

老蒜提取物萃取部位的抑菌活性及成分分析

王小敏, 张民, 杨钰昆

(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 本实验将大蒜切片后于室温下浸泡于 10% 乙醇水溶液或者蒸馏水一段时间, 得到老蒜提取物样品一和样品二; 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇对样品一和样品二进行萃取, 得到不同极性的萃取部位, 以多种细菌、霉菌、放线菌为供试菌进行抑菌圈实验, 研究各个萃取部位的抑菌活性。实验结果表明石油醚层和乙酸乙酯层表现出了较强的抑菌活性, 正丁醇层抑菌活性较弱, 水层没有抑菌活性。选取抑菌活性较强的石油醚层和乙酸乙酯层进行了气质联用分析, 样品一石油醚层中含有的多种具有二硫键的化合物可能使其具有较强的抑菌活性, 而且样品一和样品二的石油醚层和乙酸乙酯层均鉴定出多种酚类物质和有机酸, 对其抑菌活性可能有一定的贡献。老蒜提取物样品一、样品二的功能成分存在的差异导致了其抑菌活性的不同。

关键词: 老蒜提取物; 抑菌活性; 气质联用; 化学成分

文章编号: 1673-9078(2015)1-65-70

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.1.013

Antimicrobial Activities and Component Analysis of Solvent Extracts from Aged Garlic Extract

WANG Xiao-min, ZHANG Min, YANG Yu-kun

(College of Food Science and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Two kinds of aged garlic extracts (AGEs) namely AGE-1 and AGE-2 were prepared by soaking fresh garlic slices in a solution of 10% ethanol and distilled water, respectively, for a certain period, at room temperature. Subsequently, AGE-1 and AGE-2 were sequentially extracted with petroleum ether, ethyl acetate, and n-butanol to yield fractions with different polarities. Inhibition zone tests were employed to study the antimicrobial activities of these fractions against multiple bacteria, mold fungi, and actinomycetes. The results showed that the petroleum ether and ethyl acetate fractions exhibited high antimicrobial activities, the n-butanol fraction showed low antimicrobial activity, and the water fraction exhibited no antimicrobial activity. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the petroleum ether and ethyl acetate fractions with high antimicrobial activities. In AGE-1, various compounds containing -S(O)-S- groups in the petroleum ether fraction might have led to the strong antimicrobial activity. In addition, multiple phenols and organic acids were found in the petroleum ether and ethyl acetate fractions from AGE-1 and AGE-2, and they might have contributed to the antimicrobial activities of AGE. The differences in the functional components between AGE-1 and AGE-2 might have caused the difference in their antimicrobial activities.

Key words: aged garlic extract; antimicrobial activity; gas chromatography-mass spectrometry; chemical components

大蒜不仅被用于食物调味品, 更用于多种疾病的预防和治疗, 具有抗肿瘤、预防心脑血管疾病、抗衰老、抗微生物、抗突变、抗癌和免疫活性。然而大蒜的刺激性和难闻的气味限制了其消费和利用。

老蒜提取物 (aged garlic extract, AGE) 是一种特殊的大蒜产品, 具有安全、低刺激性的特点。将新鲜大蒜切片后浸泡于低浓度乙醇水溶液中, 于室温下避

收稿日期: 2014-06-27

基金项目: 天津科学技术委员会 (14JCZDJ34800)

作者简介: 王小敏 (1989-), 女, 博士研究生, 主要从事食品营养与食品添加剂方面的研究工作

通讯作者: 张民 (1972-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事食品化学与食品营养方面的研究工作

光保存 10 个月或者 20 个月, 过滤后得到的浸提液经减压低温浓缩即老蒜提取物^[1]。老蒜提取物在其老化过程中, 生蒜中原有的不稳定的化合物, 通过酶催化或者自然反应产生了独特的对人体有益的有机硫化物以及生物碱^[2]。有文献^[3]报道称 λ -谷氨酰半胱氨酸是大蒜中含硫化合物的前体物质, 经过水解氧化可以转化为蒜氨酸。在老蒜提取物的制作过程中, 蒜氨酸逐渐损失形成硫代亚磺酸酯, 硫代亚磺酸酯不稳定逐渐转化为二烯丙基二硫化物、二烯丙基三硫化物等具有二硫键的化合物, 这些具有二硫键的化合物是大蒜中主要的抑菌活性物质。与其他大蒜产品相比, 老蒜提取物具有很强的抗氧化活性及自由基清除活性。另外, 有报道称老蒜提取物还具有抗衰老、抗癌、预防高血

