

大蒜液抗菌活性的研究

葛红莲, 赵锦慧, 李军伟
(周口师范学院 生命科学系, 河南 周口 466000)

摘要: 为评价大蒜液的抗菌活性, 以 2×10^5 cfu/mL 的芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌为受试菌, 进行体外抑菌试验, 测定大蒜液的最低抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。结果表明: 大蒜液对3种细菌都有较强的抑制作用, 并且抑制的效果随着大蒜液体积分数降低而逐渐降低, 其中大蒜液对芽孢杆菌抑制作用最强, 金黄色葡萄球菌次之, 大肠杆菌最弱。大蒜液对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的MIC分别为40%、60%、80%, MBC分别为40%、60%、原液。

关键词: 大蒜液; 抑菌作用; 最低抑菌浓度; 最小杀菌浓度; 芽孢杆菌
中图分类号: S633.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)10-0102-03

Research on Antibacteria Activities of Garlic Solution

GE Hong lian, ZHAO Jin hui, LI Jun wei
(Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466000, China)

Abstract: In order to evaluate the antibacterial activities of garlic solution, *Bacillus* spp, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were used in this study. The minimum inhibitory and bactericidal concentration of garlic solution to three kinds of bacteria were tested by using 2×10^5 cfu/mL of *Bacillus* spp, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results showed the garlic solution had the inhibitory effect to the three bacteria, and the bacteriostatic effect was decreased with concentration of garlic solution decreasing. Moreover, the bacteriostatic effect of the garlic solution was strongest to *Bacillus* spp, then to *Staphylococcus aureus*. The bacteriostatic effect of the garlic solution was weakest to *Escherichia coli*. MIC of garlic solution to *Bacillus* spp, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was 40%, 60% and 80% respectively. MBC of garlic solution to *Bacillus* spp, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was 40%, 60% and stock solution of garlic, respectively.

Key words: Garlic solution; Antibacterial activity; Minimal inhibitory concentration (MIC); Minimal bactericidal concentration (MBC); *Bacillus* spp

日常生活中, 人们常直接或间接地用化学药品作为消毒剂, 对自然环境造成严重污染, 威胁着人类健康并破坏生态平衡。为了维持人类的身体健康和生态平衡, 寻求环保消毒剂成为许多学者研究的着眼点。近年来, 大蒜在食品防腐、临床抗菌防病等方面逐步得到开发和应用, 有天然广谱抗生素之称。大蒜为单子叶植物百合科葱属植物蒜的鳞茎, 含有30多种挥发性含硫化合物^[1]。研究发现, 大蒜具有

抑菌、杀菌、杀病毒、降血糖、降脂降压、防癌抗癌、保护肝脏、提高免疫力、抗衰老等功效^[2]。近年来, 大蒜素在防治植物真菌病害方面已有大量研究, 大蒜素对植物病原真菌表现出明显的抑制作用^[3-5], 但有关大蒜对病原细菌影响的研究报道较少。引起动植物病害的细菌包括革兰氏阳性和阴性细菌。鉴于此, 采用不同稀释度的大蒜液对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌3种细菌进行抑菌效果研究, 旨在比

收稿日期: 2011-06-05
基金项目: 河南省教育厅项目(2008A180037); 周口师范学院青年科学基金(zknuqn200604)
作者简介: 葛红莲(1976), 女, 河南扶沟人, 副教授, 硕士, 主要从事微生物学与生态学教学与研究。
E-mail: gehonglian@yahoo.com.cn

较不同稀释度的大蒜液对不同细菌抑制作用的强弱,为大蒜在植物源生物农药、医疗或食品防腐保鲜等方面的开发和应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

河南扶沟白皮蒜,购于周口市万果园超市。供试菌种:大肠杆菌(*Escherichia coli*)、黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)。培养基:牛肉膏蛋白胨培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 大蒜液的制备 称取 5g 大蒜,量取 10mL 磷酸盐缓冲液(pH 7.8),用组织捣碎机破碎,过滤,滤液为大蒜原液,过滤除菌,分装,置-20℃冰箱中待用。

1.2.2 菌悬液制备 取芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的新鲜培养物,用无菌水配制成 2×10^5 cfu/mL 菌悬液。

