 5 种细菌用接种环接种,将其分别置于含 1 mL 生理盐水的离心管中,分散混合,显微镜下计数,调整细菌悬液浓度至 2×10^8 CFU/mL。

1.2.4.3 纸片法定性测定抑菌活性 高温灭菌后直径为 5 mm 纸片分为 5 组(5 片/组),分别用铅笔标记为 1、2、3、4、5。取 1 mg/mL 的青霉素溶液和 1 mg/mL 的头孢克肟溶液各 10 μ L 分别对各组 1 号和 2 号纸片进行干预(5 次/片),取 1 mg/mL 纳米银溶液、1 mg/mL 藜麦皂苷溶液、1 mg/mL 藜麦皂苷与纳米银配合物悬浊液各 10 μ L 对各组 3~5 号纸片进行干预(5 次/片)。将五种细菌悬液平铺于培养基,保持培养基表面细菌悬液为非常薄的一层,多余液体用棉棒吸干。将五组纸片按序号顺时针排列在培养基上,霉菌培养箱中 37 $^{\circ}$ C 培养 6 h 后观察抑菌圈^[29]。

1.2.5 最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)的测定 用二倍稀释法将抑菌剂稀释成 2、1、0.5、0.25、0.125 mg/mL 的溶液。取 100 μ L 不同浓度的青霉素溶液加入 96 孔板,后取不同浓度的头孢克肟溶液、纳米银溶液、藜麦皂苷溶液、藜麦皂苷与纳米银配合物悬浊液各 100 μ L 分别加入 96 孔板中(3 孔/组),取 100 μ L 细菌溶液加入青霉素组,阳性对照组加入 100 μ L 细菌溶液。取 100 μ L 无菌的液体培养基加入 96 孔板作为空白对照。将制作好的 96 孔板置于霉菌培养箱中 37 $^{\circ}$ C 培养,12 h 后以未见生长菌落的最低药物浓度为待测溶液对受试菌种的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),记录数据。再次孵育 12 h 后观察,以未见生长菌落的最低药物浓度为待测溶液对受试菌种的最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC),记录数据。

1.2.6 细胞毒性的测定 取对数生长期的正常人胃粘膜细胞(GES)和胃癌细胞(SGC),培养至细胞密度为 90% 后加入胰酶消化,重悬细胞后在室温高速离心机上以 1000 r/min 离心 5 min 后弃上清液,加入新的培养基混匀后用细胞计数板进行计数。将细胞悬液制备好后,接种于 96 孔板(细胞浓度 1×10^4 /孔),接种量为 200 μ L/孔。待细胞贴壁后,将细胞分为空白对照组和样品组,样品组加入不同浓度藜麦皂苷 Q3、藜麦皂苷 Q4 和藜麦皂苷与纳米银配合物(0、25、50、100、150 μ g/mL),药物量为 200 μ L/孔,每个浓度设计 3 个复孔。继续培养 24 h 后,加入 MTT 溶液(5 mg/mL)20 μ L,培养 4 h 后加入 DMSO(150 μ L/孔),置摇床上低速振荡 15 min,用酶标仪测定 570 nm 处的吸光度值,操作过程中应避免光。根据测得的吸光度值(OD 值),来判断活细胞数量,OD 值越大,药物毒性越小。

细胞抑制率(%) = (1 - 实验组 OD 值/空白组 OD 值) \times 100

1.3 数据处理

上述每一实验重复 3 次,所测实验数据采用单因素方差分析(ANOVA),以 $X \pm SD$ 表示;采用 SPSS Statistics 16.0、Microsoft Excle 2010 进行统计学分析处理, $P < 0.05$,差异具有统计学意义;采用 GraphPad Prism 7 进行数据分析及绘图。

