

# 大葱提取物葱辣素的体外抗菌和抗病毒作用研究

黄依璇<sup>1</sup>, 陈慧敏<sup>1</sup>, 姚亮<sup>1</sup>, 吕树娟<sup>2</sup>

(1. 安徽省合肥市第一中学, 安徽合肥 230601) (2. 安徽医科大学基础医学院, 安徽合肥 230032)

**摘要:** 大葱挥发油的主要活性成份是葱辣素, 本项目拟针对大葱提取物葱辣素开展抗菌和抗病毒作用系列研究。采用试管稀释法及抑菌环试验, 测定葱辣素对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌的最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC); 以细胞病变抑制法和中性红染色法, 用 Reed-muench 法计算其 50% 细胞毒性浓度 (TC<sub>50</sub>), 最大无毒浓度 (TC<sub>0</sub>), 50% 抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 和治疗指数 (TI), 判断其抗呼吸道合胞病毒作用。结果显示, 葱辣素体外有一定的抗 G<sup>+</sup> 菌和 G<sup>-</sup> 菌作用。葱辣素对 HEP-2 细胞的半数中毒浓度 (TC<sub>50</sub>) 为 6.3 μg/mL, 最大无毒浓度 (TC<sub>0</sub>) 为 3.6 μg/mL, 对病毒的 50% 抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 为 1.7 μg/mL, TI 为 3.71; 葱辣素可呈剂量依赖性改善呼吸道合胞病毒感染所致的细胞病变, 抑制病毒增殖。这将为葱辣素的进一步开发与临床应用研究提供坚实的科学依据。

**关键词:** 葱辣素; HEP-2 细胞; 呼吸道合胞病毒; 抗菌作用

文章编号: 1673-9078(2018)02-69-74

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.2.012

## Study on the *in Vitro* Antibacterial and Antiviral Effects of Onions Capsaicin in *Allium Ascalonicum* Extracts

HUANG Yi-xuan<sup>1</sup>, CHEN Hui-min<sup>1</sup>, YAO Liang<sup>1</sup>, LV Shu-juan<sup>2</sup>

(1. Hefei No.1 High School of Anhui Province, Hefei 230601, China) (2. School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

**Abstract:** The main active ingredient of *Allium ascalonicum* volatile oil was the onion capsaicin, the objective of this study was to investigate the antibacterial and antiviral effect of onion capsaicin extracted from *Allium ascalonicum*. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of onion capsaicin on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were determined by the tube dilution method and antibacterial ring test. According to the cytopathic effect inhibition assay and neutral red staining method, the median toxicity concentration (TC<sub>50</sub>), maximum non-toxic concentration (TC<sub>0</sub>), median inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) and therapeutic index (TI) were calculated by Reed-muench analysis to determine its role in anti-respiratory syncytial virus (RSV). The results showed that onion capsaicin had some anti-gram positive bacteria and anti-gram negative bacteria effect *in vitro*. The TC<sub>50</sub> and TC<sub>0</sub> of onion capsaicin for HEP-2 cells were 6.3 μg/mL and 3.6 μg/mL, respectively. The IC<sub>50</sub> and TI of onion capsaicin for RSV virus were 1.7 μg/mL and 3.71, respectively. Onion capsaicin could dose-dependently improve cytopathic effects caused by RSV infection and inhibit the proliferation of the virus. These results will provide a solid scientific basis for the further development and clinical application of onion capsaicin.

**Key words:** onion capsaicin; HEP-2 cell; respiratory syncytial virus; antibacterial effect

不仅在我国国内以及全世界各地的华人聚居地, 甚至在东亚各国, 大葱常作为一种很普遍的香料调味品或蔬菜出现在人们的食谱中, 并在整个东方烹调食物体系中都占有十分重要的位置。在我国北方, 就有生吃大葱以及用大葱作为凉拌食材烹饪的传统, 而在

收稿日期: 2017-09-18

基金项目: 安徽省质量工程教学研究重点项目 (2016jyxm0510); 合肥市第 32 届青少年科技创新大赛获奖项目

作者简介: 黄依璇 (2000-), 女, 高三学生

通讯作者: 陈慧敏 (1975-), 女, 博士, 一级教师, 从事植物发育分子生物学专业研究

南方则有将大葱与其他食材放在一起烹调熟透的习中不可或缺的, 以及其特殊的口感与味道赢得了大家的喜爱。同时, 大葱中还含有一种挥发性油类物质, 其主要活性成份是葱辣素, 这类有机硫类化合物具有较强的杀菌、抑制癌细胞、降血脂和预防动脉硬化等作用<sup>[1-3]</sup>。

