

大蒜汁的抑菌作用及稳定性研究

宋军霞¹, 祁红兵^{2*}, 宁文醒²

(1. 岭南师范学院地理科学学院, 广东湛江 524048; 2. 岭南师范学院生命科学与技术学院, 广东湛江 524048)

摘要 采用新鲜大蒜汁, 选用大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌为试验菌株, 研究大蒜的抑菌特性; 考察不同浓度的大蒜汁经过不同加热温度、不同加热时间和不同 pH 缓冲液处理对大蒜汁抑菌效果的影响。结果表明, 大蒜汁的抑菌作用效果随着蒜汁浓度的升高而增强; 在 35 °C 条件下大蒜汁的抑菌效果最好, 随着温度的升高大蒜汁抑菌作用逐渐减弱直至消失; 在 55 °C 条件下, 大蒜汁的抑菌作用效果随着热处理时间的延长而逐渐减弱; 大蒜汁在弱酸性的环境下抑菌作用较强; 大蒜汁对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为 6.0%、8.0% 和 8.0%, 最低杀菌浓度(MBC)分别为 8.0%、12.0% 和 14.0%。

关键词 大蒜汁; 抑菌作用; 影响因素; 稳定性

中图分类号 R 285 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)24-0189-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.24.046



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Antibacterial Effects of Garlic Juice and Stability

SONG Jun-xia¹, QI Hong-bing², NING Wen-xing² (1. School of Geographic Sciences, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048; 2. School of Life Science and Technology, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048)

Abstract Fresh garlic juice was used in the experiment. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were used as the experimental strains to study the antibacterial activity of garlic. The effect of different concentration of garlic juice on the antibacterial effect of garlic juice after different heating temperature, heating time and different pH buffer solution was investigated. The results showed that the antibacterial effect of garlic juice increased with the increase of garlic juice concentration. Under the condition of 35 °C, the garlic juice had the best antibacterial effect. With the increase of the temperature, the antibacterial effect of garlic juice gradually weakened and disappeared. Under the condition of 55 °C, the antibacterial effect of garlic juice was gradually decreased with the increase of heat treatment time. The effect of garlic juice on the weak acidity of pH was stronger. The minimum inhibitory concentration (MIC) of garlic juice against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* was 6.0%, 8.0% and 8.0%, respectively, and the minimum bactericidal concentration (MBC) was 8.0%, 12.0% and 14.0%, respectively.

Key words Garlic juice; Antibacterial effect; Influencing factors; Stability

大蒜, 也叫葫蒜, 俗称蒜头, 百合科葱属, 属多年生草本植物。大蒜营养丰富^[1], 风味独特。大蒜与其他葱属植物最主要的区别是大蒜独特的辛辣气味, 正是由于这种气味可以解除腥味, 大蒜成为厨房烹饪不可或缺的调料之一。大蒜中的活性成分主要是一些含硫化合物, 大蒜素^[2]也叫蒜辣素, 是主要的活性成分, 大蒜素是三硫代烯丙醚类化合物, 存在于百合科植物大蒜的鳞茎中。大蒜素的分子式为 C₆H₁₀S₂O, 是一种强的抗氧化剂^[3-5]和杀菌物质^[6-9]。

我国大蒜产量很高, 是世界产量排名第一的国家, 占世界总产量的 25% 左右。我国有多个省份适合种植大蒜, 而且大蒜品种优良, 受到国内外消费者青睐, 从而促进了大蒜生产以及食品加工、医药用品、农业杀虫剂、饲料加工产品的发展, 具有广阔的市场发展空间和开发潜力。大蒜在医学上也称植物广谱抗生素, 对许多动物性病源微生物具有明显的抑制作用^[10-14], 关于大蒜抑菌作用的稳定性报道较少。该试验采用新鲜大蒜汁, 选用大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌为试验菌株, 研究大蒜的抑菌能力及稳定性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与菌种。新鲜、无芽、无虫变的大蒜(市售), 置于冰箱中保存。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌, 由

