

# 菱和龙葵提取物对致病性细菌的抑制作用

葛佳琦

(金陵科技学院智能科学与控制工程学院, 江苏 南京 211169)

**摘要:** 抗生素是人类健康的卫士,但其使用也产生了一系列的问题,如用量、频次、忽略停药期等。为了解决这些问题,寻求天然的药物控制高发传染性疾病成为当务之急。菱(*Trapa bispinosa*)和龙葵(*Solanum nigrum*)是典型的湿地植物,它们具有独特的抑菌特性。采用乙醇对菱和龙葵进行活性成分提取,发现菱和龙葵对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)有较强抑菌作用,可辅助代替抗生素控制传染性疾病,进而减少对抗生素的使用。

**关键词:** 抗生素;菱;龙葵;抑菌作用

**中图分类号:** R282.71;S645.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-755X(2019)01-0088-05

## Inhibitory Effects of Plant Extract of *Trapa Bispinosa* and *Solanum Nigrum* on Pathogenic Bacteria

GE Jia-qi

(Jinling Institute of Technology, Nanjing 211169, China)

**Abstract:** Antibiotics are the guardians of human health. In recent years, from the invention and application of antibiotics, the unfavorable problems in the use process have become increasingly prominent, such as the dosage, frequency of medication, neglect of withdrawal period, etc. Therefore it is urgent to find other natural disinfectant to replace antibiotics. *Trapa bispinosa* and *Solanum nigrum* are typical wetland plants, and they have unique antibacterial properties. Therefore, *Trapa bispinosa* and *Solanum nigrum* active ingredients were extracted by ethanol, and the antimicrobial activity of extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and *Aeromonas sobria*. The extracts could be used to replace antibiotics in the control of infections disease, which leads to less use of antibiotics.

**Key words:** antibiotics; *Trapa bispinosa*; *Solanum nigrum*; antibacterial activity

菱(*Trapa bispinosa*)是一年生浮水草本植物,俗称菱角。它生活在温暖、潮湿的环境,有较强的适应性,抗虫抗病的能力很强。菱角具有治疗腹泻、痢疾、便血,清热,解毒,健脾益胃等功效,具有极高的药用价值<sup>[1-5]</sup>。龙葵(*Solanum nigrum* L.)是一年草本植物,耐干旱,繁殖能力强,有很强的扩散能力和入侵性。它的全株入药,可散瘀消肿,清热解毒,具有抑菌和抗病毒作用,龙葵对大肠杆菌、猪霍乱杆菌等细菌都有一定的抑制效果<sup>[6-7]</sup>。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)为革兰氏阳性菌的代表,是自然界中最常见、最重要的一种病原菌。它会引发人和动物皮肤软组织感染<sup>[8]</sup>,甚至诱发败血症、脓毒血症、心内膜炎、脑膜炎和肺炎等多种疾病<sup>[9]</sup>。金黄色葡萄球菌产生肠毒素(*Staphylococcal enterotoxins*, SEs)菌株会

**收稿日期:** 2019-03-03

**作者简介:** 葛佳琦(1991—),江苏南通人,助理研究员,硕士,主要从事水生生物的检疫与疾病防治研究。

造成恶心、呕吐、腹痛和腹泻等急性胃肠炎症状,是危害食品安全的常见病原菌之一。在日本致使 14 000 多人感染,在北京和河北报道的中毒事件高达 21.2%<sup>[10-11]</sup>,深圳 5 年内共发生多起食物中毒<sup>[12-13]</sup>,都是由金黄色葡萄球菌肠毒素引起的感染事件<sup>[14]</sup>。目前此类感染仍然是依靠抗生素来进行治疗。有文献对新疆奶牛源金黄色葡萄球菌进行耐药特性的研究,结果表明无论是 MRSA(耐甲氧西林金黄色葡萄球菌)还是对甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌,对各种抗生素药物的耐药性依旧偏高,这对奶牛的健康以及牛奶的品质造成了很大的影响<sup>[15-16]</sup>。

