

葛河块蜜抑菌活性研究

赵彤¹ 吴黎明¹ 周燕² 周绍伦² | 文

1 中国农业科学院蜜蜂研究所; 2 姚安县葛河生态蜜蜂园科技有限公司

摘要: 为探究葛河块蜜的抑菌活性, 本研究采用琼脂扩散法测定了其大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌能力。结果表明, 葛河块蜜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有抑制性, 并显著强于其他蜂蜜。葛河块蜜对金黄色葡萄球菌的抑制能力强于对大肠杆菌的抑制能力, 对金黄色葡萄球菌的抑制能力与麦卢卡蜂蜜无显著差异。可见, 葛河块蜜具有良好的抑菌效果, 该研究可为葛河块蜜的开发和利用提供理论依据。

关键词: 葛河块蜜; 抑菌活性

蜂蜜是由工蜂采集的花蜜及其自身分泌物混合而成的一种天然甜味物质, 含有糖、水、蛋白质、矿物质、微量氨基酸、有机酸、酶类、维生素、类黄酮及酚类等物质, 具有独特的功能特性(如抗氧化、抗菌、抗病毒、抗炎、抗突变和抗癌等), 有益于人类健康^[1-5]。葛河块蜜是姚安县的特色蜂蜜, 是凝固成块的中蜂蜜, 冬蜜中的极品, 有“天下第一蜜”之盛誉^[6]。

近年来, 由于抗生素的广泛使用, 病原微生物已经出现多重耐药现象, 这对人类健康构成重大威胁^[7]。因此, 天然抗菌药物的研究与开发对抑制病原微生物的感染与传播意义重大。自古以来, 蜂蜜作为抑菌剂, 被应用于多种疾病的治疗, 其抑菌能力与生产方式、蜜源植物、加工技术、地理环境紧密相关^[8-12]。蜂蜜对微生物的抑制机理主要包括三个方面: 一是蜂蜜含有大量的碳水化合物, 高渗透压会导致细菌细胞脱水死亡; 二是蜂蜜中的葡萄糖氧化酶和过氧化氢均具有抑菌活性; 三是来自蜜源植物的黄酮类、酚类化合物、挥发性物质和香豆素类物质对微生物也具有抑制作用^[13]。

目前, 国内外对于葛河块蜜的研究极少。本研究通过测定葛河块蜜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果, 旨在评价葛河块蜜的抑菌活性, 为葛河块蜜的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

葛河块蜜 姚安县葛河生态蜜蜂园科技有限公司; 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 北京索莱宝科技有限公司; Luria-Bertani (LB) 肉汤培养基和 LB 固体营养琼脂北京奥博星生物技术有限责任公司; 培养箱 BSD-YX (F) 3200 上海博迅医疗生物仪器股份有限公司; 超净工作台 SW-CJ-1D 上海沪净医疗器械有限公司。

通讯作者: 周绍伦 (1962-), E-mail: 1119124280@qq.com

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

将葛河块蜜于 40℃ 融化, 随后保存在食品级塑料瓶中, 样品放置于 4℃ 贮存, 待测。

1.2.2 配制培养基

分别称取 10 g 和 16 g 的 LB 肉汤培养基和 LB 固体营养琼脂粉于干净三角瓶中, 加入 500 mL 纯净水, 121℃ 高压灭菌 15 min。取出后, 置于超净台中自然冷却。待 LB 固体营养琼脂液降到 50℃ 左右, 在超净台内倒板。琼脂培养板彻底凝固后进行实验, 或置于 4℃ 密封保存备用。

1.2.3 活化细菌

用无菌水充分溶解细菌冻干粉制成悬浮液, 后全部涂布于琼脂培养板, 将培养皿置于 37℃ 培养, 直至长出菌落。用接种环挑取菌落, 涂布于新鲜琼脂培养板, 于 37℃ 培养, 重复三次, 将细菌活化复壮, 用于后续实验。

1.2.4 抑菌试验

根据 Akram 等^[14]的方法稍作修改测定蜂蜜的抑菌活性。细菌在液体培养基中于 37℃ 培养 18 h, 以无菌水稀释至 10^7 cfu/mL, 并取该溶液 100 μ L 涂布在 LB 固体营养琼脂板上, 后打孔 ($d=0.5$ cm)。将 100 mg 蜂蜜加于其中三个孔中, 同时在第四个孔中加入 100 mg 无菌水, 然后将培养皿在 37℃ 培养 18 h。测量透明抑制区的直径。

1.3 数据处理

使用 SPSS 26.0 (IBM 公司, 美国) 对抑菌直径数据进行方差分析, 显著性水平为 $P<0.05$ 。所有实验进行三次重复, 结果以平均值 \pm 标准误表示。

2 结果与分析

2.1 对大肠杆菌的抑菌活性

结合图 1 (左) 和表 1 可知, 与无菌水相比, 蜂

表1 蜂蜜的抑菌能力

样品信息	大肠杆菌抑菌直径 (cm)	金黄色葡萄球菌抑菌直径 (cm)
苕河块蜜	1.0 ± 0.1 ^b	1.4 ± 0.2 ^a
麦卢卡蜂蜜	1.4 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.5 ^a
其他蜂蜜	0.7 ± 0.1 ^c	0.8 ± 0.2 ^b
无菌水	0.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^c