2 结果与分析

2.1 紫外-可见光谱扫描结果

通过紫外-可见光谱扫描分析藜麦皂苷与纳米银配合物的光学及结构性质,所得到的吸光光谱如图 1 所示。由于量子尺寸效应,使藜麦皂苷与纳米银配合物具有独特的非线性光学效应,在紫外-可见(UV-Vis)光谱扫描中表现为表面等离子体特征吸收峰,特征吸收峰的数量、位置和强度均与藜麦皂苷与纳米银配合物的尺寸、形貌和周围化学环境有关^[26]。一般在 410 nm 附近将会出现特征吸收峰^[30],而本实验中制备的藜麦皂苷与纳米银配合物特征吸收峰在 420 nm 附近。在 500~700 nm 波长范围内,无特征吸收峰出现,表明该方法制备的藜麦皂苷与纳米银配合物颗粒均未出现团聚体,所制得纳米银分散性较好^[31]。图 1 中样品的紫外-可见(UV-Vis)光谱扫描仅存在一个明显的峰,但半峰相对较宽,说明合成的藜麦皂苷与纳米银配合物样品的均一性有待提高,需要改进合成工艺以提高样品粒径的均一性,从而进一步提高藜麦皂苷与纳米银配合物的杀菌能力效果^[32]。

2.2 透射电子显微镜(TEM)图

据研究表明,1~100 nm 纳米材料具有相对增大的比表面积、体积比和络合能力^[33]。根据图 2 可知,制备的藜麦皂苷与纳米银配合物为球形粒子,有较好的单分散性,且分布比较均匀,没有明显的粒子聚集;由图 3 可知,藜麦皂苷与纳米银配合物的粒子直径集中在 10 nm 附近,粒子直径较小,使得藜麦皂苷与纳米银配合物有更小的比表面积。而比表面积的大小会影响纳米配合物生物活性,这可能是藜麦皂苷与纳米银配合后抗菌能力增强的原因,这点同 Singh 等^[34]的研究相互佐证。Ravichandran 等^[35]的研究表明大多数的纳米材料在合成后为球形颗粒,粒径范围在 6~57 nm 的区间范围内,集中在 35 nm 处;Singh 等^[36]同样证明,纳米颗粒物合成后形状为球形粒子,粒径在 10~30 nm 的区间范围内。本研究制得的配合物在电镜下分散性好是由于藜麦皂苷本身具有良好两亲性,使配合物溶解性增强,因而配合物的抗菌能力进一步增强。

2.3 纸片法定测定抑菌活性

通过比较抑菌圈的大小(如图 4 所示),藜麦皂苷与纳米银配合物对李斯特菌、蜡状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、表面葡萄球菌的抑菌圈大小明显大于单纯的纳米银与藜麦皂苷对四种细菌的抑菌圈大小。藜麦皂苷作为生物还原剂,提高了纳米银颗粒的分散性和溶剂性。两者协同作用,增强藜麦皂苷与纳米银配合物的抑菌效果。