尽管人们对大葱的作用已有一定的了解, 但目前国内对大葱的研究主要停留在食品添加剂、植物种植、挥发油混合物的提取、畜牧业以及大葱油混合物的杀菌等, 部分文献研究大葱提取物对胃癌细胞的作用, 但未涉及对大葱提取物的主要活性成份葱辣素的抗菌和抗病毒的效果研究<sup>[4-6]</sup>, 尤其是缺乏抗病毒作用研

究,其临床应用也有待进一步开发。因此,本项目主要探讨大葱提取物葱辣素体外对常见感染细菌如金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的抗菌作用,以及抗呼吸道合胞病毒作用,旨在为人们葱辣素的抗菌和抗病毒有着更为具体和深入的认识,为葱辣素的进一步研究与临床应用提供坚实的科学依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 原料与试剂

大葱取自合肥农贸市场;无水乙醇,上海振兴化工一厂;L-半胱氨酸,合肥摩尔生物科技有限公司;DTNB,合肥摩尔生物科技有限公司;Hepes试剂,合肥摩尔生物科技有限公司;大蒜素标准品对照(货号:SA8720,批号:912A021),上海禾丰制药厂生产。

#### 1.1.2 细胞、病毒和菌株

HEp-2细胞(人喉癌上皮细胞),呼吸道合胞病毒(RSV)国际标准株(Long株),均由安徽医科大学微生物学教研室提供。滴定该病毒毒力TCID<sub>50</sub>为2.5×10<sup>-6.79</sup>/0.1 mL,备用。金黄色葡萄球菌(ATCC6538)、大肠埃希菌(ATCC8099)均为安徽医科大学微生物学教研室-80℃冻存菌种,菌种鉴定依据卫生部医政司1997年编著《全国临床检验操作规程》第二版。

#### 1.1.3 细菌培养基

选用营养琼脂(NA)(批号20161216)和营养肉汤(NB)(批号20161106),产品编号:HB1019,青鸟裔科园海博生物有限公司,按产品说明配置。

#### 1.1.4 主要仪器

DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;ELX88型酶标仪,美国Bio Tek仪器有限公司;Napco-6100恒温CO<sub>2</sub>培养箱,美国杜邦公司;SW-CJ-1FD超净工作台,吴江洪鼎净化设备有限公司;ZF-90暗箱式紫外透射仪,上海顾村电光仪器厂;各种规格培养瓶、细胞培养板,美国Falcon公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 葱辣素的提取与得率测定

将大葱洗净、干燥、粉碎过60目筛,按照文献[1]的方法并应用单因素和正交试验设计对葱辣素提取工艺进行条件优化,提取葱辣素,测定其得率与浓度,滤过除菌备用。

采用分光光度计测定吸光值(A),计算葱辣素的得率。按照文献[7],计算公式如下:

$$\text{葱辣素得率}(\text{mg/g}) = \frac{V \times (A_0 - A) \times d \times 162.26}{2 \times 14150 \times M_0}$$

式中:V为提取液的体积mL;d为总稀释倍数;162.26为L-半胱氨酸分子量;14150为DTNB与L-半胱氨酸反应产物的摩尔消光系数;M<sub>0</sub>为大葱质量,g。

### 1.2.2 葱辣素对细胞的毒性实验与抗病毒实验

在96孔板上,每孔加0.8×10<sup>5</sup>/mL浓度的HEp-2细胞0.1mL,培养24h,加含葱辣素维持液。葱辣素浓度按倍比稀释为2<sup>-1</sup>~2<sup>-10</sup>(浓度=稀释倍数×葱辣素得率)。观察细胞病变效应(cytopathic effects, CPE):(-):无细胞病变;(+):25%以下的细胞有病变;(++):25%~50%的细胞有病变;(+++):50%~75%的细胞有病变;(++++):75%~100%的细胞有病变,每一浓度均重复2孔,同时设正常细胞对照。用Reed-Muench法<sup>[8]</sup>计算出葱辣素对HEp-2细胞的半数中毒浓度(TC<sub>50</sub>)和最大无毒浓度(TC<sub>0</sub>)。