岭南师范学院微生物实验室提供。

1.1.2 培养基。牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 3 g、纯化琼脂 20 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、蒸馏水 1 L、加热溶解, 调节 pH 7.3 左右, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min。

1.1.3 试剂。一水合柠檬酸, 分析纯 AR, 广州化学试剂厂; 磷酸氢二钠, 分析纯, 天津市光复精细化工研究所; 蛋白胨、牛肉膏, 生化试剂, 北京奥博星生物技术有限责任公司; 纯化琼脂, 生化试剂, 廉江市台兴海洋生物科技有限公司; 氯化钠、氢氧化钠, 分析纯, 成都市科龙化工试剂厂; 葡萄糖, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂。

1.1.4 主要仪器和设备。PHC-3C 精密酸度计, 上海天达仪器有限公司; FA2004B 型分析天平, 上海天美天平仪器有限公司; 棱光 752N 分光光度计, 上海仪电分析仪器有限公司; SPL-250 生化培养箱, 天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司; LDZM-80KCS-II 立式高压蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; THZ-100 恒温摇床, 上海一恒科学仪器有限公司; SW-CJ-1Bu 型单人单面净化工作台, 苏州净化设备有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 大蒜汁的制备。取新鲜、无病变的大蒜, 剥皮, 用榨汁机榨成汁, 得到浑浊蒜汁再于离心机中 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为 100% 的大蒜汁, 用无菌水按试管二倍稀释法稀释成浓度为 50.00%、25.00%、12.50%、6.25%、3.12% 的大蒜汁稀释液, 备用。

1.2.2 菌种活化和菌悬液的制备。将在斜面保藏的菌体挑

基金项目 岭南师范学院校内项目(2019)。

作者简介 宋军霞(1971—), 女, 河南信阳人, 实验师, 从事自然地理研究。* 通信作者, 副教授, 博士, 从事微生物发酵研究。

收稿日期 2021-08-03

去一环,划线于斜面固体培养表面,置于 36 ℃ 的恒温干燥培养箱中培养活化 24 h。取一环试验菌于液体 10 mL 的培养基中,用力摇匀,用血细胞计数,使细胞分布均匀,用 9 mL 液体培养基稀释,配成含菌量为 10^6 个/mL 的菌悬液。

1.2.3 微生物数量的测定。采用显微镜直接计数法^[15]进行预备试验,采用平板菌落计数法^[16]进行试验计数。

1.2.4 抑菌测定方法。采用滤纸片琼脂扩散法,即将已配制好的菌悬液摇匀,用移液枪移取 0.1 mL 含菌量为 10^6 个/mL 的菌悬液 0.1 mL,滴在培养基表面,涂布均匀,将浸泡过大蒜汁的饱和滤纸片滤干,然后贴在培养基表面,一个平板贴 4 个滤纸片,倒置于 36 ℃ 恒温培养箱中培养。测量抑菌圈直径大小,每个试验重复 3 次,计算它们的平均值^[17]。

1.2.5 不同因素对大蒜汁抑菌效果的影响。

1.2.5.1 大蒜汁浓度对大蒜抑菌作用的影响。取适量大蒜汁稀释液,滤纸片置于大蒜汁中,浸泡 10 min。分别吸取 0.1 mL 含菌量为 10^6 个/mL 的试验菌悬液于相应的培养基上,用经干热灭菌的无菌玻璃涂布器涂匀。用镊子镊取浸泡至饱和的滤纸片,沥去多余的大蒜汁液体,无菌操作放入培养基表面^[18]。倒置平板于 36 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h。

1.2.5.2 加热温度对大蒜抑菌作用的影响。将制备的大蒜原汁用无菌水稀释配制成浓度为 25% 的大蒜汁,在自然条件下,分别通过在温度条件 15、25、35、45、55、65、75、85、95 ℃ 的水浴恒温锅处理 1 h 后,置于冰箱中备用。用滤纸片琼脂扩散法观察处理的大蒜汁对指示菌的抑菌效果。

