

不同温度处理后大蒜水提取液的抑菌效果研究

王 婉¹, 章 欢¹, 冷玉林², 刘 云¹, 申跃武¹, 蔡晓明¹

[摘要] **目的:**探讨浓度及温度对大蒜水提取液抑菌效果的影响。**方法:**以无菌蒸馏水作为溶剂,制备大蒜水提取液,采用平板法,测量大蒜水提取液在不同浓度和不同温度时抑制几种细菌生长的抑菌圈直径,分析两种因素下的抑菌效果。**结果:**不同浓度的大蒜水提取液抑菌效果不同,浓度越高,抑菌作用越强;质量百分比浓度 6.3% 及以上浓度的大蒜水提取液对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、乙型链球菌均有一定的抑制作用,抑制作用从强到弱依次为:金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 乙型链球菌 > 大肠埃希菌;温度对大蒜水提取液的抑菌效果有影响,随着温度的升高,大蒜水提取液的抑菌作用逐渐减弱。在 80 ℃ 及以上温度时,大蒜水提取液只对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌显示出较强的抑制作用。**结论:**大蒜水提取液体外的抑菌效果在不同浓度与不同温度时均存在差异。

[关键词] 细菌;抑菌效果;大蒜水提取液;浓度;温度

[中图分类号] R 378 **[文献标志码]** A **DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.04.004

Study on the antibacterial effect of garlic water extract treated with different temperature

WANG Wan¹, ZHANG Huan¹, LENG Yu-lin², LIU Yun¹, SHEN Yue-wu¹, CAI Xiao-ming¹

(1. Department of Biology, 2. Department of Information Retrieval Teaching,
North Sichuan Medical College, Nanchong Sichuan 637100, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of concentration and temperature on the antibacterial effect of water extract of garlic. **Methods:** With sterile distilled water as a solvent, the garlic water extract was prepared. The inhibitory zone diameters of several kinds of bacteria growth inhibited by different concentrations and temperatures of water extract of garlic were measured using the plate method. **Results:** The antimicrobial effects of different concentrations of garlic water extract were different. The higher the concentration, the stronger the inhibitory effect was. The equal to or more than 6.3% of garlic water extract of on *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, and *beta Streptococcus* had certain antibacterial effects. The antimicrobial effects on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *beta Streptococcus* and *E. coli* gradually decreased in turn. The temperature could affect the antibacterial effect of the water extract of garlic, and which gradually weakened with the increasing of temperature. At the temperature of 80 ℃ and above, the water extract of garlic only showed a strong inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. **Conclusions:** The antibacterial effect of garlic water extract at different concentrations and temperatures is different.

[Key words] bacterium; antibacterial effect; water extract of garlic; concentration; temperature

大蒜为百合科葱属植物蒜的鳞茎,性温、味辣,具有抗菌、消炎、祛风、止痢、散痈消毒等功效^[1],研究^[2]发现:大蒜对多种细菌和真菌均有较强的抑制或杀灭作用,被誉为植物广谱抗菌素。据报道,大蒜的主要抗菌活性成分是大蒜素,其抗菌原理在于大蒜素分子中的氧原子与细菌生长繁殖所必须的半胱氨酸中的巯基结合,抑制细菌生长繁殖^[3]。大多数研究都是采用有机溶剂为提取剂,研究大蒜素在常温下的抑菌效果。尽管大蒜素的水溶性较差,然而以水为溶剂提取大蒜素更加贴近现实生活,操作起

来也更为方便。本实验以大蒜为原料,探讨大蒜水提取液在不同的浓度与不同的温度时对几种细菌的体外抑制作用,一方面为人们日常生活提供实际参考依据,另一方面可丰富大蒜抑菌效果研究的素材。

1 材料与方法

1.1 实验材料 原料:从本地某大型超市购买的新鲜白皮大蒜;供试菌:金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、乙型链球菌。以上菌种由我院病原中心提供。

1.2 主要仪器设备 XY-500A 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市松青五金厂),L530 多管架自动平衡离心机(湘仪离心机仪器有限公司),G180TW 立式自动压力蒸汽灭菌器(厦门致微仪器有限公司),SHP-250 型生化培养箱(上海精宏实验设备有限公司),SW-CJ-2F 洁净工作台(苏州安泰空气技术有