根据葱辣素对细胞毒性实验结果,在96孔板上加入细胞培养24h,在葱辣素最大无毒浓度(TC<sub>0</sub>)范围内,加含葱辣素维持液预防性给药,浓度分别为2<sup>-4.2</sup>、2<sup>-5</sup>~2<sup>-9</sup>(浓度=稀释倍数×葱辣素得率),每一浓度均重复2孔并进行三次重复试验。同时设置正常对照组和病毒对照组。吸弃含葱辣素维持液,每孔接种50μL100个TCID<sub>50</sub>病毒液,吸附90min后吸弃病毒上清液,每孔加入100μL的维持液。然后置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养,每日观察CPE。约在病毒对照组出现75%~100%病变时加入50μL中性红染液染色,继续孵育1.5h后,弃培养液、PBS洗涤细胞三次,最后在每个培养孔中均加入200μL、0.05mol/LNaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>50%乙醇溶液,并置振荡器上振荡5min,使细胞中的中性红全部溶出,酶标仪在550nm处测吸光值(A),根据以下公式计算葱辣素的抑制百分率=(实验组平均A值-病毒对照组平均A值)/(细胞对照组平均A值-病毒对照组平均A值)×100%。以Reed-Muench法和直线回归法计算葱辣素对RSV50%抑制浓度(IC<sub>50</sub>)及治疗指数TI(TI=TC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>)。

### 1.2.3 大蒜素对照的细胞毒性实验与抗病毒实验

方法同上,将含大蒜素浓度分别为200μg/mL、400μg/mL、600μg/mL、800μg/mL、1000μg/mL、1500μg/mL、2000μg/mL、3000μg/mL和4000μg/mL的维持液加入细胞板中,测定大蒜素对HEp-2细胞的半数中毒浓度(TC<sub>50</sub>)和最大无毒浓度(TC<sub>0</sub>)。从最大无毒浓度开始,加含不同浓度大蒜素维持液,分别为420μg/mL、400μg/mL、350μg/mL、300μg/mL、250μg/mL、200μg/mL、150μg/mL、100μg/mL、50μg/mL,

每孔加入 100  $\mu\text{L}$ 。同上,测吸光值 A,并以 Reed-Muench 法计算大蒜素对 RSV 的 50%抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 及治疗指数 TI。

## 1.2.4 葱辣素抗菌实验

### 1.2.4.1 抑菌环实验

(1) 抑菌片的制备:取无菌干燥滤纸片,分别滴加不同浓度葱辣素溶液 20  $\mu\text{L}$ ,特异性标记为 B, A 为大蒜素对照。然后将滤纸片平放于无菌平皿内,37  $^{\circ}\text{C}$ 温箱中烘干。滤纸片制成直径为 5 mm、厚不超过 4 mm 圆块,阴性对照样片的制备以无菌蒸馏水进行。

(2) 试验菌的接种:用无菌棉拭子蘸取浓度为  $5 \times 10^6$  CFU/mL 试验菌悬液,分别在营养琼脂培养基平皿表面均匀涂抹 3 次,每涂抹 1 次,平板应转动 60 $^{\circ}$ ,最后将棉拭子绕平皿边缘涂抹 1 周。置室温干燥 5 min。然后将已制备的含不同浓度葱辣素纸片按常规操作均匀贴在培养皿表面,37  $^{\circ}\text{C}$ 培养 16~18 h 观察结果。用游标卡尺测量抑菌环的直径(包括贴片)并记录。实验重复 3 次。测量抑菌环时,应选均匀而完全无菌生长的抑菌环进行,测量其直径应以抑菌环外沿为界。

### 1.2.4.2 MIC 和 MBC 测定

取无菌小试管 10 支,以无菌操作每管中分别加液体营养肉汤培养基 1 mL,吸取葱辣素母液(原液)1 mL 放入第一管中,混匀后吸取 1 mL 放入第二管中,如此做二倍量稀释到第 9 支试管,混匀后吸取 1 mL 弃去,第 10 管不加葱辣素作对照。分别将调整浓度为  $1 \times 10^8$  CFU/mL 的细菌稀释 1000 倍后,菌液终浓度为  $10^5$  CFU/mL,每管加入 0.1 mL 菌液后置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,观察结果,在前后 2 个不同浓度梯度小试管,使细菌量突然减少 80%~90% 的浓度即为最小抑菌浓