1.2.5.3 加热时间对大蒜抑菌作用的影响。准备 6 个干净试管,将浓度为 50% 的大蒜汁装在这 6 个试管中,分别在 55 ℃ 恒温水浴锅中处理 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 后,取出备用。分别吸取 0.1 mL 含菌量为 10^6 个/mL 试验菌悬液于相应的培养基上,用经高温干热灭菌的玻璃涂布器涂布均

匀。用镊子镊取浸泡至饱和的滤纸圆片,沥去多余的大蒜汁,无菌操作放入培养基平板表面。倒置平板于 36 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h。

1.2.5.4 不同 pH 处理对大蒜抑菌作用的影响。分别取 pH 为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 的磷酸缓冲液各 2 mL 以及浓度为 25% 的大蒜汁 2 mL,将两者混合,放入滤纸片浸泡 1 h 至饱和,再将菌悬液浓度 10^6 个/mL 数量级的指示菌加入,涂布完成后,置于 36 ℃ 培养箱中培养 24 h,测量抑菌圈大小。

1.2.5.5 最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)的测定。按试管二倍稀释法,用液体培养基配制含不同浓度的大蒜汁,浓度分别为 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6%、1.8%。用移液枪移取 0.1 mL 的数量级为 10^6 个/mL 的 3 种试验菌悬液,分别注入装有 2 mL 的不同浓度大蒜汁液体培养基中,并做一组空白对照(未加入大蒜汁),将所有试管放入气浴恒温振荡培养箱中培养 24 h,然后观察各试管中是否出现浑浊现象,未出现浑浊则为大蒜汁稀释液的最低抑菌浓度(MIC),相同条件下继续培养 24 h,如未出现浑浊则为大蒜汁稀释液的最低杀菌浓度(MBC),共做 3 组平行试验。

2 结果与分析

2.1 大蒜汁浓度对抑菌作用的影响 从图 1~2 可以看出,不同浓度的大蒜汁对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果不同,大蒜汁浓度越大,抑菌效果越明显,当大蒜汁浓度为原汁的 3.12% 时,大蒜汁对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌均无明显抑菌的效果,金黄色葡萄球菌抑菌效果不明显;当大蒜汁浓度为 12.50% 时,3 种试验菌均有抑菌效果,大蒜汁对 3 种试验菌的抑菌强弱也不尽相同,相同浓度的大蒜汁对枯草芽孢杆菌抑菌作用最强,其次是金黄色葡萄球菌,最后是大肠杆菌。

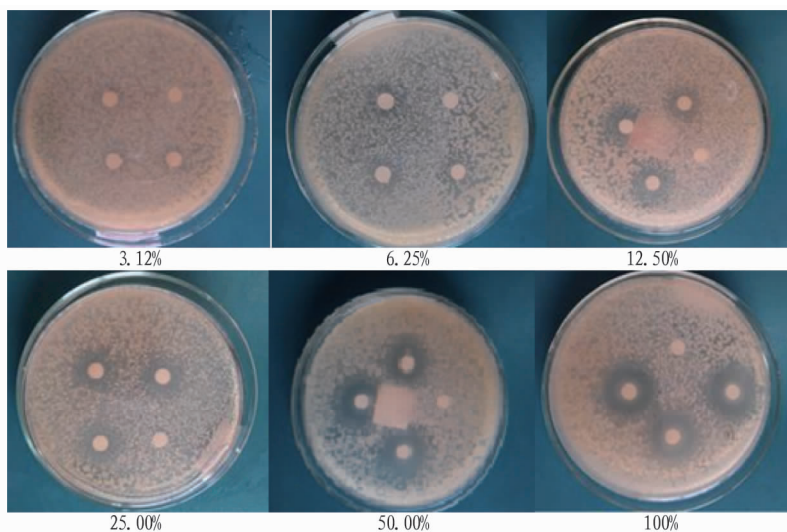


图 1 不同大蒜汁浓度对枯草芽孢杆菌的影响

Fig.1 Effect of different garlic juice concentrations on *Bacillus subtilis*

2.2 加热温度对大蒜抑菌作用的影响 从不同温度下 25% 大蒜汁对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌影响(图 3)可以看出,经过不同温度处理的大蒜汁活性发生