[收稿日期] 2016-06-10 [修回日期] 2018-11-01

[作者单位] 川北医学院 1. 生物学教研室, 2. 文献检索教研室, 四川南充 637100

[作者简介] 王 婉(1980-),女,实验师。

[通信作者] 蔡晓明, 硕士研究生导师, 教授。 E-mail: xmcai2015@163.com

限公司), T1214.2 游标卡尺(成都成量工具集团有限公司), HH-9 数显恒温水浴锅(金坛市国旺实验仪器厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 大蒜水提取液的制备 将新鲜大蒜剥皮,挑选一定量无芽无腐烂的大蒜,用蒸馏水洗净,晾干后放入冰箱冷冻层。隔夜后取出大蒜,用组织捣碎机制成蒜泥,40 ℃ 酶解 30 min 后称取蒜泥 10 g,加入 30 mL 无菌蒸馏水,充分搅拌,再以 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液(淡黄色,闻之有大蒜臭味),质量百分比浓度为 25.0%,然后以无菌蒸馏水稀释成以下 4 种浓度:12.5%、6.3%、3.2%、1.6%,分别用棕色磨口瓶盛装,除菌后 4 ℃ 避光保存。

1.3.2 制备培养基与细菌接种 将配制好的琼脂液放入高压蒸汽灭菌锅中以 15 MPa,210 ℃ 灭菌 60 min,在超净工作台上趁热将琼脂液倒入已灭菌干燥的细菌培养皿,冷却,制成琼脂培养基;待一部分琼脂培养基冷至约 50 ℃,以无菌操作按量加入灭菌脱纤维维血,制成血琼脂培养基,冷却。在冷却后的无菌琼脂平板上分别接种上金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌,在血琼脂平板上接种乙型链球菌,待进行抑菌效果测试。

1.3.3 制备药敏纸片 用打孔器将吸水性能好且质地均匀的圆形滤纸打成直径为 6 mm 的小圆纸片,置于干燥清洁的试管内,放入高压蒸汽灭菌锅中 200 ℃ 灭菌 60 min,冷却后一部分浸泡于不同浓度的大蒜水提取液中约 30 min。

1.3.4 加热处理 将各种浓度的大蒜水提取液置于数显恒温水浴锅中,在温度分别为 40 ℃、60 ℃、80 ℃、100 ℃ 下恒温水浴 30 min,冷却至室温(约 25 ℃)后,将已灭菌干燥的滤纸片放入其中浸泡 30 min。

1.3.5 抑菌效果测试 将每个涂菌培养基等分成 4 个区域后贴上含有大蒜水提取物的药敏纸片,做好标记,并设无菌蒸馏水为阴性对照;滤纸片之间距离应基本相等,各纸片中心相距应 > 24 mm,纸片距平板内缘应 > 15 mm^[4];平板置于 37 ℃ 的孵箱中培养 24 h 后取出,用游标卡尺测量抑菌圈直径,每种细菌重复 3 次。

抑菌直径为每个培养皿上所形成的抑菌圈直径的平均数,若抑菌圈不规则取最大直径与最小直径的平均值,阴性对照应无抑菌圈产生,否则实验无效。

2 结果

2.1 大蒜水提取液(室温 25 ℃)对各供试菌的抑菌效果 结果显示:(1)不同浓度的大蒜水提取液抑菌效果不同,浓度越高,抑菌作用越强;(2)质量百分比浓度 25.0% 的大蒜水提取液对各供试菌均有较强的抑制作用,浓度低至 1.6% 时,大蒜水提取液仅对金黄色葡萄球菌显示出较弱的抑制作用;(3)大蒜水提取液对供试菌的抑菌作用从强到弱依次为:金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 乙型链球菌 > 大肠杆菌(见表 1)。

表 1 大蒜水提取液(室温 25 ℃)对各供试菌的抑菌效果

| 大蒜水提取液 浓度% | 大肠 杆菌 | 枯草芽孢 杆菌 | 金黄色 葡萄球菌 | 乙型 链球菌 |
|---------------|----------|------------|-------------|-----------|
| 25.0 | 11.0 | 16.0 | 17.0 | 12.5 |
| 12.5 | 9.0 | 13.0 | 14.0 | 10.5 |
| 6.3 | 8.0 | 11.5 | 12.5 | 8.5 |
| 3.2 | — | 9.0 | 10.5 | — |
| 1.6 | — | — | 9.0 | — |
| 对照 | — | — | — | — |

注:表中各种细菌对应下的数据为多次实际测得的抑菌圈直径的平均值(单位:mm)