度(MIC)。完全无细菌生长,并转种在液体营养肉汤培养基(NB)中,37  $^{\circ}\text{C}$ 继续培养 18 h,证实仍无细菌生长的葱辣素最低浓度为其最低杀菌浓度(MBC)。以 2 倍比稀释的大蒜素作为对照。

### 1.2.5 数据统计分析

Kruskal-Wallis 法分析比较不同浓度实验组与病毒对照组之间的 CPE 变化情况,同时对浓度与 A 值和 CPE 抑制率进行相关分析,判定是否存在剂量效应关系。采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,概率  $p < 0.05 \sim 0.01$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 葱辣素的得率

根据文献[1]的方法,我们的实验室提取结果并不理想。适合我们的工艺条件是乙醇体积分数为 100%、料液比为 1:33.5、超声功率为 200 W、超声时间为 15 min。在此条件下,葱辣素平均得率为 0.066 mg/g,与文献报道相似。

### 2.2 葱辣素对细胞的毒性测定与抗病毒实验

#### 2.2.1 葱辣素提取液的 $\text{TC}_{50}$ 和 $\text{TC}_0$ 计算

葱辣素在浓度较高时可能对细胞有一定的毒性作用,可造成细胞病变、脱落、溶解、死亡,经结晶紫染色流水冲洗后,从而留下没有细胞生长的空斑(如图 1 的  $2^{-1}$  和  $2^{-2}$  所示)。

有细胞生长者则培养板着色较深(因结晶紫是活细胞染色,如图 1 的  $2^{-3} \sim 2^{-10}$  所示)。因此需测定其最大无毒浓度,以排除葱辣素本身对正式抗病毒实验中所用细胞的影响。

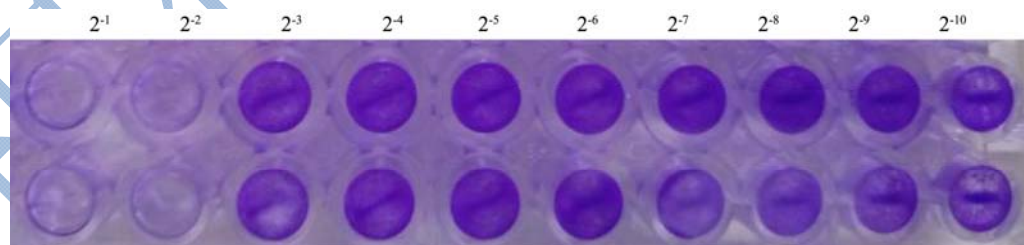


图 1 葱辣素对 HEp-2 细胞的毒性实验(结晶紫染色)

Fig.1 Toxic experimental results of onion capsaicin on HEp-2 cells (crystal violet staining)

根据细胞病变(CPE)的程度,每个孔最高病变记为“4+”,两个重复孔最高病变则为“8+”,按 Reed-Muench 法计算得  $\text{TC}_0 = 2^{-4.2} = 3.6 \mu\text{g/mL}$ ,  $\text{TC}_{50} = 2^{-3.4} = 6.3 \mu\text{g/mL}$ 。即葱辣素的最大无毒浓度是  $3.6 \mu\text{g/mL}$ ,我们在进行抗病毒实验中选用  $3.6 \mu\text{g/mL}$  以下浓度进行。

#### 2.2.2 抗病毒实验-细胞病变抑制法

根据细胞毒性实验结果,在最大无毒浓度范围内进行葱辣素的抗病毒实验。在接种 RSV 48 h 后的 HEp-2 细胞病变明显,CPE 达到 100%,说明病毒对 HEp-2 细胞具有明显的损伤作用。在给予葱辣素后,如葱辣素稀释  $2^{4.2} \sim 2^6$  倍(记作  $2^{4.2} \sim 2^6$ )时有较多的活



细胞存在,说明葱辣素在一定程度上可保护细胞免受病毒的损伤,即葱辣素能抑制病毒的增殖。结果见图2。

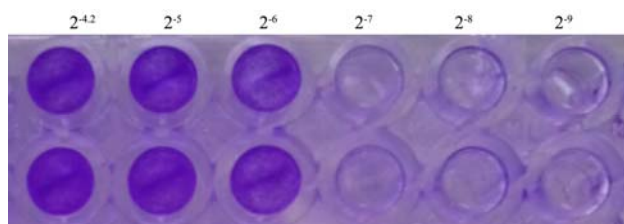


图2 葱辣素的抗病毒实验结果(结晶紫染色)