温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)是革兰氏阴性菌,具有运动性、不产芽孢、嗜中温、兼性厌氧的特点,该菌广泛分布于自然环境中和水生动物体内,是常见的人畜共患病原菌。温和气单胞菌是条件致病菌,在环境胁迫情况下,可引起鱼类发病,它是养殖水生动物暴发性传染病的主要病原菌之一,感染多数淡水养殖品种,感染常表现为皮肤溃烂、鳍及鳃盖等身体表面出血,并使水生动物大量死亡<sup>[17-20]</sup>;该菌亦可以使人患病,引起食物中毒和胃肠感染,出现腹泻、肺炎、中耳炎、创伤感染、胆管炎、脑膜炎等病症,甚至导致人血管内产生大量气体而死亡<sup>[21]</sup>。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)寄生在人和动物肠道内,是最主要、数目最多的细菌。致病性大肠杆菌是危害畜禽养殖业的主要细菌之一<sup>[22]</sup>,给动物疫病的防控带来严重的挑战<sup>[23]</sup>。由禽致病性大肠杆菌(*Avian pathogenic E. coli*)给养禽业带来的危害数不胜数,是重要传染病之一<sup>[24]</sup>。出血性大肠杆菌造起的“毒黄瓜”事件在 2011 年席卷整个欧洲,此次疫情感染了 12 个国家接近 2 900 人,造成 30 多人死亡<sup>[25]</sup>。文献<sup>[26]</sup>的研究结果表明,大肠杆菌对大部分药物多具有耐药性,它对  $\beta$ -内酰胺类、磺胺类和四环素类的抗生素的耐药率均达到了 80%,对喹诺酮类药物的耐药率超过 50%,对氟奎诺酮类中的恩诺沙星的耐药率高达 100%<sup>[27]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试植物

湿地植物菱、龙葵在扬州地区采集后清洗,置于自然条件下阴干备用。

### 1.2 供试菌株

供试菌株金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、温和气单胞菌,由江苏省人畜共患病实验室提供。

### 1.3 实验方法

1.3.1 制备植物乙醇提取物 将采集的菱、龙葵用研磨机研磨,称取 20 g 植物的粉末,1:20 的比例乙醇浸泡 12~24 h 后抽滤,将滤液放置旋转蒸发仪蒸馏瓶内,利用减压浓缩法得到最后黏稠状态,得到植物的乙醇提取物。

1.3.2 测定植物乙醇提取物的抑菌活性 在已分离纯化培养的待测菌平板上挑选若干个单菌落,接种液体培养基上,放置摇床培养 18~22 h 后,再用麦氏比浊法将液体培养基的浓度稀释至  $10^6$  cfu $\cdot$ mL<sup>-1</sup>。植物乙醇提取物用 DMSO 溶解配置成 1 g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的母液,DMSO 本身不具有抑菌作用。然后根据母液再依次稀释为 200、100、50、25、12.5 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的待测药液。抗生素为氯霉素,配制其浓度与植物乙醇提取物的浓度一致,为 200、100、50、25、12.5 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>。

1.3.3 抑菌圈直径的测定 用滤纸片法测定菱、龙葵乙醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和温和气单胞菌的抑菌圈直径。用打孔器制作圆形滤纸片,在浓度为 200、100、50、25、12.5 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的药液中浸泡 24 h;之后将菌悬液涂布于平板上,制成含菌平板;再将带药滤纸片均匀贴于含菌平板上,培养箱 18~22 h 后,测定抑菌圈直径。

### 1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 16.0 软件对实验数据进行分析,通过单因素方差分析法检验差异,以  $P<0.05$  表示具有显著性差异。

## 2 结果与分析

采用乙醇提取法对菱、龙葵的活性物质进行提取,通过滤纸片测定了菱、龙葵的乙醇提取物和氯霉素

对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和温和气单胞菌的抑菌圈直径(图 1)。

2.1 菱、龙葵乙醇提取物和氯霉素对金黄色葡萄球菌的抑制作用

研究表明,菱和龙葵的乙醇提取物对金黄色葡萄球菌具有较强的抑菌效果。菱乙醇提取物和氯霉素的浓度为 200、12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 17、7.19 和 14.5、6 mm,菱提取物的抑菌效果要显著高于对照组氯霉素。菱乙醇提取物的浓度为 100、50、25 mg · mL<sup>-1</sup>时,与氯霉素没有显著性差异,抑菌作用相当。龙葵的乙醇提取物的抑菌作用总体高于氯霉素组,在浓度为 200、50、25、12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,抑菌作用显著强于对照氯霉素(表 1)。