由表 1 可知,青霉素只对革兰阳性菌有抑制效

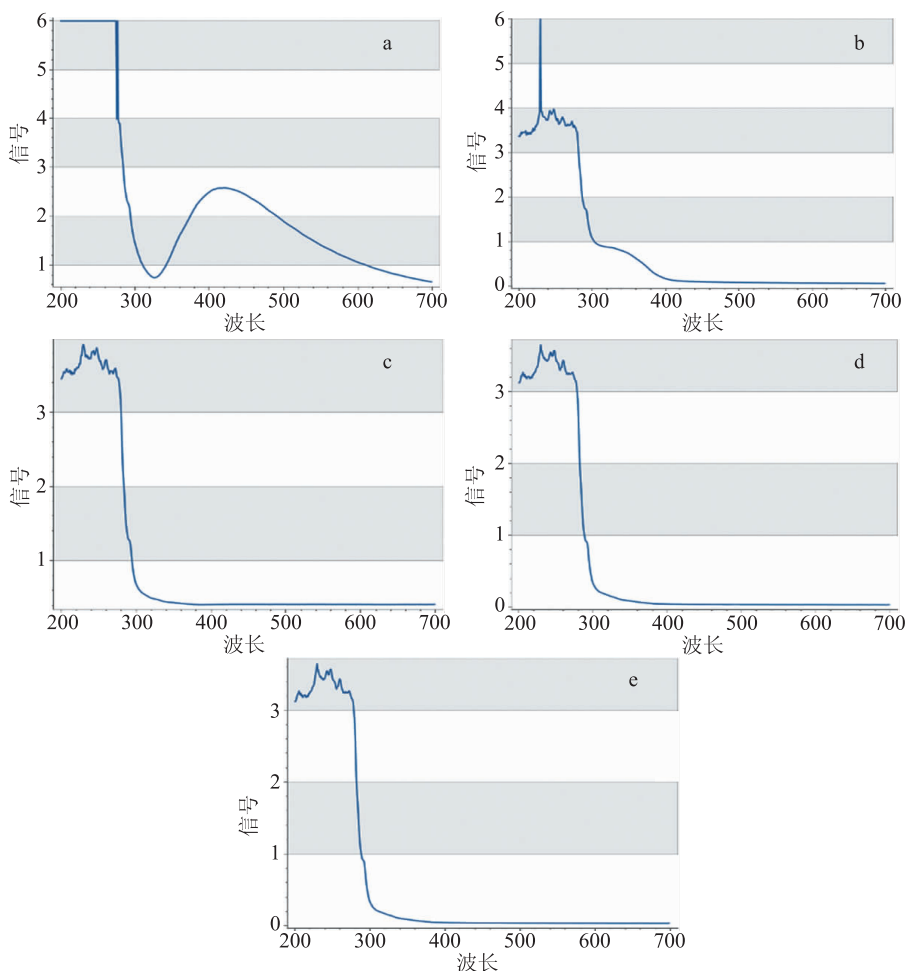


图1 紫外-可见光谱图

Fig.1 UV-visible spectrum

注:(a)为纳米粒子的光谱扫描分析图;(b)为藜麦皂苷的光谱扫描分析图;(c)为纳米银的光谱扫描分析图;(d)为硝酸银的光谱扫描分析图;(e)为藜麦皂苷与纳米银配合物光谱扫描分析图。

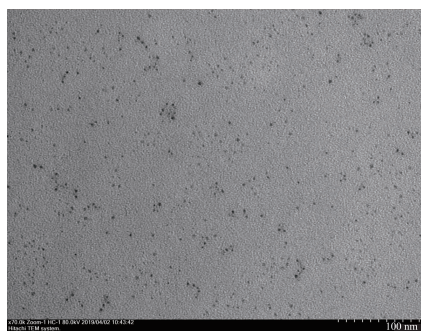


图2 藜麦皂苷与纳米银配合物透射电子显微镜(TEM)(70 k ×)

Fig.2 Transmission electron microscope of quinoa saponins and silver nanoparticles (70 k ×)

果,对沙氏肠炎这种革兰阴性菌没有抑制效果;头孢克肟对部分革兰阳性菌(表皮金黄色葡萄球菌)与部分革兰阴性菌(沙氏肠炎杆菌)有抑制效果^[21]。5号样品藜麦皂苷与纳米银配合物的抑菌效果最好,对单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、表皮葡萄球菌的均有抑菌效果,对表皮葡萄球菌的抑菌效果最好,抑菌圈为(11.33 ± 0.58) mm;其次为金黄色葡萄球菌,其抑菌圈为(10.67 ±