Fig.2 The antiviral results of onion capsaisin (crystal violet staining)

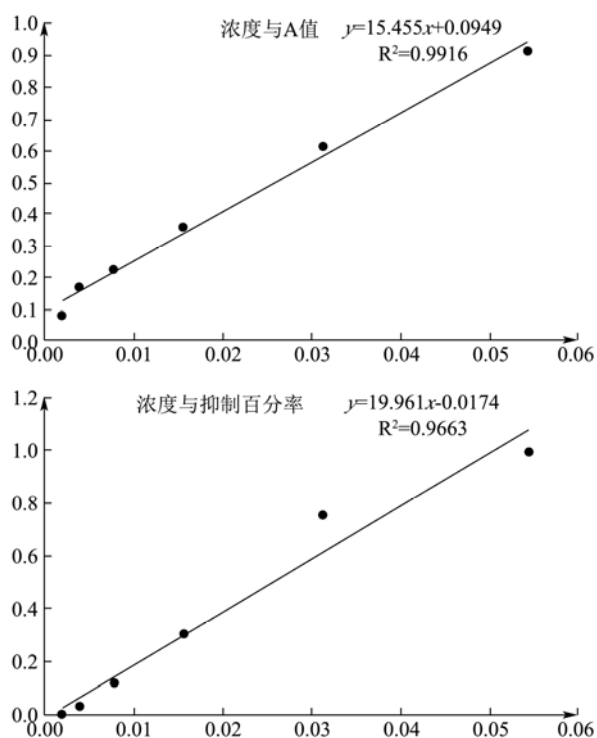


图3 抗病毒实验中葱辣素不同浓度与A值和CPE抑制百分率的相关性

Fig.3 The correlation between different concentrations of onion capsaisin and A value and percentage of CPE inhibition in antiviral experiments

经 Reed-Muench 法计算,得葱辣素的  $IC_{50}=2^{-5.3}=1.7 \mu\text{g/mL}$ ,  $TI=TC_{50}/IC_{50}=2^{-3.4}/2^{-5.3}=3.71$ 。

### 2.2.3 抗病毒实验-中性红染色法

通过比色测定 A 值,根据公式计算出葱辣素抑制细胞病变百分率,计算结果见表1和图3。

由图3可见,随着葱辣素稀释度的增加,对浓度和吸光值 A,以及浓度和抑制 CPE 百分率进行相关性分析,均呈现明显的正相关关系。标准曲线回归方程分别为:  $Y=15.455x+0.0949$ ,  $R^2=0.9916$ ,  $p<0.05$ ;  $Y=19.961x-0.0174$ ,  $R^2=0.9663$ ,  $p<0.05$ 。按 Reed-Muench 法计算,得出  $IC_{50}=2^{-5.3} \mu\text{g/mL}=1.7$

$\mu\text{g/mL}$ 。可见,中性红染色法的计算结果与细胞病变抑制法结果一致。

表1 不同浓度葱辣素的抗病毒实验比色结果 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ , 中性红染色)

Table 1 The colorimetric results of different concentrations of onion capsaisin in antiviral experiment (neutral red staining)

葱辣素分组	A 值	抑制细胞病变百分率/%
$2^{-4.2}$	$0.911 \pm 0.026$	100
$2^{-5}$	$0.611 \pm 0.031$	75
$2^{-6}$	$0.356 \pm 0.019$	30
$2^{-7}$	$0.222 \pm 0.022$	12
$2^{-8}$	$0.165 \pm 0.011$	3
$2^{-9}$	$0.081 \pm 0.009$	0

### 2.3 大蒜素对照细胞毒性实验与抗病毒实验

我们以大蒜素为对照,首先观察其细胞毒性作用,以排除对正式抗病毒实验的干扰。经 Reed-Muench 法计算,得其  $TC_0=420 \mu\text{g/mL}$ ,  $TC_{50}=2086.3 \mu\text{g/mL}$ 。从最大无毒浓度开始,按 Reed-Muench 法计算其抗病毒实验的  $IC_{50}=287.4 \mu\text{g/mL}$ ,  $TI=TC_{50}/IC_{50}=7.26$ 。