压的作用^[4]。大蒜的抑菌活性已经有相关报道^[5],但是关于老蒜提取物的抑菌活性研究还未见报道。

本实验以课题组制作的两种老蒜提取物为原料,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇对其进行萃取,得到其不同极性的萃取部位,以多种细菌、霉菌、放线菌为供试菌,采用抑菌圈实验筛选其有抑菌活性的部位,利用气质联用对抑菌活性较强的部位的成分进行了分析,并讨论了其组成成分与抑菌活性的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料

实验室前期制作的老蒜提取物样品,样品一(AGE-1):将普通白皮大蒜切片后于室温下在10%乙醇水溶液中浸泡90 d;样品二(AGE-2):将大蒜切片后于室温下在蒸馏水中浸泡20 d,过滤得到浸提液,浸提液40℃旋转蒸发浓缩后即得到老蒜提取物。取样品一、样品二加水溶解后依次用石油醚(60℃~90℃)、乙酸乙酯、正丁醇进行液液萃取,每种溶剂分别萃取两次,合并两次萃取液进行浓缩,浓缩液在水浴锅上挥干残留溶剂,得到样品的石油醚层、乙酸乙酯层、正丁醇层和水层。将老蒜提取物不同萃取部位的样品分散于蒸馏水中,制成50 mg/mL的分散液用于抑菌圈实验。

1.1.2 试剂

琼脂粉、马铃薯浸粉、蛋白胨,北京奥博星生物技术有限责任公司;牛肉浸膏,北京陆桥技术有限责任公司;可溶性淀粉,天津市江天化工技术有限公司;葡萄糖,天津市北方天医化学试剂厂。

1.1.3 供试菌

细菌:大肠杆菌(*Escherichia coli*, ATCC 25922)、沙门氏菌(*Salmonella*, ATCC 14028)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC 26112)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, ATCC 6051)。霉菌:毛霉(*Muco*, AS3.2729)、根霉(*Rhizopus*, AS3.866)、青霉(*Pencillium*, AS3.776)、黑曲霉(*Aspergillus*, AS3.5487),天津科技大学微生物菌种保藏管理中心。放线菌:紫色链霉菌(*Streptomyces violaceus*, GIM4.44)、天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*, GIM4.10)、紫色小单胞菌(*Micromonospora echinospora*, GIM4.60)、刺孢小单胞菌绛红变种(*Micromonospora Purpurea*, GIM4.1),广东省微生物菌种保藏中心。

1.2 实验设备

生化培养箱,SPX-250,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;霉菌培养箱,MJ-160,上海跃进医疗器械有限公司;高压灭菌锅,DY2009(X)-032-00,上海博迅实业有限公司医疗设备厂。气相色谱质谱联用仪,Varian 4000,美国瓦里安公司。

1.3 实验方法

1.3.1 抑菌圈实验

1.3.1.1 培养基

细菌采用肉汤(牛肉膏蛋白胨)培养基,霉菌培养采用PDA(马铃薯葡萄糖)培养基,放线菌培养采用高氏一号培养基。

1.3.1.2 供试菌株的活化

细菌培养采用肉汤培养基,用密波划线法接种于固体斜面培养基,置于37℃培养箱中培养24 h;霉菌培养采用PDA培养基,用点接法接种于固体斜面培养基,置于28℃培养箱中培养3~5 d;放线菌采用高氏一号培养基,密波划线法接种于斜面培养基,28℃培养7 d。将贮藏菌种按上述方法反复转种3次。

1.3.1.3 菌悬液的制备

细菌经斜面培养,活化传代培养后,从斜面取菌,接种于液体肉汤培养基,置于37℃培养箱中培养12小时,稀释为 10^5 CFU/mL的菌悬液备用;霉菌经斜面培养,活化传代培养后,用无菌水10 mL分两次从斜面冲洗得到初始浓度孢子悬浮液,稀释为 10^8 CFU/mL的孢子悬液备用;放线菌经斜面培养,活化传代培养后用无菌水10 mL分两次加入培养好的斜面,用无菌接种钩刮下放线菌孢子,在漩涡振荡器上连续震荡1 min以上,得到初始浓度的孢子悬浮液,稀释为 10^8 CFU/mL的孢子悬液备用。