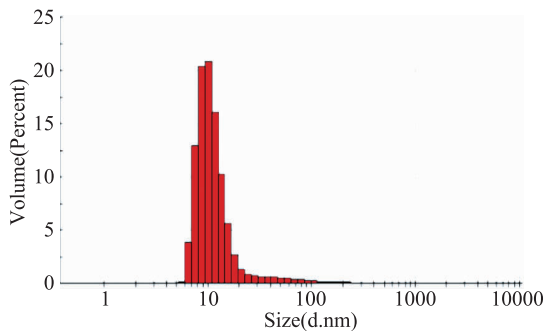


图3 藜麦皂苷与纳米银配合物的粒子直径

Fig.3 Particle diameter of quinoa saponins and silver nanoparticles

1.15) mm;对蜡样芽孢杆菌和单核细胞增生李斯特氏菌的抑菌圈分别为(8.67 ± 0.58)和(8.33 ± 1.53) mm;对沙门氏菌没有抑菌效果。

纳米银、藜麦皂苷、藜麦皂苷与纳米银配合物对五种细菌的方差分析结果均显示 $P > 0.05$,对五种细菌的抑菌效果无统计学差异,说明配合物在银的用量减少的情况下抑菌性能没有减小。有研究表明杀死细菌后,配合物又能够从死亡之后的细菌中分散出来,配合物的稳定性和分散性较好,可以继续杀灭

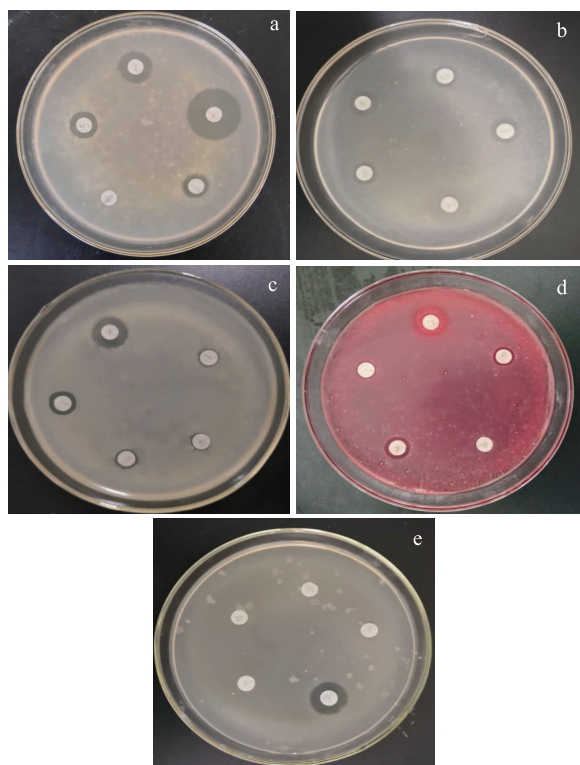


图4 纸片法抑菌实验结果

Fig.4 Results of bacteriostatic test

注:a~d 依次为 *Sep*, *Sau*, *Bac*, *Lis*, *Se* 分别代表表面葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、蜡状芽孢杆菌、李斯特菌、沙门氏菌、其他细菌^[14]。

2.4 最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 的测定结果

由表 2 可知,藜麦皂苷与纳米银配合物对沙门氏菌的抑制作用不明显;对金黄色葡萄球菌的抑菌效果稍逊于青霉素和头孢克肟,最小抑菌浓度和最小杀菌浓度均为 1 mg/mL;对李斯特菌的抑菌活性

与青霉素相当,但比头孢克肟的抑菌效果差,最小抑菌浓度和最小杀菌浓度分别为 0.5 和 1 mg/mL;对蜡状芽孢杆菌对蜡状芽孢杆菌的抑制作用较弱,不如头孢克肟和青霉素,最小抑菌浓度和最小杀菌浓度均为 1 mg/mL;对表面葡萄球菌有较强的抑菌作用,但不如青霉素和头孢克肟,最小抑菌浓度和最小杀菌浓度分别为 0.25 和 0.5 mg/mL。

2.5 细胞毒性测定结果

由图 5 可知, Q3、Q4 和藜麦皂苷纳米银配合物对正常胃黏膜上皮细胞 (GES) 和胃癌细胞 (SGC) 抑制率随浓度的增加而增加,但均小于 50%。藜麦皂苷纳米银配合物对 GES 和 SGC 毒性较低。