由以上结果可以看出,葱辣素和对照大蒜素均具有一定的抗 RSV 作用,相比较而言,葱辣素对 RSV 更敏感,但大蒜素的安全性较高。

### 2.4 抗菌实验结果

根据测量和观察,葱辣素的抑菌环实验、MIC 与 MBC 测定结果分别见表2和表3。

表2 葱辣素与大蒜素对照的抑菌环平均直径 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ , mm)

Table 2 The average diameter of antibacterial ring of allcin control and onions capsaisin (mm)

菌种	大蒜素(A)	葱辣素(B)	蒸馏水(N)
金黄色葡萄球菌	$11 \pm 0.5$	$10 \pm 0.5$	0
大肠埃希菌	$12 \pm 0.4$	$11 \pm 0.3$	0

表3 葱辣素及大蒜素对照的 MIC 和 MBC 最低稀释度

Table 3 The lowest dilution to MIC and MBC of garlic control and onions capsaisin

菌种	大蒜素(A)		葱辣素(B)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
金黄色葡萄球菌	1:16	1:8	1:16	1:8
大肠埃希菌	1:32	1:16	1:16	1:8

由以上结果可见,葱辣素与大蒜素体外对上述两种细菌均有一定的抑制和杀灭作用。由表3可计算出葱辣素的 MIC 和 MBC 分别为  $4.125 \mu\text{g/mL}$  和  $8.25 \mu\text{g/mL}$ 。

### 3 讨论

目前国内对葱辣素均未涉及其抗菌和抗病毒效果的系列研究。由于呼吸道合胞病毒属于副粘病毒科肺炎病毒属,是一种有包膜的单股负链RNA病毒,被认为是引起世界范围内婴幼儿严重下呼吸道感染最常见病原体,至今尚无有效疫苗和特异性的临床治疗措施<sup>[9-11]</sup>;金黄色葡萄球菌是人类一种重要病原菌,可引起多种化脓性感染,是革兰阳性菌的代表;大肠埃希菌通常被称为大肠杆菌,属于革兰阴性细菌,当其寄居部位改变时亦可引起多种感染,这就让我们想到选择这些病原微生物作为实验对象来进行研究。经检索查新显示,从项目整体来说,国内未见与本项研究内容一致的公开文献报道。因此,本项目即是创新性地开展葱辣素的抗菌和抗病毒作用研究。

本实验中,在做正式抗病毒实验前,为了确保细胞的安全性和实验的准确性,避免在实验过程中发生葱辣素本身引起细胞病变现象,我们先进行了葱辣素的细胞毒性实验,确定其最大无毒浓度。结果发现,葱辣素提取液也有一定的细胞毒性,因此我们选择从葱辣素的最大无毒浓度开始进行正式的抗病毒实验。在实验中我们采取了预防法给药的方式(即先给予葱辣素,后吸附病毒),应用多种方法测定葱辣素的抗病毒作用,发现其对RSV感染具有一定的预防作用,这为临床预防RSV及其他呼吸道感染提供了实验依据。韩春然<sup>[5]</sup>研究表明:大葱的总提取物对白色葡萄球菌、黑曲霉和粘红酵母具有抑制作用,对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑制作用较差;大葱的脂溶性提取物与总提取物具有类似的抑菌作用;大葱的多糖和蛋白成分对真菌和细菌都没有抑制作用,推测大葱对微生物的抑制主要是以大葱中的脂溶性物质成分所作用而成。杨栗艳等<sup>[3]</sup>研究表明:大葱总提取物和挥发性成分对黄瓜枯萎病菌孢子萌发及菌丝生长都有很好的抑制效果,其中大葱挥发性成分对供试菌的抑制效果优于提取物,而大葱蛋白及多糖成分对供试菌均无抑制效果。我们在抗菌实验中也证明了其对G<sup>+</sup>菌和G<sup>-</sup>菌均具有一定的杀菌作用,而我们所提取的葱辣素正是大葱挥发油的主要活性成份,因此与上述提取物的实验结果相吻合,并且更进一步明确了大葱属类植物发挥抗菌作用的可能的活性物质。葱属植物的化学成分主要有硫化物、甾体皂苷、黄酮类化合物和含氮成分等,大葱制剂通过对巯基的氧化,使与微生物生长繁殖有关的含巯基的酶失活,或对含硫氧基的化合物如肌氨酸、谷氨酸产生竞争性抑制,或非竞争性的抑制某些酶的技能,从而对多种致病真菌起到抑制或杀灭作用<sup>[5]</sup>。