1.2.3 抑菌圈的测定 采用平板扩散法^[6]并稍作改进。取 1 mL 细菌悬液(2×10^5 cfu/mL)与 45~50℃的 10 mL 的 NA 培养基混合后,倒入灭菌的培养皿中,制成含病原菌的平板,在平板上均匀放置 3 片直径为 6 mm 的灭菌滤纸片,将大蒜液分别配制成体积分数为 80%、60%、40%、20%的溶液,在每个滤纸片上加 5 μL 不同稀释度的大蒜液,每处理 3 皿,于 37℃培养 24 h,测量各处理的抑菌圈直径,以此平均值评价不同体积分数大蒜液的抑菌能力。

1.2.4 琼脂稀释法测定最低抑菌浓度(MIC) 用 NA 琼脂培养基以稀释法^[7]将大蒜液配制成 80%、60%、40%、20% 4 个梯度,移入平皿,将浓度为 2×10^5 cfu/mL 的芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌悬液,分别接种于含有不同梯度大蒜液的 NA 琼脂培养基中;另做不含大蒜汁的培养基接种菌悬液,作为生长菌的空白对照。样品于 37℃培养 48 h,观察细菌生长情况,测定菌种的 MIC。菌完全无生长记为“-”,菌生长记为“+”。

1.2.5 琼脂培养基法测定最小杀菌浓度(MBC) 采用稀释法将大蒜液稀释为体积分数 80%、60%、40%、20%的溶液,接种浓度为 2×10^5 cfu/mL 的菌悬液,另作空白对照,样品置 37℃培养,放置不同时间,观察细菌生长情况。同一菌种测定 4 株菌的 MBC,结果取平均值^[8]。

每个试验组做 3 个重复,最后取各组的平均值进行分析。

1.3 数据处理

用 SPSS 数据处理软件分析试验数据。

2 结果与分析

2.1 大蒜液的抑菌作用

将浸过原液、80%、60%、40%、20%大蒜提取液的滤纸片,分别贴于含大肠杆菌、芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的培养基中,大肠杆菌、芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌用 NA 琼脂培养基于 37℃培养 24 h,测定各种菌的抑菌圈直径。不同体积分数大蒜液对试验菌的抑菌效果如表 1 所示。随大蒜液体积分数的不断降低,其对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌能力逐渐减弱。原液、60%~80%大蒜液对 3 种受试菌的生长均有抑制作用,20%大蒜液对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌有抑制作用,而对大肠杆菌生长无抑制作用。同一浓度下,对芽孢杆菌的抑菌圈直径最大,金黄色葡萄球菌次之,大肠杆菌的抑菌圈直径最小,说明芽孢杆菌对大蒜液更为敏感。原因可能是 3 种细菌细胞结构成分不同,芽孢杆菌具有芽孢,大肠杆菌属于革兰氏阴性菌,而金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌,大蒜液可能抑制芽孢杆菌芽孢的萌发,大肠杆菌、金黄色葡萄球菌 2 种细菌的细胞壁结构有较大的差异,因此对大蒜液的耐受性有明显的不同。

表 1 不同体积分数大蒜液的抑菌效果 (抑菌圈直径) mm			
大蒜液 体积分数	芽孢杆菌	金黄色 葡萄球菌	大肠杆菌
原液	32.9a	28.3a	23.2a
80%	26.5b	21.5b	18.5b
60%	25.2c	19.5c	14.7c
40%	22.1d	18.3d	10.2d
20%	19.0e	14.4e	0e

注:同列不同小写字母代表差异显著($P < 0.05$)

2.2 大蒜液最低抑菌浓度(MIC)

通过稀释法测定了大蒜液对 3 种细菌的 MIC,结果表明,大蒜液对 3 种细菌的抑制作用与其体积分数呈正相关。当大蒜液达到一定体积分数时,即可产生强烈的抑菌、杀菌作用。MIC 的测定结果见表 2。当体积分数达到 40%时,芽孢杆菌就完全不生长了,而要使大肠杆菌完全被抑制,体积分数需达到 80%,金黄色葡萄球菌的 MIC 为 60%。体积分数低于 40%时,大肠杆菌、金黄色葡萄球菌都会大量增殖。试验结果显示,大蒜液对 3 种细菌的抑菌效果为:芽孢杆菌>金黄色葡萄球菌>大肠杆菌。