3 讨论与结论

藜麦皂苷与纳米银配合物的制备是利用植物提取物(藜麦总皂苷)将硝酸银溶液中的 Ag^+ 还原成 Ag 单质生成纳米银粒子^[4,37],并与之相结合,生成藜麦皂苷与纳米银配合物,相比化学还原法中的化学还原剂和稳定剂,本制备方法更环保、更安全。本实验制备的藜麦皂苷与纳米银配合物在紫外-光谱扫描中仅存在单一特征峰,证明了配合物的生成。粒径分析显示配合物粒径多集中于 10 nm 处,较小的比表面积使得配合物在理化基础上具有良好的表面活性,后续的抑菌实验也证明了这一点。透射电镜结果也证明镜下配合物少团聚,呈单分散,与 Triterpenes^[33] 研究相互佐证,有利于实际应用。

实验表明,新制备的藜麦皂苷与纳米银配合物相较于藜麦皂苷和纳米银颗粒具有更好的杀菌性能,而且细胞毒性低。藜麦皂苷作为生物还原剂不仅使配合物保留了原材料本身的广谱抗菌特性,且溶解性增加,这使藜麦皂苷与纳米银配合物的抗菌性得到了增强。结合文献[38],推测藜麦皂苷与纳米银配合物的抑菌机理可能为:一是配合物与细胞壁的肽聚糖结合影响其功能,从而影响细胞的代谢

表 1 抑菌圈直径的测定结果

Table 1 Results of diameter of bacteriostatic zone

受试样品	抑菌圈直径 (mm)				
	<i>Se</i>	<i>Lis</i>	<i>Sau</i>	<i>Bac</i>	<i>Sep</i>
1 号青霉素	9.67 ± 3.06	8.33 ± 0.58	12.67 ± 0.58	9.67 ± 0.58	12 ± 2.65
2 号头孢克肟	12 ± 1.73	11 ± 3.46	10 ± 1.73	11 ± 2.65	14.33 ± 4.16
3 号纳米银	-	8.67 ± 0.58	9.67 ± 0.58	9.33 ± 1.15	11.33 ± 0.58
4 号藜麦皂苷	-	-	9.67 ± 2.08	8 ± 0.00	9.33 ± 3.21
5 号藜麦皂苷与纳米银配合物	-	8.33 ± 1.53	10.67 ± 1.15	8.67 ± 0.58	11.33 ± 0.58

注:-代表无抑菌效果。

表 2 主要受试物的 MIC、MBC 的测定结果 (mg/mL)

Table 2 Results of MIC and MBC test (mg/mL)

供试品	<i>Sau</i>		<i>Sep</i>		<i>Se</i>		<i>Bac</i>		<i>Lis</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
青霉素	0.0625	0.125	0.0625	0.125	-	-	0.5	1	1	1
头孢克肟	0.5	0.25	0.0625	0.125	1	1	0.0625	0.25	0.125	0.25
纳米银	1	-	0.5	1	-	-	1	-	1	-
藜麦皂苷	1	1	1	-	-	-	0.5	-	-	-
配合物	1	1	0.25	0.5	-	-	1	1	0.5	1