1.3.1.4 无菌滤纸片的制备

用打孔器将干净的滤纸打成直径为8.0 mm的小圆纸片,置121℃烘箱干热灭菌2 h,冷却备用。

1.3.1.5 细菌抑菌试验采用滤纸片法

将灭菌融化后的培养基晾凉至45℃后倾注培养基于平板中,每皿约20 mL。待平板充分凝固后,向平板上中滴入0.4 mL已稀释至由预实验选定的适宜浓度的菌悬液,使用涂布器涂平板,静置至表层菌液充分干燥。将灭菌滤纸片放入已干燥的涂布菌液的平板上,每片滤纸片加样20 μ L,每种样品一片,使用生理盐水做空白,每皿1个,每个平板重复三个。细菌置于37℃培养箱中倒置培养,根据预实验培养20 h

时抑菌圈最大, 本实验培养 20 h 后测定抑菌圈直径。

1.3.1.6 霉菌和放线菌抑菌试验采用打孔法

将灭菌融化后的培养基晾凉至 45 °C 后倾注培养基于平板中, 每皿约 30 mL。待平板充分凝固后, 用灭菌的 8.0 mm 打孔器在平皿上打孔, 然后用移液枪向每个平皿中加入 400 μ L 的预实验选定的适宜浓度的菌悬液, 使用涂布器涂布平板, 使菌液均匀涂布在培养基表面。菌液均匀地涂在平皿上以后, 再向孔中加样 30 μ L, 使用生理盐水做空白, 每皿 1 个, 每组样品平行做三皿。霉菌置于 28 °C 的培养箱中培养 3 d 后观察霉菌的生长状况; 放线菌置于 28 °C 的培养箱中培养 6 d 观察其生长状况。测量抑菌圈直径, 每个抑菌圈在垂直方向上测量两次取平均值。抑菌圈直径越大, 表明抑菌效果越好。

1.3.2 气质联用分析

取大蒜提取物样品 50 g 加水稀释至 400 mL, 依次用石油醚、乙酸乙酯各萃取两次, 合并萃取液, 回收溶剂定容至 10 mL, 取样液过 0.22 μ m 有机滤膜, 待分析。

色谱条件: 色谱柱为 VF-5ms (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m); 进样口温度 300 °C; 程序升温: 由 80 °C 升至 300 °C 保持 8 min, 升温速率为 10 °C/min; 载气为高纯氦气, 流速为 1 mL/min; 分流比 5:1; 进样量 1 μ L; EI 电离源 70 eV; 扫描范围 43-500 m/z; 检索谱库: NIST05。

2 结果与讨论

2.1 抑菌圈实验

2.1.1 对细菌的抑菌活性

实验结果表明样品一、样品二在 50 mg/mL 时对四种细菌没有抑制活性, 石油醚层和乙酸乙酯层对四种细菌都表现出抑制活性, 正丁醇层和水层对这四种细菌没有抑制活性。样品一的石油醚层和乙酸乙酯层的抑菌活性明显高于样品二的石油醚层和乙酸乙酯层; 样品一的石油醚层、乙酸乙酯层对革兰氏阴性菌的抑制作用比革兰氏阳性菌更强, 这与文献中报道的大蒜对革兰氏阴性菌的抑制作用更敏感相符合, 这可能是因为细胞壁和细胞膜的结构影响了抑菌物质的渗透^[6]。然而样品二的石油醚层和乙酸乙酯层并没有表现出这种规律性。

2.1.2 对霉菌的抑菌活性

实验结果表明样品一在 50 mg/mL 的浓度下对曲霉和青霉有一定的抑菌活性, 对曲霉的抑制作用较小, 其抑菌圈直径只有 9.5 mm, 对毛霉和根霉没有抑菌活

性。石油醚层对四种霉菌表现出一定的抑制作用, 对青霉的抑制作用最为明显, 其抑菌圈直径达到 26.3 mm。乙酸乙酯-1 对青霉表现出抑菌活性, 但抑制作用较弱。正丁醇层和水层对霉菌没有抑制活性。石油醚-1 的抑制活性大于石油醚-2。

表 1 对细菌的抑菌实验结果 (抑菌圈直径 \pm SD, mm)