2.2 大蒜水提取液在不同加热温度时大肠埃希菌的抑菌效果 结果显示:(1)40 ℃ 时,各浓度的大蒜水提取液对大肠埃希菌的抑制作用与室温(25 ℃)比较,无明显变化;(2)在 60 ℃ 及以上温度,大蒜水提取液的抑菌效果减弱,只有 12.5% 及以上浓度的大蒜水提取液对大肠埃希菌显示出抑制作用;(3)在抑制大肠埃希菌的大蒜水提取液有效浓度范围,随着温度的升高,大蒜水提取液的抑菌作用逐渐减弱。100 ℃ 时未见抑菌作用(见表 2)。

表 2 大蒜水提取液在不同加热温度时大肠埃希菌的抑菌效果

| 加热 温度/℃ | 质量百分比浓度/% | | | | | 合计 |
|------------|-----------|------|-----|-----|-----|----|
| | 25.0 | 12.5 | 6.3 | 3.2 | 1.6 | |
| 40 | 10.5 | 9.0 | 7.5 | — | — | — |
| 60 | 8.0 | 7.0 | — | — | — | — |
| 80 | 7.0 | 6.0 | — | — | — | — |
| 100 | — | — | — | — | — | — |

注:表中不同浓度对应下的数据为多次实际测得的抑菌圈直径的平均值(单位:mm)

2.3 大蒜水提取液在不同加热温度时对金黄色葡萄球菌的抑菌效果 结果显示:(1)40 ℃ 时,各浓度的大蒜水提取液对金黄色葡萄球菌的抑制作用与

25 ℃时基本相同;(2)在60 ℃时,6.3%及以上浓度的大蒜水提取液对金黄色葡萄球菌显示出较强的抑制作用,3.2%的大蒜水提取液对金黄色葡萄球菌抑制作用较弱;(3)温度在80 ℃及以上时,大蒜水提取液的抑菌效果明显减弱。100 ℃时只有25%的大蒜水提取液对金黄色葡萄球菌有较强的抑制作用(见表3)。

表3 大蒜水提取液在不同加热温度时对金葡球菌的抑菌效果

| 加热 温度/℃ | 质量百分比浓度/% | | | | | 合计 |
|------------|-----------|------|------|------|-----|----|
| | 25.0 | 12.5 | 6.3 | 3.2 | 1.6 | |
| 40 | 16.5 | 13.0 | 12.0 | 10.0 | 8.5 | — |
| 60 | 16.0 | 12.0 | 9.5 | 8.0 | — | — |
| 80 | 15.0 | 10.0 | — | — | — | — |
| 100 | 12.5 | — | — | — | — | — |

2.4 大蒜水提取液在不同加热温度时对枯草杆菌的抑菌效果 结果显示:(1)40 ℃时,各浓度的大蒜水提取液对枯草杆菌的抑制作用与25 ℃时相比,差异不大;(2)在60 ℃时,12.5%及以上浓度的大蒜水提取液对枯草杆菌有较强的抑制作用,6.3%及3.2%的大蒜水提取液对枯草杆菌的抑制作用较弱;(3)温度在80 ℃及以上时,大蒜水提取液的抑菌效果明显减弱。100 ℃时只有25.0%的大蒜水提取液对枯草杆菌显示出较强的抑制作用(见表4)。

表4 大蒜水提取液在不同加热温度时对枯草杆菌的抑菌效果

| 加热 温度/℃ | 质量百分比浓度/% | | | | | 合计 |
|------------|-----------|------|------|-----|-----|----|
| | 25.0 | 12.5 | 6.3 | 3.2 | 1.6 | |
| 40 | 15.5 | 12.5 | 10.5 | 8.5 | — | — |
| 60 | 14.5 | 11.0 | 8.5 | 7.5 | — | — |
| 80 | 12.5 | 9.5 | — | — | — | — |
| 100 | 10.0 | — | — | — | — | — |

2.5 大蒜水提取液在不同加热温度时对乙型链球菌的抑菌效果 结果显示:(1)40 ℃时,各浓度的大蒜水提取液对乙型链球菌的抑制作用与25 ℃时比较,无明显变化;(2)在60 ℃及以上温度,大蒜水提取液的抑菌效果减弱,只有12.5%及以上浓度的大蒜水提取液对乙型链球菌显示出较弱的抑制作用;(3)随着温度的升高,大蒜水提取液的抑菌作用逐渐减弱。100 ℃时只有25.0%的大蒜水提取液对乙型链球菌显示出抑制作用。