注:“-”代表所有孔都长菌。

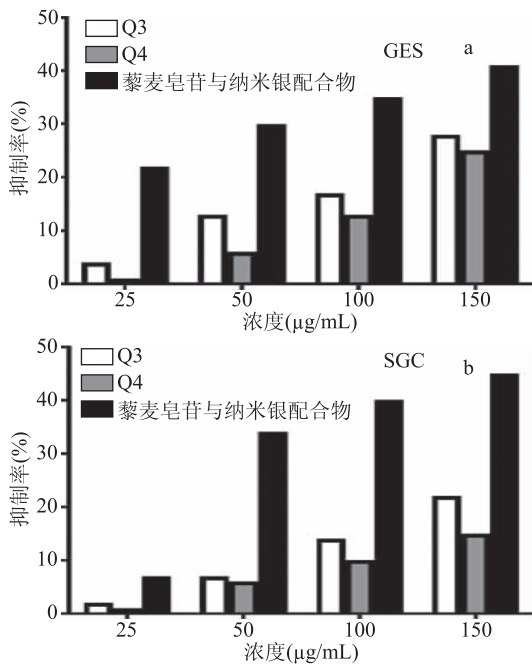


图5 主要受试物的细胞抑制率结果

Fig.5 Results of cytostatic rate test

注: a 为正常胃黏膜上皮细胞(GES); b 为胃癌细胞(SGC)。

和生长发育;二是配合物与 DNA 相结合,导致 DNA 变性,进而影响细菌的正常生长发育和繁殖。

用藜麦皂苷作为植物还原剂制备的纳米银与藜麦皂苷配合物,既发挥了各自的功效,又使得杀菌能力和效果得到进一步的提升。藜麦皂苷作为生物还原剂使得原本不易溶解的纳米银颗粒有了更好的溶解性与分散性,而纳米银颗粒本身的广谱抗菌杀菌能力使得藜麦皂苷纳米银配合物存在有效的生物活性基础。两种原材料相互协同,发挥了更好广谱抗菌能力。

综上,由藜麦皂苷介导的纳米银配合物的制备具有成本低,制备方法简单,广谱抗菌及抗菌持续性强等特点,据有一定潜力价值,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 陈靖雯,张芯.纳米银的制备方法和应用现状[J].山东化工,2019,48(2):58-60,63.
- [2] 孙彩华,陈水英,余朝辉.大黄提取物制备纳米银抗菌材料形态及抗菌性能研究[J].中华中医药学刊,2017(35):1070-1073.
- [3] 张元新,葛雅琨.抗菌肽 KS26 基因的串联及在毕赤酵母中的表达[J].吉林化工学院学报,2014(31):14-17.
- [4] 洪志伟,孟令宇,葛雅琨,等.槲皮素对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用的研究[J].吉林化工学院学报,2017(34):38-41.
- [5] 胡滨,刘国军,刘素花,等.抗菌涂料中无机抗菌剂的研究进展[J].现代涂料与涂装,2009,12(1):18-21.
- [6] 郭春兰,邓红艳,屈红玲.不同银敷料在慢性伤口治疗中应用效果的对比研究[J].护理研究,2015(29):1170-1175.
- [7] Maryam A, Sakineh Mesgar Shahroodi. Effects of silver

nanoparticles on the thermal properties of polyethylene matrix nanocomposites[J].Therm Anal Calori,2017,28(2):1117-24.

[8] Tobaldi D M, Piccirillo C, Pullar R C, et al. Silver-modified nano-titania as an antibacterial agent and photocatalyst[J].The Journal of Physical Chemistry C,2014,118:4751-66.

[9] 高柯玄,庙荣荣,何亮.金属有机配合物的合成及其在催化领域中的应用研究进展[J].广东化工,2018(45):73-75.

[10] 李波,孙天颖,于鑫洋.苜蓿皂苷的抑菌活性和抗氧化特性的研究[J].食品研究与开发,2013,34(2):1-2,33.

[11] 安继红,吕维玲,张永州,等.人参皂苷对金黄色葡萄球菌生物被膜形成的影响[J].山东大学学报(医学版),2018,56(7):28-32.

[12] Mandal P, Sinha Babu S P, Mandal N C. Antimicrobial activity of saponins from *Acacia auriculiformis* [J]. Fitoterapia, 2005,76(5):462-465.

[13] 孟庆然,李立博,王晓闻.酸浆宿萼总皂苷体外抑菌效果研究[J].食品学,2013,34(19):84-87.

[14] 胡一晨,赵钢,秦培友,等.藜麦活性成分研究进展[J].作物学报,2018,44(11):1579-91.