Table 1 Results of antimicrobial tests against bacteria

	大肠杆菌	沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
样品一	-	-	-	-
样品二	-	-	-	-
石油醚-1	46.3 \pm 3.1	37.6 \pm 2.1	33.1 \pm 2.3	37.3 \pm 2.6
石油醚-2	35.4 \pm 3.0	32.4 \pm 1.8	31.2 \pm 2.2	20.5 \pm 3.4
乙酸乙酯-1	25.4 \pm 2.6	23.2 \pm 1.9	16.9 \pm 1.6	18.3 \pm 2.9
乙酸乙酯-2	13.3 \pm 2.1	15.0 \pm 1.3	16.8 \pm 2.2	20.5 \pm 3.1
正丁醇-1	-	-	-	-
正丁醇-2	-	-	-	-
水层-1	-	-	-	-
水层-2	-	-	-	-

注: “-”表示无抑菌作用。

表 2 对霉菌的抑菌实验结果 (抑菌圈直径 \pm SD, mm)

Table 2 Results of antimicrobial tests against mold fungi

	曲霉	青霉	毛霉	根霉
样品一	9.5 \pm 0.5	16.3 \pm 1.2	-	-
样品二	-	-	-	-
石油醚-1	19.4 \pm 1.4	26.3 \pm 1.8	10.2 \pm 1.2	19.5 \pm 1.6
石油醚-2	17.5 \pm 0.7	16.5 \pm 0.6	-	14.5 \pm 0.7
乙酸乙酯-1	-	11.6 \pm 0.9	-	-
乙酸乙酯-2	-	-	-	-
正丁醇-1	-	-	-	-
正丁醇-2	-	-	-	-
水层-1	-	-	-	-
水层-2	-	-	-	-

注: “-”表示无抑菌作用。

2.1.3 对放线菌的抑菌活性

实验结果表明样品一和样品二在 50 mg/mL 的浓度下, 对四种放线菌均不表现抑菌活性。石油醚层、乙酸乙酯层和正丁醇层对四种放线菌表现出一定抑菌活性, 乙酸乙酯层的抑菌活性明显高于石油醚层和正丁醇层。水层对四种放线菌均不表现抑菌作用。

以上抑菌圈实验说明大蒜提取物的抑菌物质主要存在于其低极性部位。石油醚层对细菌的抑制作用远远大于其对霉菌和放线菌的抑制作用, 乙酸乙酯层对细菌和放线菌的抑制程度相当。样品一石油醚层的抑菌活性大于样品二石油醚层。由此我们推断大蒜提取

物样品一、样品二的功能成分存在差别导致了其抑菌活性的不同，所以下一步利用气质联用对样品一和样品二的成分进行分析。

表 3 对放线菌的抑菌实验结果 (抑菌圈直径 ±SD, mm)

Table 3 Results of antimicrobial tests on actinomycetes

	紫色链霉菌	天蓝色链霉菌	紫色小单孢菌	刺孢小单孢菌
样品一	-	-	-	-
样品二	-	-	-	-
石油醚-1	12.5±0.7	13.2±1.4	14.5±0.7	11.5±0.7
石油醚-2	12.3±0.4	11.2±1.4	13.0±0.6	10.1±0.3
乙酸乙酯-1	16.5±2.1	19.6±0.6	18.5±0.7	18.5±3.5
乙酸乙酯-2	19.5±0.7	20.5±0.7	20.2±1.3	20.0±1.4
正丁醇-1	11.1±1.4	9.5±0.7	-	9.5±0.7
正丁醇-2	12.9±0.8	9.1±0.4	-	-
水层-1	-	-	-	-
水层-2	-	-	-	-