本实验也加入了常见天然提取物大蒜素的对照实验,以证明我们实验设计的可靠性。但本实验也有一些不足之处,比如涉及的抗菌实验菌株种类和抗病毒实验中的病毒种类还相对较少,这些将在以后的实验中加以补充与完善。

### 4 结论

葱辣素具有一定的体外抗金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的作用,而且对两类细菌的作用效果相当;在其抗呼吸道合胞病毒作用中,通过预防性给药能抑制病毒增殖,显示对病毒很敏感而且安全。由于其取材方便,价廉物美,为葱辣素的开发与临床应用提供了坚实的科学依据。

### 致谢

此项目部分内容主要在安徽医科大学微生物学教研室完成。感谢教研室的瞿明胜博士在病毒培养、无菌操作方面给予的帮助,感谢研究生孙涛在细胞培养、病毒准备方面给予的大力支持,感谢胡涛老师在抗菌实验材料准备方面给予的帮助!

### 参考文献

- [1] 徐艳阳,王乃茹,李科静,等.超声辅助提取大葱中葱辣素的工艺优化[J].食品研究与开发,2014,35(13):5-8  
XU Yan-yang, WANG Nai-ru, LI Ke-jing, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction process for allicin from green onion [J]. Food Research and Development, 2014, 35(13): 5-8
- [2] 罗海滨,漆伟.大葱油对胃癌细胞株体外培养的影响[J].第四军医大学学报,2007,28(19):1771-1774  
LUO Hai-bin, QI Wei. Effects of *Allium fistulosum* L oil on in vitro culture of gastric cancer cell line [J]. Journal of the Fourth Military Medical University, 2007, 28(19): 1771-1774
- [3] 杨栗艳,刘长远,浦铜良,等.大葱提取物对黄瓜枯萎病菌抑菌活性研究[J].沈阳农业大学学报,2009,40(2):218-220  
YANG Su-yan, LIU Chang-yuan, PU Tong-liang, et al. Antimicrobial activity of extracts from welsh onion against *Fusarium oxysporium* [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2009, 40(2): 218-220
- [4] 张天芮,赵春雨,刘博,等.大葱提取物的作用及其在动物生产中的应用[J].经济动物学报,2015,19(4):241-244  
ZHANG Tian-rui, ZHAO Chun-yu, LIU Bo, et al. Biological functions of welsh onion extract and its application in animal production [J]. Journal of Economic Animal, 2015, 19(4): 241-244

- [5] 韩春然. 大葱提取物对微生物抑制作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(6): 65-67  
HAN Chun-ran. Study on the antimicrobial activity of the extract from welsh onion [J]. Food Research and Development, 2007, 28(6): 65-67
- [6] 周晓娜, 任锡玲, 常丽丽, 等. 大葱油对体外外人胃癌细胞生长的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(10): 726-728  
ZHOU Xiao-na, REN Xi-ling, CHANG Li-li, et al. *In vivo* and *in vitro* effects of *Allium Fistulosum L* oil on growth of Human gastric carcinoma cells [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2006, 33(10): 726-728
- [7] 徐艳阳, 胡晓欢, 王乃茹, 等. 大葱中葱辣素的微波辅助提取工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(13): 27-29  
XU Yan-yang, HU Xiao-huan, WANG Nai-ru, et al. Optimization of microwave-assisted extraction process for allicin in green onion [J]. Food Research and Development, 2014, 35(13): 27-29
- [8] 郝宝成, 武凡琳, 邢小勇, 等. 苦马豆素抗牛病毒性腹泻病毒的研究[J]. 中国农业科学, 2014, 47(1): 170-181  
HAO Bao-cheng, WU Fan-lin, XING Xiao-yong, et al. Study on inhibitory effect of the swainsonine from alkaloid of astragalus strictus grah.ex bend on bovine viral diarrhea virus [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(1): 170-181
- [9] Wong TM, Boyapalle S, Sampayo V, et al. Respiratory syncytial virus (RSV) infection in elderly mice results in altered antiviral gene expression and enhanced pathology [J]. PLoS One, 2014, 9(2): e88764
- [10] Nair H, Nokes D, Gessner BD, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet, 2010, 375(9725): 1545-1555
- [11] Tran D N, Pham T M, Ha M T, et al. Molecular epidemiology and disease severity of human respiratory syncytial virus in vietnam [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e45436