[15] Kuljanabagavad T, Thongphasuk P, Chamulitrat W, et al. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd [J]. Phytochemistry, 2008,69:1919-26.

[16] Yao Y, Yang X, Shi Z, et al. Anti-inflammatory activity of saponins from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages cells [J]. Food Sci, 2014,79:1018-1023.

[17] 赵雷,李晓娜,史龙龙,等.藜麦麸皮营养成分测定及其油脂的抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2019,35(11):157,205-211.

[18] 陈满堂.枸杞水提物制备纳米银及其应用研究[D].武汉:华中科技大学,2016.

[19] 徐雅心,叶赐能,方歆倩,等.植物提取法制备纳米银及其在个人洗护用品中的应用[J].中国洗涤用品工业,2019(4):76-81.

[20] 薛海燕,张颖,张宝艳,等.安石榴苷还原壳聚糖/纳米银溶胶制备表征及其抗菌性能[J].农业工程学报,2018,34(4):306-314.

[21] 赵雷,丁葵英,郑星,等.藜麦麸皮不同极性部位的抑菌及酪氨酸酶抑制活性研究[J].食品工业科技,2019,40:82-88,94.

[22] Dong S X, Yang X S, Zhao L, et al. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria [J]. Industrial Crops and Products, 2020.https://doi.org/10.1016/j.indcrop. 2020.112350.

[23] 刘朗.高价银配合物的合成、表征及抗菌性能研究[D].南京:南京航空航天大学,2017.

[24] Veerasamy R, Xin T Z, Gunasagaran S, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities [J]. Journal of Saudi Chemical Society, 2011,15:113-120.

[25] Park S Y, Park J H, Kim H S, et al. Systems-level (下转第 61 页)

- healthy approach to formulate new low-salt meat products [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 40:20-25.
- [13] Chhanwal N, Bhushette P R, Anandharamkrishnan C. Current perspectives on non-conventional heating ovens for baking process: A review [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2019, 12(1):1-15.
- [14] 吕豪, 吕黄珍, 王雷, 等. 微波-热风振动流化床干燥机设计与试验 [J]. *农业机械学报*, 2019, 50(6):344-351, 248.
- [15] 高飞. 微波、远红外、真空冷冻及其与热风联合干燥对红枣品质的影响 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2013.
- [16] Nicolas V, Glouannec P, Ploteau J P, et al. Experiment and multiphysic simulation of dough baking by convection, infrared radiation and direct conduction [J]. *International Journal of Thermal Sciences*, 2017, 115:65-78.
- [17] Kubo M T, Siguemoto é S, Funcia E S, et al. Non-thermal effects of microwave and ohmic processing on microbial and enzyme inactivation: A critical review [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2020, 35:36-48.
- [18] 董全, 黄艾祥. 食品干燥加工技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007:57-58.
- [19] 俞静芬, 朱满达, 凌建刚, 等. 不同工艺参数对海苔品质影响研究 [J]. *农产品加工(学刊)*, 2013(14):65-66.
- [20] 韦珍珍, 唐小闲, 杨金凤, 等. 微波膨化奶香味慈姑脆片配方的研究 [J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(8):166-171.
- [21] Kirmaci B, Singh R K. Process severity affects texture and