表 1 菱、龙葵乙醇提取物和氯霉素对金黄色葡萄球的抑菌圈直径

植物提取物 及抗生素	不同浓度时的抑菌圈直径				
	200 mg · mL <sup>-1</sup>	100 mg · mL <sup>-1</sup>	50 mg · mL <sup>-1</sup>	25 mg · mL <sup>-1</sup>	12.5 mg · mL <sup>-1</sup>
菱	17.00±0.41 <sup>a</sup>	14.63±0.38 <sup>ab</sup>	9.63±0.27 <sup>bc</sup>	7.88±0.25 <sup>bc</sup>	7.19±0.32 <sup>b</sup>
龙葵	16.88±2.29 <sup>ab</sup>	15.38±2.39 <sup>a</sup>	13.63±1.48 <sup>a</sup>	9.85±1.12 <sup>a</sup>	8.25±0.65 <sup>a</sup>
氯霉素	14.5±0.41 <sup>c</sup>	12.25±0.87 <sup>abc</sup>	9.88±0.79 <sup>b</sup>	7.45±0.65 <sup>c</sup>	6.00±0.00 <sup>c</sup>

注:抑菌圈直径包括 6 mm 的琼脂孔;标有相同字母的数据表示没有显著差异,标有不同字母的差异显著( $P<0.05$ )。下同。

2.2 菱、龙葵乙醇提取物和氯霉素对大肠杆菌的抑制作用

菱的乙醇提取物对大肠杆菌有较强的抑制作用,在浓度由 200 mg · mL<sup>-1</sup>递减为 12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,抑菌圈直径从 16.00 mm 变为 8.81 mm;在浓度为 50、25、12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,与对照组氯霉素相比,具有显著性差异;在浓度为 200、100 mg · mL<sup>-1</sup>时,抑菌作用与氯霉素相当。龙葵乙醇提取物在浓度为 50、25 mg · mL<sup>-1</sup>时,抑菌圈直径分别为 8.25 mm 和 7.5 mm,在相同浓度下,氯霉素的抑菌圈直径分别为 8.88 mm 和 7.63 mm,两者不具有显著性差异,抑菌效果相当;而龙葵乙醇提取物在最小浓度 12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,对大肠杆菌的抑菌作用好于氯霉素,二者具有显著性差异(表 2)。

表 2 菱、龙葵乙醇提取物和氯霉素对大肠杆菌的抑菌圈直径

植物提取物 及抗生素	不同浓度时的抑菌圈直径				
	200 mg · mL <sup>-1</sup>	100 mg · mL <sup>-1</sup>	50 mg · mL <sup>-1</sup>	25 mg · mL <sup>-1</sup>	12.5 mg · mL <sup>-1</sup>
菱	16.00±0.41 <sup>a</sup>	14.88±0.43 <sup>a</sup>	13.18±1.19 <sup>a</sup>	11.19±0.96 <sup>a</sup>	8.81±0.25 <sup>a</sup>
龙葵	11.33±1.27 <sup>c</sup>	9.81±0.55 <sup>c</sup>	8.25±0.65 <sup>bc</sup>	7.50±0.91 <sup>bc</sup>	6.00±0.00 <sup>c</sup>
氯霉素	15.38±0.24 <sup>ab</sup>	11.25±1.17 <sup>ab</sup>	8.88±0.59 <sup>b</sup>	7.63±0.1 <sup>b</sup>	6.88±0.16 <sup>b</sup>