表 2 大蒜液对 3 种细菌的最低抑菌浓度

大蒜液 体积分数	芽孢杆菌	金黄色 葡萄球菌	大肠杆菌
原液	-	-	-
80%	-	-	-
60%	-	-	+
40%	-	+	+
20%	+	+	+

2.3 大蒜液最小杀菌浓度(MBC)

由表 3 可知,大蒜液处理菌体 7 d 后,体积分数为 40%~80%大蒜液对芽孢杆菌表现出杀菌效果,大蒜液对芽孢杆菌的最小杀菌浓度为 40%;体积分数为 60%~80%的大蒜液对金黄色葡萄球菌具有杀菌效果,其对金黄色葡萄球菌的最小杀菌浓度为 60%;原液对大肠杆菌有杀菌作用,稀释液对大肠杆菌没有杀菌效果。以上结果表明,大蒜液对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌具有较强的抑菌和杀菌作用,而对大肠杆菌的抑菌和杀菌作用较差,只有在较高浓度的情况下,才有一定的抑菌和杀菌效果。3 种细菌细胞结构、细胞壁结构的不同是出现这种差异的主要原因,此外还有其他一些原因也会影响到大蒜液的抑菌和杀菌效果。

表 3 大蒜液对 3 种细菌的最小杀菌浓度

大蒜液 体积分数	芽孢杆菌	金黄色 葡萄球菌	大肠杆菌
原液	-	-	-
80%	-	-	+
60%	-	-	+
40%	-	+	+
20%	+	+	+

3 讨论

有资料证明,大蒜主要成分为大蒜素,具有抑制、杀灭细菌的作用,其机制可能是大蒜素及分解产物阿霍烯、二硫醚、三硫醚等多种成分能透过细菌细胞膜进入细胞内,与半胱氨酸发生反应,使细菌缺乏半胱氨酸而不能进行生物氧化作用,从而干扰细菌正常新陈代谢。亦通过抑制细菌生长繁殖所依赖的巯基酶的活性,发挥抑制细菌生长或杀灭细菌的

作用^[9]。

本试验对大蒜液的抑菌、杀菌效能进行研究。根据大蒜液对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌抑菌圈的分析,大蒜液对这 3 种细菌的抑制作用均较强,芽孢杆菌最敏感,金黄色葡萄球菌次之,大肠杆菌却不太敏感。不同体积分数的大蒜液对细菌的抑制作用有显著性差异,并且细菌受抑制的效果随着体积分数降低而逐渐减弱。

根据大蒜液对芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 和 MBC 分析,大蒜液对 3 种细菌的 MIC 分别是 40%、60%、80%,MBC 分别为 40%、60%、原液。试验结果表明,在使用大蒜液作为消毒剂时,要有针对性,还应注意大蒜液的用量,因不同种类的细菌对大蒜液的敏感性有较大的差别。芽孢杆菌最敏感,金黄色葡萄球菌次之,但大肠杆菌却不敏感,所以消毒时需用不同的剂量,否则会影响治疗的效果。本研究为大蒜在植物源生物农药、医疗或食品防腐保鲜等方面的开发和应用提供了研究依据。

参考文献:

[1] 孙翠玲,于大胜.大蒜素的提取及其应用[J].广州化工,2009,37(6): 65.

[2] Agarwal K C. Therapeutic actions of garlic constituents [J]. Med Res Rev, 1996, 16: 114-124.

[3] 苏美琼,杨柏崇.大蒜的功效及综合利用研究进展[J].西北农业学报,2003,12(4): 151-156.

[4] 刘兴舜,宋风杰,于广建.大蒜素对番茄三种真菌病害的影响[J].东北农业大学学报,2004,35(4): 395-398.

[5] 孙桂林,刘小平,王红丽,等.大蒜生理活性物质对几种植物病原真菌的体外抑菌活性[J].新疆农业科学,2008,45(6): 1012-1016.

[6] 黄霞云.比较大蒜与抗生素抗菌效果的研究[J].现代医药卫生,2006,22(15): 2405.

[7] 吴旭彤.样品的体外抑菌实验[J].中华现代中西医杂志,2004(1): 15-17.

[8] 陈晓月,赵承辉,刘爽,等.大蒜素体外抗菌活性研究[J].沈阳农业大学学报,2008,39(1): 108-110.

[9] 宋卫国,李宝聚,刘开启.大蒜化学成分及其抗菌活性机理研究进展[J].园艺学报,2004,31(2): 263.