注：“-”表示无抑菌作用。

2.2 气质联用分析

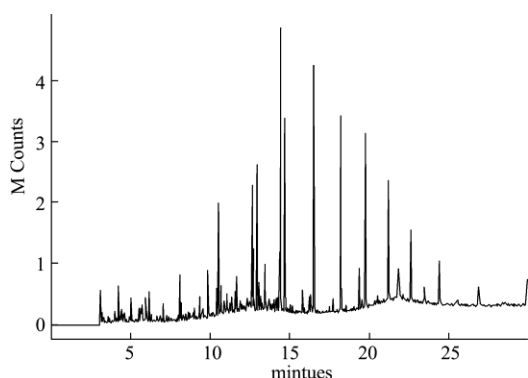


图 1 样品一石油醚层气相色谱图

Fig.1 Gas chromatogram of the petroleum ether fraction of

AGE-1

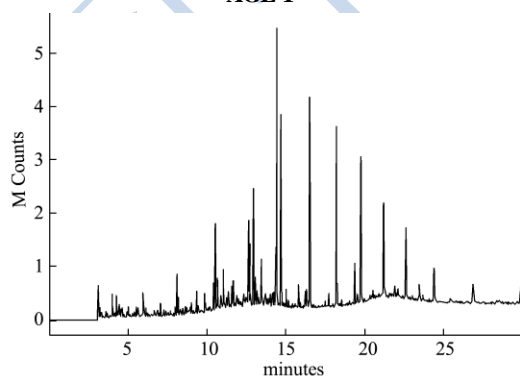


图 2 样品二石油醚层气相色谱图

Fig.2 Gas chromatogram of the petroleum ether fraction of

AGE-2

表 4 样品一、样品二石油醚层的成分分析

Table 4 Chemical compositions of the petroleum ether fractions of AGE-1 and AGE-2

No.	Components	分子式	样品一/%	样品二/%
1	二甲基三硫	C ₂ H ₆ S ₃	0.97	-
2	连三甲苯	C ₉ H ₁₂	0.33	-
3	(1R)-2,2-双甲基-3-亚甲基二环[2.2.1]庚烷	C ₁₀ H ₁₆	0.22	-
4	4-乙基四氢	C ₇ H ₁₄ S	0.83	2.09
5	苯甲酰甲酸	C ₈ H ₆ O ₃	0.77	-
6	二烯丙基二硫醚	C ₆ H ₆ S ₂	2.33	3.21
7	5-甲基-2-噻吩甲醛	C ₆ H ₆ OS	0.11	-
8	1,2,4,5-四甲苯	C ₁₀ H ₁₄	0.04	0.14
9	6-(甲硫基)-1,5-己二烯-3-醇	C ₇ H ₁₂ OS	1.19	0.57
10	3-乙烯基-1,2-二硫杂环己-4-烯	C ₆ H ₈ S ₂	0.34	-
11	3-乙烯基-1,2-二硫杂环己-5-烯	C ₆ H ₈ S ₂	0.66	-
12	8-硫杂二环[3.2.1]辛烷	C ₇ H ₁₂ S	2.59	1.58
13	2-甲基-5-(甲基磺酰基)噻吩	C ₆ H ₈ S ₂	0.37	-
14	1-亚乙基-1H-茚	C ₁₁ H ₁₀	1.24	2.06
15	α-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	0.41	0.69
16	3,5-二甲基-2-甲硫基噻吩	C ₇ H ₁₀ S ₂	0.46	0.44
17	2,4,4-三甲基-3-(3-甲基丁基)-2-环己烯-1-酮	C ₁₄ H ₂₄ O	0.19	-
18	(E)-3-癸烯	C ₁₂ H ₂₄	0.41	-
19	6-乙基-十一碳烷	C ₁₃ H ₂₈	2.01	5.01
20	三硫代碳酸亚乙烯酯	C ₃ H ₂ S ₃	0.24	0.10
21	1,4-二甲基萘	C ₁₂ H ₁₂	0.56	1.05
22	2,3-二甲基萘	C ₁₂ H ₁₂	0.41	0.58
23	2,6-二异丁基对苯醌	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	0.58	1.22
24	2,6-二叔丁基对甲苯酚	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	0.18	-
25	苯并[1,2-b:5,4-b']二噻吩	C ₁₀ H ₆ S ₂	0.34	-
26	2,5-二叔丁基酚	C ₁₄ H ₂₂ O	4.05	5.74
27	1-十六烷醇	C ₁₆ H ₃₄ O	6.95	3.42
28	2,6-二异丁基-4-亚乙基-2,5-环己二烯-1-酮	C ₁₆ H ₂₄ O	1.47	1.01
29	1,3-二氢-3,3-二甲基-1-苯基-1-异苯并咪唑	C ₁₆ H ₁₆ O ₂	0.52	0.98
30	十六酸甲酯	C ₁₇ H ₃₅ O ₂	0.66	-
31	6-异丁基-2,3-二氢-1,1-二甲基-1H-茚-4-乙酸	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	1.06	1.00
32	2,4,6-三异丙基-苯酚	C ₁₅ H ₂₄ O	0.51	3.29
33	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	0.74	-
34	环十二烷甲醇	C ₁₃ H ₂₆ O	19.24	-