2.3 菱、龙葵乙醇提取物和氯霉素对温和气单胞菌的抑制作用

龙葵的乙醇提取物对温和气单胞菌具有较强的抑制作用,龙葵乙醇提取物浓度由 200 mg · mL<sup>-1</sup>递减到 12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,其抑菌圈直径从 19.25 mm 减至 8 mm,氯霉素在相同浓度下,抑菌圈直径从 15.5 mm 降到 6.38 mm,二者具有显著性差异。菱的乙醇提取物在浓度为 200、100、50、25 mg · mL<sup>-1</sup>时与氯霉素相比,不具有显著性差异,二者抑菌作用相当。在浓度 12.5 mg · mL<sup>-1</sup>时,菱乙醇提取物的抑菌圈直径 7 mm,显著高于对照氯霉素组的 6.38 mm(表 3)。

表 3 菱、龙葵乙醇提取物和氯霉素对温和气单胞菌的抑菌圈直径

植物提取物 及抗生素	不同浓度时的抑菌圈直径				
	200 mg · mL <sup>-1</sup>	100 mg · mL <sup>-1</sup>	50 mg · mL <sup>-1</sup>	25 mg · mL <sup>-1</sup>	12.5 mg · mL <sup>-1</sup>
菱	17.75±1.5 <sup>b</sup>	11.38±1.38 <sup>bc</sup>	9.25±0.29 <sup>bc</sup>	8.75±0.65 <sup>b</sup>	7.00±0.41 <sup>ab</sup>
龙葵	19.25±2.33 <sup>a</sup>	17.88±1.65 <sup>a</sup>	13.00±1.08 <sup>a</sup>	10.25±1.19 <sup>a</sup>	8.00±0.71 <sup>a</sup>
氯霉素	15.5±0.41 <sup>bc</sup>	13.65±1.31 <sup>b</sup>	11.36±0.32 <sup>b</sup>	7.75±0.63 <sup>bc</sup>	6.38±0.87 <sup>c</sup>

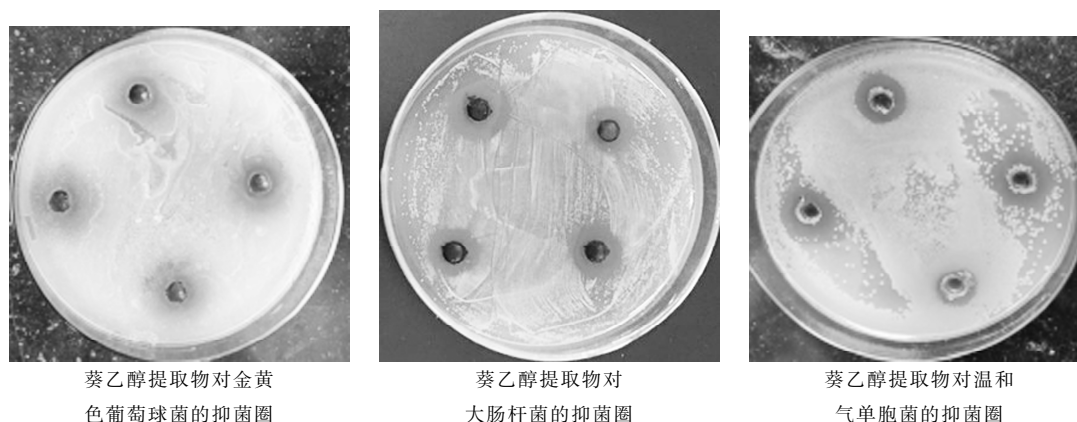


图1 抑菌试验结果

### 3 结论与讨论

本文以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和肺炎克雷伯菌为供试菌株,研究菱、龙葵乙醇提取物的抑菌活性,发现菱、龙葵的乙醇提取物具有明显的抑菌活性。菱乙醇提取物的浓度为 $50$ 、 $25$ 、 $12.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对大肠杆菌抑菌作用显著优于抗生素;浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对金黄色葡萄球菌的抑菌作用更强;对于肺炎克雷伯菌而言,菱乙醇提取物的浓度为 $12.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,抑菌圈直径显著大于氯霉素。龙葵乙醇提取物对肺炎克雷伯菌抑菌效果最强,在各个浓度下的抑菌圈直径均显著高于氯霉素;对金黄色葡萄球菌的抑菌作用较强,浓度为 $200$ 、 $50$ 、 $25$ 、 $12.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,抑菌效果明显强于氯霉素。