表5 大蒜水提取液在不同加热温度时对乙型链球菌的抑菌效果

| 加热 温度/℃ | 质量百分比浓度/% | | | | | 合计 |
|------------|-----------|------|-----|-----|-----|----|
| | 25.0 | 12.5 | 6.3 | 3.2 | 1.6 | |
| 40 | 12.0 | 9.5 | 8.0 | — | — | — |
| 60 | 9.0 | 7.5 | — | — | — | — |
| 80 | 8.0 | 6.5 | — | — | — | — |
| 100 | 7.5 | — | — | — | — | — |

3 讨论

大蒜具有相当高的营养价值和药用价值。它是一种植物广谱抗生素,对多种球菌、杆菌、霉菌、真菌、病毒、阿米巴原虫、阴道滴虫、蛲虫等都有抑制和杀灭作用,可以预防和治疗微生物和寄生虫引起的疾病^[5]。大蒜素抗菌谱广,对革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌都具有较好的抑制效果^[6-8]。大蒜素具有不易产生耐药性,抗菌谱广且毒副作用小等优点,因此,在临床上的应用前景十分可观。

有研究^[9]报道,大蒜提取液抗菌效果非常明显,生蒜抑菌作用明显高于熟蒜,高浓度抑菌作用强于低浓度。在本实验中,大蒜水提取液对供试菌的抑菌效果表现出较明显的浓度差异,浓度越高,抑菌作用越强,说明具有一定的量效关系。该结果与以上研究报道一致,李岩等^[10]研究报道的结果也与此相符合。在有效抑菌浓度范围内,大蒜水提取液的抑菌作用从强到弱依次为:金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌>乙型链球菌>大肠埃希菌,该实验结果未见研究报道。另外,温度对大蒜水提取液的抑菌效果有影响,随着温度的升高,抑菌作用逐渐减弱;在80 ℃及以上温度,大蒜水提取液对供试菌的抑菌作用明显减弱,这与时威等^[11]研究报道的结果接近,但与吴海婴等^[12]的研究结果有些出入。

目前国内外关于大蒜抗菌成分提取的方法主要有以下几种:水蒸气蒸馏法、有机溶剂提取法、超临界CO₂萃取法。各种方法所得到的主要有效成分有所不同,且都有各自的优缺点^[13]。本实验以水作为溶剂提取大蒜水溶性成分,其优点是简单易行,能为人们日常生活提供借鉴,有一定的实用价值,缺点是提取率较低,未进行分离纯化,有待进一步深入研究。该实验表明:大蒜水提取液的抑菌效果在不同浓度与不同温度时均存在差异。若要保持大蒜水提取液的抗菌功效,其浓度应达到一定的数值,受热温度不宜超过80 ℃。

小、出血少,有利于骨折愈合;(4)经济实用,避免内固定耗材,克氏针留在皮外,容易取出,外固定架可拆卸,不需要二次手术取出内固定;(5)并发症少,克氏针内固定对肌腱无干扰,方便功能锻炼。

3D 打印技术辅助下微创(闭合或有限切开)复位克氏针内固定外固定支架外固定和切开复位接骨板内固定两种手术方法治疗桡骨远端不稳定性骨折都可以达到满意的治疗效果,前者具有微创、手术时间短、稳定可靠、经济适用、避免二次手术等优点,是治疗桡骨远端不稳定性骨折的一种安全有效方法。但本组临床资料例数较少,且随访时间较短,长期疗效有待进一步观察研究。

[参 考 文 献]

- [1] ALLURI R, LONGACRE M, PANNELL W, *et al.* Volar, intramedullary, and percutaneous fixation of distal radius fractures[J]. *J Wrist Surg*, 2015, 4(4):292.
- [2] MINEGISHI H, DOHI O, AN S, *et al.* Treatment of unstable distal radius fractures with the volar locking plate[J]. *Ups J Med Sci*, 2011, 116(4):280.
- [3] CHIRPAZ-CERBAT JM, RUATTI S, HOULLON C, *et al.* Dorsally displaced distal radius fractures treated by fixed-angle volar plating: Grip and pronosupination strength recovery. A prospective study[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2011, 97(5):465.
- [4] ZENKE Y, SAKAI A, OSHIGE T, *et al.* Clinical results of volar locking plate for distal radius fractures: conventional versus minimally invasive plate osteosynthesis[J]. *J Orthop Trauma*, 2011, 25(7):425.
- [5] RICHARD MJ, WARTINBEE DA, RIBOH J, *et al.* Analysis of the complications of palmar plating versus external fixation for fractures of the distal radius[J]. *J Hand Surg Am*, 2011, 36(10):1614.
- [6] BERGLUND LM, MESSER TM. Complications of volar plate fixation for managing distal radius fractures [J]. *J Am Acad*

Orthop Surg, 2009, 17(6):369.