- color of potato strips baked in pilot-scale infrared Radiant Wall Oven [J]. *LWT*, 2018, 97:261-268.
- [22] Ma S S, Zhang B Y, Chen L, et al. Discrimination of *Acori Tatarinowii Rhizoma* from two habitats based on GC-MS fingerprinting and LASSO-PLS-DA [J]. *Journal of Central South University*, 2018, 25(5):1063-1075.
- [23] 张钟元, 朱翠平, 李大婧, 等. 不同干燥方式对牛蒡片多酚含量及抗氧化能力的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(1):172-178.
- [24] 韩清华. 微波真空干燥膨化苹果片的机理及品质研究和设备设计 [D]. 北京: 中国农业机械化科学研究院, 2007.
- [25] 吕为乔, 韩清华, 李树君, 等. 微波干燥姜片模型建立与去水机理分析 [J]. *农业机械学报*, 2015, 46(4):233-237.
- [26] Xu S G, Cui Y X, Yang C X, et al. The fuzzy comprehensive evaluation (FCE) and the principal component analysis (PCA) model simulation and its applications in water quality assessment of Nansi Lake Basin, China [J]. *Environmental Engineering Research*, 2021, 26(2).
- [27] 欧霖拱. 无患子提取液制备纳米银及其协同抗菌性研究 [J]. *日用化学品科学*, 2017, 40(11):29-32.
- [28] 姚兴存, 邱春江, 赖小燕. 紫菜风味香精的制备及其风味成分分析 [J]. *食品科学技术学报*, 2015, 33(3):28-34.
- [29] 王晓东. 即食型湿态调味紫菜关键技术研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.

(上接第 55 页)

- mechanisms of action of *Panax ginseng*: A network pharmacological approach [J]. *Ginseng Res*, 2018, 42:98-106.
- [26] Cao Y, Zheng R, Ji X, et al. Syntheses and characterization of nearly monodispersed, size-tunable silver nanoparticles over a wide size range of 7~200 nm by tannic acid reduction [J]. *Langmuir*, 2014, 30:3876-3882.
- [27] 郭春兰, 席祖洋, 邓红艳, 等. 纳米银敷料用于体表慢性难愈合伤口的效果及安全性评价 [J]. *广东医学*, 2016(37):3477-3480.
- [28] Nakkala J R, Mata R, Raja K, Khub Chandra V, Sadras S R. Green synthesized silver nanoparticles; Catalytic dye degradation, *in vitro* anticancer activity and *in vivo* toxicity in rats [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, 91:372-381.
- [29] 郭春兰, 席祖洋, 邓红艳, 等. 纳米银敷料用于体表慢性难愈合伤口的效果及安全性评价 [J]. *广东医学*, 2016(37):3477-3480.
- [30] Sun W, Qu D, Ma Y, et al. Enhanced stability and antibacterial efficacy of a traditional Chinese medicine-mediated silver nanoparticle delivery system [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9:5491-502.
- [31] 徐锐, 缪宏超, 王伟, 等. 仙人掌还原纳米银溶液的制备及其抑菌效果研究 [J]. *纺织导报*, 2010(8):97-99.

- [32] 方蕾, 赵晓丽, 王珺瑜, 等. 具有不同粒径和相同表面结构纳米银颗粒的制备及表征 [J]. *环境科学研究*, 2019(32):866-874.
- [33] Triterpenes. Researchers from kyung hee university report recent findings in triterpenes (use of gold nanoparticle fertilizer enhances the ginsenoside contents and anti-inflammatory effects of red ginseng) [J]. *Biotech Week*, 2017.
- [34] Singh P, Kim Y J, Yang D C. A strategic approach for rapid synthesis of gold and silver nanoparticles by *Panax ginseng* leaves [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2016, 44(8):1949-1957.
- [35] Ravichandran Veerasamy, Tiah, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities [J]. *Journal of Saudi Chemical Society*, 2011, 15(2):113-120.
- [36] Singh Priyanka, Kim Yeon Ju, Wang Chao, et al. Biogenic silver and gold nanoparticles synthesized using red ginseng root extract, and their applications [J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2016, 44(3):1-6.
- [37] 强舒悦, 吴小玲, 姚平, 等. 茶多酚纳米银的绿色制备及其工艺优化 [J]. *轻工科技*, 2018, 34(7):30-31, 40.
- [38] 曹雪玲, 陆书来, 张东杰, 等. 纳米银作为抗菌剂的抗菌性能研究 [J]. *吉林化工学院学报*, 2017(34):30-34.