了改变,在 35 ℃ 处理 1 h 的大蒜汁抑菌效果最好,当大蒜汁的热处理 < 35 ℃ 时,随着温度的升高,抑菌效果呈增加趋势;相反地,当温度 > 35 ℃ 时,随着温度的升高,抑菌效果越差。

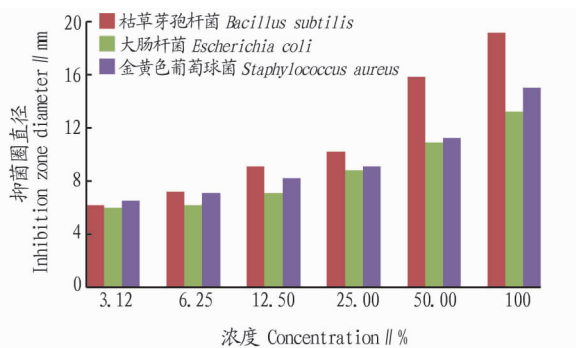


图2 不同大蒜汁浓度对不同指示菌抑菌作用的影响

Fig.2 Effect of different garlic juice concentrations on the antibacterial effect of different indicator bacteria

不同热处理的大蒜汁对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果也不尽相同。大蒜汁经 35 °C 处理后,对枯草芽孢杆菌抑菌效果最好,而对大肠杆菌的抑菌效果不是很明显。当温度低于 65 °C 时,大蒜汁的抑菌效果为枯草芽孢杆菌>金黄色葡萄球菌>大肠杆菌;当温度高于 65 °C 时,大蒜汁的抑菌效果金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌>大肠杆菌;随着热处理温度升高,大蒜汁抑菌作用逐渐减弱,当温度达到 85 °C,大蒜汁失去抑菌活性,高温处理会使大蒜汁的抑菌能力降低或散失,尤其是高温环境条件下更容易失活。

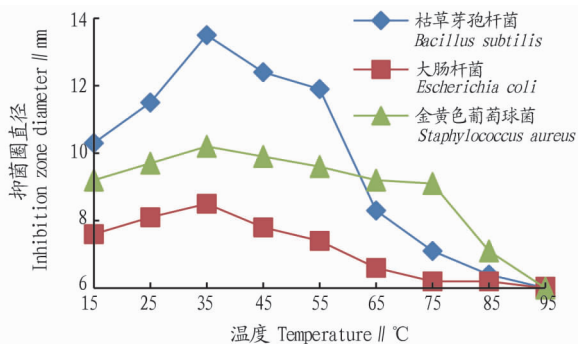


图3 不同温度处理的大蒜汁对不同指示菌抑菌作用的影响

Fig.3 Effect of garlic juice treated at different temperatures on the antibacterial effect of different indicator bacteria

2.3 不同加热时间对大蒜抑菌作用的影响 将大蒜置于 55 °C 的恒温水浴锅中处理 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h, 抑菌作用的效果如图 4 所示。从图 4 可以看出,当大蒜汁热处理的时间小于 1.0 h 时,随着热处理时间的增加,大蒜对 3 种试验菌的抑制作用均增强;而热处理时间大于 1.5 h 时,大蒜汁的抑菌作用效果明显下降,此时大蒜汁的生物活性成分遭到破坏,抑菌作用下降。由此可知大蒜汁在 55 °C 下加热会逐渐失去活性。

2.4 不同 pH 处理对大蒜抑菌作用的影响 从不同 pH 缓冲液处理过的大蒜汁对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果比较(图 5)可以看出,大蒜汁在较宽的 pH 范围内都有抑菌活性,在酸性比较强的条件下,抑菌效果也比较明显,相比而言,在碱性条件下的抑菌效果不明显;当缓冲液 pH 为 6.0 时,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最明显,在 pH 为 3.0 时,大蒜汁对大肠杆菌也具有较强的抑菌效果。大