- [7] MARGALOT Z, HASSE SC, KOTSIS SV, *et al.* A meta-analysis of outcomes of external fixation versus plate osteosynthesis for unstable distal radius fractures[J]. *J Hand Surg*, 2005, 30(6):1185.
- [8] 赵继荣,李红专,慕向前. 桡骨远端骨折的非手术治疗进展[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2015, 23(12):77.
- [9] 巩海贤,刘永涛. 桡骨远端骨折治疗进展[J]. *滨州医学院学报*, 2013, 36(1):52.
- [10] LICHTMAN DM, BIUDRA RR, BOYER MI, *et al.* American Academy of Orthopaedic Surgeons Clinical practice guideline on: the treatment of distal radius fractures[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2011, 93(8):775.
- [11] NESBITT KS, FAIDIA JM, LES C. Assessment Of instability factors in adult distal radial fractures [J]. *J Hand Surg Am*, 2004, 29(6):1128.
- [12] COSTA ML, ACHTEN J, PLANT C, *et al.* UK DRAFFT: a randomised controlled trial of percutaneous fixation with Kirschner wires versus volar locking-plate fixation in the treatment of adult patients with a dorsally displaced fracture of the distal radius[J]. *Health Technol Assess*, 2015, 19(17):1.
- [13] 李德胜,李皓恒. 掌侧锁定钢板内固定与外固定支架修复桡骨远端不稳定性骨折:随机对照[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(9):1429.
- [14] 张计成,张辉,刘向阳. 外固定架联合交叉克氏针固定治疗桡骨远端不稳定性骨折[J]. *实用骨科杂志*, 2012, 18(5):473.
- [15] BAJWA AS, RAMMAPP A M, LEE L, *et al.* Treatment of unstable distal radius fractures: non-invasive dynamic external xator versus volar locking plate-functional and radiological outcome in a prospective case-controlled series[J]. *SICOT J*, 2015, 1(34):1.
- [16] STAROSOLSKI ZA, KAN JH, ROSENFELD SD, *et al.* Application of 3-D printing (rapid prototyping) for creating physical models of pediatric orthopedic disorders[J]. *Pediatr Radiol*, 2014, 44(2):216.

(本 文 编 辑 卢 玉 清)

(上 接 第 436 页)

[参 考 文 献]

- [1] 王颖钰,陆茵,钱文慧,等. 大蒜有机硫化物抗肿瘤机制及应用前景探讨[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(19):11454.
- [2] 李岩,吕昌龙,桑力轩,等. 黑大蒜提取物联合抗生素对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的体外抗菌作用研究[J]. *微生物学杂志*, 2014, 34(2):59.
- [3] 闻平,陈蕾,郭月芳. 大蒜素对白色念珠菌生长的抑制作用[J]. *微生物学杂志*, 2007, 27(4):104.
- [4] 刘光明,张俊冬,梁瑞. 检测杜仲、连翘、大蒜和生姜四种药用植物的抑菌效果[J]. *成都医学院学报*, 2011, 6(3):241.
- [5] 杨夏雨,周超,陈映,等. 大理独蒜与丫蒜提取物体外抑菌效果研究[J]. *亚太传统医药*, 2012, 8(10):29.
- [6] 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.

- [7] 葛红莲,赵锦慧,李军伟. 大蒜液抗菌活性的研究[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(10):102.
- [8] 郭红珍,王秋芬,马立芝. 大蒜对真菌抑制作用的研究[J]. *食品工业*, 2008, 10(3):23.
- [9] 何祖光,柳枝,刘子龙,等. 大蒜提取液临床体外抗菌活性研究[J]. *江西医药*, 2009, 44(7):723.
- [10] 李岩,吕昌龙,桑力轩,等. 黑大蒜提取物联合抗生素对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的体外抗菌作用研究[J]. *微生物学杂志*, 2014, 34(2):59.
- [11] 时威,张岩,白阳,刘颖. 大蒜素的抑菌作用及其稳定性研究[J]. *食品与发酵科技*, 2011, 47(3):76.
- [12] 吴海婴,张元礼. 大蒜提取物抑菌活性的研究[J]. *中国医疗前沿*, 2007, 2(13):109.
- [13] 杨俊峰. 大蒜素研究进展[J]. *广州化工*, 2011, 39(1):32.

(本 文 编 辑 刘 畅)