转下页

接上页

35	对甲氧基肉桂酸辛酯	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	0.88	1.88
36	脱氢枞酸甲酯	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	0.25	0.50
37	正十五碳醛	C ₁₅ H ₃₀ O	16.15	34.18
总计			70.25	70.74

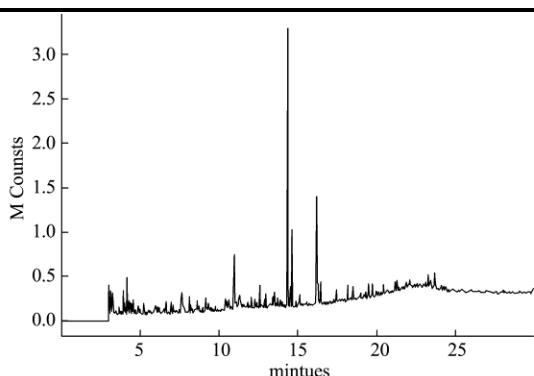


图3 样品一乙酸乙酯层气相色谱图

Fig.3 Gas chromatogram of the ethyl acetate fraction of AGE-1

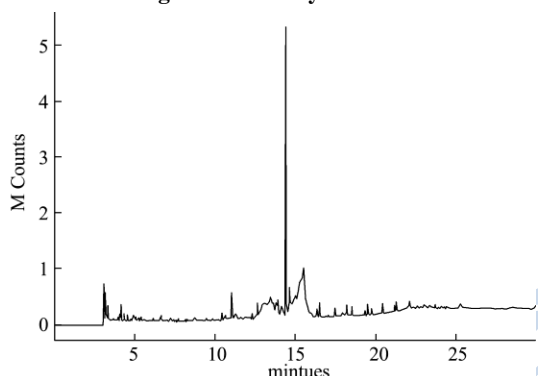


图4 样品二乙酸乙酯层气相色谱图

Fig.4 Gas chromatogram of the ethyl acetate fraction of AGE-2

表5 样品一、样品二乙酸乙酯层的成分分析

Table 5 Chemical compositions of the ethyl acetate fractions of AGE-1 and AGE-2

No.	Components	分子式	样品一/%	样品二/%
1	1,4-二甲基二环[2.1.0]戊烷	C ₇ H ₁₂	4.16	-
2	苯酚	C ₆ H ₆ O	1.75	-
3	二氢-3-羟基-4,4-二甲基-2(3H)-呋喃酮	C ₆ H ₁₀ O ₃	0.35	-
4	顺式-2-乙基-3-甲基噻吩	C ₇ H ₁₄ S	3.72	1.06
5	2-乙基硫杂环己烷	C ₇ H ₁₄ S	1.68	-
6	2,2-二羟基-1-苯基-乙酮	C ₈ H ₈ O ₃	-	2.49
7	对甲基苯甲醛	C ₈ H ₈ O	1.04	16.39
8	二烯丙基二硫	C ₆ H ₁₀ S ₂	5.83	1.96
9	(E)-4-壬烯醛	C ₉ H ₁₆ O	2.53	-
10	邻甲基苯甲醛	C ₈ H ₈ O	-	12.73
11	4-乙基硫化环戊烷	C ₇ H ₁₄ S	1.52	1.12
12	(2Z)-3-戊基 2,4-戊二烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	2.30	-
13	3-呋喃甲醇	C ₅ H ₈ O ₂	0.65	-

14	α-乙烯基-2-甲基苯甲醇	C ₁₀ H ₁₂ O	-	3.92
15	对甲基苯丙酮	C ₁₀ H ₁₂ O	-	5.26
16	4-(2-丙烯基)苯酚	C ₉ H ₁₀ O	-	2.72
17	2-甲基-5-(甲硫基)噻吩	C ₆ H ₈ S ₂	0.57	-
18	2,2,4-三甲基-5-己烯-3-醇	C ₉ H ₁₈ O	0.87	-
19	8-硫杂二环[3.2.1]辛烷	C ₇ H ₁₂ S	0.90	2.01
20	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	1.27	-
21	惕各酸	C ₅ H ₈ O ₂	2.86	-
22	4-羟基-3-甲基苯乙酮	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.67	1.99
23	对羟甲基苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₂	1.57	-
24	2,4-二特丁基并苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	0.64	3.90
25	7-十四碳烯	C ₁₄ H ₂₈	4.08	24.38
26	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	15.79	-
27	9,12-十八碳二烯酸乙基酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	18.24	-
总计			72.97	79.94