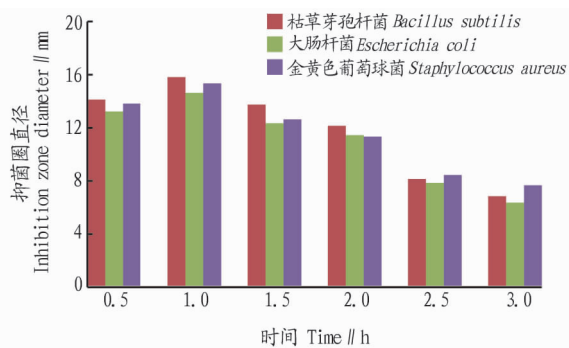


图4 不同加热时间处理的大蒜汁对不同指示菌抑制作用的影响

Fig.4 Effect of garlic juice treated with different heating time on the inhibition of different indicator bacteria

蒜汁在不同 pH 条件下对 3 种试验菌的抑菌效果也存在差异,特别是对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌,当 pH>6.0 时,随 pH 的升高抑菌效果明显下降,而对大肠杆菌的抑菌作用影响则不是很大。在 pH 为 8.0 时,对 3 种试验菌均完全失去活性。以上说明大蒜在弱酸性或中性条件有抑菌活性,而在碱性条件下大蒜汁将会失去抑菌活性。原因可能是大蒜素在碱性条件会加速它的水解反应,使大蒜素分子中的二硫键断裂,进而发生某种化学反应,生成二烯丙基二硫化物及二氧化硫等产物。

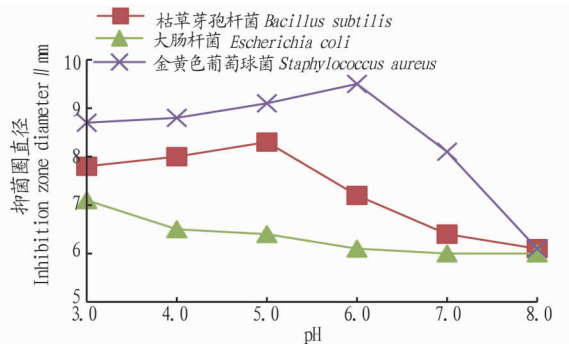


图5 不同 pH 处理的大蒜汁对不同指示菌抑制作用的影响

Fig.5 Effect of garlic juice treated with different pH on the inhibition of different indicator bacteria

2.5 MIC 和 MBC 的测定 由表 1 可知,大蒜汁对不同指示菌的 MIC 和 MBC 是不同的。大蒜汁对大肠杆菌的 MIC 为 6.0%,MBC 为 8.0%;对金黄色葡萄球菌的 MIC 是 8.0%,MBC 是 12.0%;而对枯草芽孢杆菌的 MIC 为 8.0%,MBC 较高,为 14.0%。由此可见,大蒜汁的抑菌活性较大,且其对大肠杆菌的抑制作用强于金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌。此外,大蒜汁对不同菌株的 MBC 普遍高于 MIC。

3 结论

大蒜汁的抑菌作用效果会受到试验菌株种类、大蒜汁浓度、温度、加热时间、不同 pH 处理等因素的影响;大蒜汁的抑菌作用随着大蒜汁浓度的增加而逐渐增强;大蒜汁加热处理温度会影响大蒜汁抑菌效果,温度过高会使大蒜汁失去活性;大蒜汁在弱酸性条件下对试验菌的抑菌作用较强,在碱性条件下抑菌作用效果不明显,比较容易失活;热处理时间对大蒜汁的抑菌效果也有影响,当处理时间超过 1 h 时,随着加热时间