文献[28]的研究提出菱壳提取物对蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌等致病细菌均具有较强的抑菌作用。文献[29]的实验研究提出了一种菱角壳总黄酮的优化工艺,该工艺证实菱角壳提取物能很好地消除自由基,具有较好的抗氧化性作用。文献[30]采用菱壳水提取物对离体培养胃癌细胞及对小鼠进行体内培养观察,结果表明该提取物能抑制胃癌细胞生长,对小鼠生长有影响。文献[31]采用高效液相色谱法测定菱角含有没食子酸的成分,该成分已经被证实具有抗肿瘤活性。有实验[32]表明菱的乙酸乙酯萃取物中含有大量的黄酮和多酚的活性成分,对抑制胃癌细胞增殖以及促进癌细胞的凋亡有较为显著的作用。文献[33]提出龙葵氯仿提取物能增加荷瘤小鼠胸腺和脾脏的重量,减缓荷瘤小鼠胸腺和脾脏萎缩,更好地抑制荷瘤小鼠移植瘤的生长,增加小鼠抗肿瘤免疫反应。龙葵的活性成分多糖和总皂苷均能显著抑制急性肝损伤小鼠血清中三种转氨酶升高,有清除机体自由基和抑制脂质过氧化反应的能力,从而具有保肝的作用[34]。文献[35]的研究提出龙葵提取物澳洲茄碱通过诱发细胞凋亡或细胞坏死来抑制人类肺癌细胞及小鼠肺癌细胞的生长,抑菌作用明显。本试验也说明,菱、龙葵具有较强的抑菌活性,能够控制传染性疾病,这可能是与植物提取物的活性成分含有生物碱、酚酸类、萜类和甾体、多糖类、黄酮类等有关。菱、龙葵乙醇提取物具有抗菌性,可作为潜在的抗生素替代品,可运用在养殖业和医学等多领域。发展植物的提取物应多方面适应市场的要求,但我国对此产业的研究起步较晚,加工科技含量不高、市场竞争力不够。为适应市场发展的趋势,未来对植物提取物的研究可以从单纯的药理方面转换为保健功能方面。而植物提取物的抑菌活性成分的确定以及生物活性物质的提取工艺、抗菌抗肿瘤机制和抗癌活性成分的完全分离等方面还有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 张雨晨, 闵清. 菱角壳提取物中活性成分及药理作用研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2016, 30(1): 86-88
- [2] 李龙威. 野菱[J]. 百科知识, 2011(1): 48
- [3] 刘锦安, 杨洋, 钟薇薇, 等. 浅谈津市野菱资源及其保护点建设[J]. 湖南农业科学, 2013(12): 37-38
- [4] 胡熙明. 中医药学的历史现状和展望[J]. 中华医药杂志, 1986(2): 18
- [5] 董卿. 菱角中抗肿瘤活性成分的分离及体外抑瘤作用的初步研究[D]. 长春: 吉林大学, 2007