对样品一、样品二石油醚层和乙酸乙酯层进行气质联用分析,在气相色谱图保留时间 3~30 min 内,对各个峰经计算机数据系统检索,人工谱图解析得到多种物质,其名称、分子式、百分含量列于表 4 和表 5 中。其中样品一石油醚层鉴定出多种具有二硫键的化合物,如二甲基三硫、二烯丙基二硫醚、3-乙烯基-1,2-二硫杂环己-4-烯、3-乙烯基-1,2-二硫杂环己-5-烯。有报道称具有二硫键的化合物是大蒜中的主要抑菌物质^[7],它们主要来源于硫代亚磺酸酯转化产物,这些具有二硫键的化合物可以与具有巯基的氨基酸发生反应产生竞争性抑制作用;也有文献表明这些化合物还可以与不含巯基的氨基酸反应,影响一些酶的活性^[8-9]和一些生物过程^[10-11]。另外,样品一和样品二的各个萃取部位都鉴定出多种有机酸和酚类物质,这些物质对其抑菌活性也有一定的贡献^[12]。

3 结论

3.1 老蒜提取物的抑菌物质主要存在于其低极性部位。石油醚层对细菌的抑制作用远远大于其对霉菌和放线菌的抑制作用,乙酸乙酯层对细菌和放线菌的抑制程度相当,对霉菌没有抑菌活性。对于细菌和霉菌,石油醚层的抑制活性大于乙酸乙酯层,样品一石油醚层和乙酸乙酯层的活性大于样品二石油醚层和乙酸乙酯层;对于放线菌,乙酸乙酯层的抑制活性大于石油醚层和正丁醇层,两种样品之间的抑菌活性相当。样品一的石油醚层、乙酸乙酯层对革兰氏阴性菌的抑制作用比革兰氏阳性菌更强,然而样品二的石油醚层和乙酸乙酯层并没有表现出这种规律性。

3.2 样品一石油醚层中多种具有二硫键的化合物可能使其具有较强的抑菌活性。样品一和样品二的石油

醚层和乙酸乙酯层都鉴定出多种有机酸和酚类物质, 这些物质对其抑菌活性可能也有一定的贡献。老蒜提取物样品一、样品二的功能成分的差异导致了其抑菌活性的不同。

参考文献

- [1] Chandrashekar PM, Venkatesh YP. Identification of the protein components displaying immunomodulatory activity in aged garlic extract [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 124(3): 384-90
- [2] Alkreathy H, Damanhoury ZA, Ahmed N, et al. Aged garlic extract protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48(3): 951-956
- [3] Aguilera P, Chanez-Cardenas ME, Ortiz-Plata A, et al. Aged garlic extract delays the appearance of infarct area in a cerebral ischemia model, an effect likely conditioned by the cellular antioxidant systems [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17: 241-247
- [4] Harauma A, Moriguchi T. Aged garlic extract improves blood pressure in spontaneously hypertensive rats more safely than raw garlic [J]. *Journal of Nutrition*, 2006, 136(3): 769S-773S
- [5] Xiao Xiang, WANG Yao, JIANG Song, et al. Antibacterial mechanism of garlic extract against specific spoilage organisms [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2013, 29(12): 2894-2900
- [6] Perry CC, Weatherly M, Beale T, et al. Atomic force microscopy study of the antimicrobial activity of aqueous garlic versus ampicillin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 89(6): 958-964
- [7] Fujisawa H, Watanabe K, Suma K, et al. Antibacterial potential of garlic-derived allicin and its cancellation by sulfhydryl compounds [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2009, 73(9): 1948-1955
- [8] Focke M, Feld A, Lichtenthaler HK. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthase [J]. *FEBS Letters*, 1990, 261: 106-108
- [9] Waag T, Gelhaus C, Rath J, et al. Allicin and derivatives are cysteine protease inhibitors with antiparasitic activity [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20(18): 5541-5543
- [10] Feldberg RS, Chang SC, Kotik AN, et al. In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1988, 32: 1763-1768
- [11] Ghannoum MA. Studies on the anticandidal mode of action of *Allium sativum* (garlic) [J]. *Journal of General and Applied Microbiology* 1988, 134(11): 2917-2924
- [12] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 1999, 12(4): 564-582