的延长,抑菌效果逐渐减弱,甚至还会失去抑菌活性。

表1 大蒜汁对几种常见菌的MIC和MBC

Table 1 MIC and MBC of garlic juice on several common bacteria

大蒜汁浓度 Garlic juice concentration %	MIC			MBC			空白组 Blank group
	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	
16.0	-	-	-	-	-	-	+
14.0	-	-	-	-	-	-	+
12.0	-	-	-	-	-	+	+
10.0	-	-	-	-	+	+	+
8.0	-	-	-	-	+	+	+
6.0	-	+	+	+	+	+	+
4.0	+	+	+	+	+	+	+
2.0	+	+	+	+	+	+	+

注:+,试管出现浑浊;-试管未出现浑浊

Note:+.The test tube appears turbid;-The test tube does not appear turbid

大蒜汁对不同菌种的最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)是不同的,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌这3种试验菌的MIC分别为6.0%、8.0%、8.0%,MBC分别为8.0%、12.0%、14.0%。

大蒜汁的抑菌效果比较明显,其抑菌作用随着大蒜汁浓度的增加而逐渐增强;不同热处理的大蒜汁对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果也不尽相同;大蒜汁经35℃处理后,对枯草芽孢杆菌抑菌效果最好,而对大肠杆菌的抑作用不是很明显;当温度过高时,大蒜易失去活性而失去抑菌作用;热处理时间也会影响大蒜的抑菌效果,大蒜加热过长会影响大蒜的抑菌效果,所以生吃大蒜效果更好;大蒜汁在弱酸性条件下对试验菌的抑菌作用较强,在碱性条件下抑菌作用效果不明显,容易失去活性。

参考文献

- [1] 易诚, 宾冬梅, 杨军衡. 大蒜生理功能及开发利用[J]. 特产研究, 2002, 24(4): 59-63.
- [2] 曹庆穗, 徐为民, 严建民, 等. 大蒜的功能成分及其保健功效[J]. 江苏农业科学, 2004, 32(6): 134-136.
- [3] 史春志, 谷翔, 冯义柏, 等. 大蒜素对培养乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤细胞凋亡的影响[J]. 江苏医药, 2006, 32(1): 54-56.
- [4] 郑建仙. 功能性食品学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 5-7.

- [5] KIM S M, KUBOTA K, KOBAYASHI A. Antioxidative activity of sulfur-containing flavor compounds in garlic [J]. *Bioscience biotechnology and biochemistry*, 1997, 61(9): 1482-1485.
- [6] 张百俊, 杨和连, 刘爱琴. 大蒜功能研究现状[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2007, 35(4): 33-35.
- [7] 王继强, 赵中生, 龙强, 等. 大蒜素的性质、生理功能和在畜禽业中的应用前景[J]. 中国动物保健, 2006(10): 53-55.
- [8] 张俊杰. 大蒜的生理功能[J]. 中国食物与营养, 2006(5): 45-47.
- [9] 顾岩. 大蒜不同脱臭方法及脱臭蒜汁抑菌效果的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [10] 苏凤贤, 张宝善. 大蒜素的杀菌及其在食品中的防腐保鲜应用研究进展[J]. 中国调味品, 2006(6): 13-17.
- [11] 王去非, 蒋培森, 郭红樱. 大蒜素对变形链球菌抑制作用的体外研究[J]. 口腔医学, 2008, 28(2): 87-88.
- [12] 施金玲, 蔡璇, 孙端阳, 等. 大蒜素、氟康唑对医院感染酵母菌的体外抗菌活性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(12): 1339-1341.
- [13] 张庭廷, 刘锡云. 大蒜制品的开发和应用[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2001, 24(1): 54-56.
- [14] 陈雄, 乔昕, 林向东, 等. 大蒜油抗菌作用的初步研究[J]. 中国调味品, 2002(10): 14-15, 19.
- [15] 朱旭芬. 现代微生物学实验技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2011: 114-127.
- [16] 蔡信之, 黄君红. 微生物学实验[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2010: 63-72.
- [17] 晏增. 杉木心材精油的提取、分离及抑菌活性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2004.
- [18] 苏凤贤. 大蒜汁生物抑菌特性的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2007.