- [6] 李祖任,岳勇志,彭迪,等.龙葵醇提取物对稗草和茵草种子萌发及幼苗生长的影响[J].湖南农业科学,2017(12):100-103
- [7] 黄云霄,齐勇,杨晓娜,等.龙葵提取物对不同作物幼苗的化感效应[J].杂草学报,2017,35(2):40-45
- [8] 宁自林,储卫华.畜禽养殖环境金黄色葡萄球菌耐药性及毒力因子分析[J].湖北畜牧兽医,2017(12):35-38
- [9] 李丽民,吴先华,徐礼锋.金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2014,24(4):787-789
- [10] 黄丽雯,杨慧,朱春秀,等.一起金黄色葡萄球菌食物中毒事件的检验分析[J].热带医学杂志,2014,14(6):758-761
- [11] Suo Y J, Yu H W, Ling W, et al. Analysis on the contamination of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2008, 8(3): 88-93
- [12] 张红宇,王冰,闫笑梅,等.应用 PFGE 及 SPA-typing 基因分型技术对金黄色葡萄球菌食物中毒溯源分析[J].职业与健康,2011,27(7):727-729
- [13] 王艳琴,蔺兴遥.陈皮挥发油对溃疡性结肠炎大鼠血清 TNF- $\alpha$  及 T 细胞亚群的影响[J].甘肃中医,2007,20(6):72-73
- [14] 郑璇,郑育洪.国内外超级细菌的研究进展及防控措施[J].中国畜牧兽医文摘,2012,28(1):69-75
- [15] 王庆伟.细菌素 Sublancin 对金黄色葡萄球菌的抑制作用及其机制的研究[D].北京:中国农业大学,2014
- [16] 孟丹,孟庆玲,乔军,等.奶牛源金黄色葡萄球菌新疆流行株的耐药特性、毒力基因及分子分型[J].畜牧兽医学报,2018,49(1):181-194
- [17] 李刚山,王惠萱,王意银,等.云南战区部队驻地腹泻患者中首次检出温和气单胞菌[J].中国热带医学,2012,12(11):1317-1319
- [18] 雷雪平,耿毅,邓龙君,等.长丝裂腹鱼温和气单胞菌的分离鉴定及药敏检测[J].水产科学,2019,38(1):109-114
- [19] 邢根娣,胡秀彩,李雪,等.鲫鱼肠道温和气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J].江苏师范大学学报(自然科学版),2013,31(4):52-55
- [20] 李旭,丁楚楚,李雪,等.鱼源山梨醇发酵阳性温和气单胞菌的分离与鉴定[J].中国畜牧兽医,2014,41(4):241-244
- [21] Yukio S, Kunio I, Masaaki I. An *Aeromonas veronii* bio-var sobria infection with disseminated intravascular gas production[J]. Journal of Infection and Chemotherapy, 2003, 10(1): 37-41
- [22] 李琳,赵霞,王磊,等.鸡源大肠杆菌 CRISPR 特征及其与耐药性的关系[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2018(5):1-6
- [23] 陆毅兴,许斯祺,邵思欣,等.白头翁散对大肠杆菌的体外抑菌效果观察[J].中兽医医药杂志,2019(1):42-44
- [24] 马兴树,范翠蝶,夏玉龙.禽致病性大肠杆菌研究进展[J].中国畜牧兽医,2013,40(2):169-174
- [25] 刘晓强.宠物源大肠杆菌对氟喹诺酮类药物的多药耐药机制研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2012
- [26] 贺丹丹,黄良宗,陈孝杰,等.不同动物源大肠杆菌的耐药性调查[J].中国畜牧兽医,2013,40(10):211-215
- [27] Phillips I, Casewell M, Cox T, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2004, 53(1): 28-52
- [28] 林秋生.菱壳生物活性成分分析及抗胃癌机制研究[D].杭州:浙江大学,2013
- [29] 刘冬敏,王建辉,刘永乐.菱角壳中黄酮、总酚和皂苷的提取及其抗氧化性研究[J].食品安全质量检测学报,2016,7(9):3668-3672
- [30] 牛凤兰,刘国良,董威严.水生植物菱中黄酮类化合物的初步分离[J].食品科学,2003,24(6):91-93
- [31] 董威严,牛凤兰,程舸.高效液相色谱法测定菱角中的没食子酸含量[J].食品科学,2005,26(8):34-35
- [32] 范艳慧,代钰,单恬恬,等.菱角壳分级萃取物对肿瘤细胞增殖及凋亡的影响[EB/OL]. (2018-05-09)[2019-04-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.ts.20181201.0814.006.html>
- [33] 郑戴波,高聚伟,潘磊,等.龙葵氯仿提取物对荷瘤鼠肿瘤生长及脾和胸腺指数的影响[J].浙江中西医结合杂志,2015,25(6):531-533
- [34] 杨云.龙葵保肝的物质基础及作用机制研究[D].南京:南京农业大学,2014
- [35] 石芳,巫林,王妍,等.龙葵提取物澳洲茄碱对肺癌细胞侵袭及 MMPs/TIMPs 表达的影响[J].肿瘤药学,2018,8(3):337-341

(责任编辑:湛江)