注: 抑菌直径不同字母的数据视为差异显著 (P<0.05)。

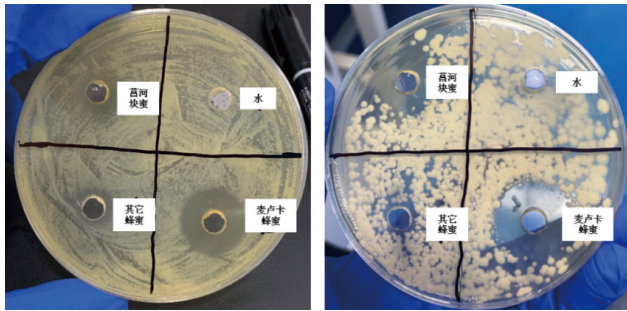


图1 蜂蜜抑菌效果 (左: 大肠杆菌; 右: 金黄色葡萄球菌)

蜜样品对大肠杆菌的抑菌活性非常明显 (P<0.001)。按照抑菌能力由强到弱排序为麦卢卡蜂蜜、苕河块蜜和其他蜂蜜。苕河块蜜对大肠杆菌的抑制能力显著高于其他蜂蜜。

2.2 对金黄色葡萄球菌的抑菌活性

结合图1(右)和表1可知,与无菌水相比,蜂蜜样品对金黄色葡萄球菌的抑菌活性非常明显 (P<0.001)。按照抑菌能力由强到弱排序为麦卢卡蜂蜜、苕河块蜜和其他蜂蜜。苕河块蜜对金黄色葡萄球菌的抑菌活性与麦卢卡蜂蜜无显著差异,但显著强于其他蜂蜜。

金黄色葡萄球菌和大肠杆菌是两种常见的胃肠道致病菌^[8]。本实验研究发现,苕河块蜜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有良好的抑制效果,其中,对金黄色葡萄球菌的抑制性强于对大肠杆菌的抑制性。蜂蜜样品间不同的抑菌活性,是物理性质和化学成分差异导致,理化性质和化学成分的差异又与其植物种类密切相关。Liu等^[15]的研究表明鬼针草蜂蜜由于具有较高的总酚和类黄酮含量,显示出比其他蜂蜜更强的抑菌效果。甲基乙二醛 (Methylglyoxal, MGO) 普遍存在于所有蜂蜜中,然而,其含量在麦卢卡蜂蜜中最高,约为普通蜂蜜的100倍,视为麦卢卡蜂蜜最重要的抗菌物质基础,因此麦卢卡蜂蜜具有更强的抗菌效果^[16]。不同类型和不同地区的麦卢卡蜂蜜其抗菌特性有所差异,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有广谱抗菌作用,但对革兰氏阳性菌的抑制效果更好^[2]。

3 结论

苕河块蜜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有良好的抑制效果,其中,对金黄色葡萄球菌的抑制性强

于对大肠杆菌的抑制性。苕河块蜜对大肠杆菌的抑制能力强于其他蜂蜜,但弱于麦卢卡蜂蜜;对金黄色葡萄球菌的抑制能力与麦卢卡蜂蜜无显著差异,并显著强于其他蜂蜜。因此,苕河块蜜具有治疗大肠杆菌和金黄色葡萄球菌相关疾病的潜力,其临床效果和量效关系有待进一步研究。

参考文献

- [1] MG Miguel, MD Antunes, ML Faleiro. Honey as a complementary medicine [J]. Integrative Medicine Insights, 2017, 2017(12): 1178633717702869–1178633717702869.
- [2] 袁文芹, 玄红专, 王凯. 蜂蜜中抗菌活性物质及其抑菌作用机理研究进展 [J/OL]. 食品工业科技. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030349>
- [3] Aljohar HI, Maher HM, Albaqami J, et al. Physical and chemical screening of honey samples available in the Saudi market: An important aspect in the authentication process and quality assessment [J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2018, 26(7): 932–942.
- [4] Scepankova H, Pinto CA, Paula V, et al. Conventional and emergent technologies for honey processing: A perspective on microbiological safety, bioactivity, and quality [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(6): 5393–5420.
- [5] Moniruzzaman M, Khalil MI, Sulaiman SA, et al. Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera* [J]. BMC Complementary & Alternative Medicine, 2013, 13(1): 43.
- [6] 饶云华. 苕河块蜜的前世今生 [J]. 金沙江文艺, 2019(11): 3.
- [7] Hu FL. Chemical analyses and antimicrobial activity of nine kinds of unifloral Chinese honeys compared to Manuka Honey (12° and 20°) [J]. Molecules, 2021, 26(9): 2778.
- [8] 沈敏, 匡海鸥, 刘晓青, 等. 黑小蜜蜂蜂蜜的理化性质, 植物来源和抑菌活性研究 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(11): 50–58.
- [9] Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Brenciani A, et al. *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties [J]. LWT—Food Science and Technology, 2018, 89: 272–279.
- [10] Attanzio A, Tesoriere L, Allegra M, et al. Monofloral honeys by Sicilian black honeybee (*Apis mellifera* ssp. sicula) have high reducing power and antioxidant capacity [J]. Heliyon, 2016, 2(11): e00193.
- [11] Boussaid A, Chouaibi M, Rezig L, et al. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2018, 11(2): 265–274.
- [12] 欧爱群, 郭娜娜, 刘富海, 等. 蜂蜜成熟过程中主要成分和抑菌特性变化研究 [J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(2): 101–106.
- [13] Eteraf-Oskouei T, Najafi M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review [J]. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 2013, 16(6): 731–742.
- [14] Akram A, Sohail A, Masud T, et al. Physico-chemical and antimicrobial assessment of honey of *Apis dorsata* from different geographical regions of Pakistan [J]. 2014, 3(2): 25–30.
- [15] Liu JR, Ye YL, Lin TY, et al. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan [J]. Food Chemistry, 2013, 139(1–4): 938–943.
- [16] Jma B, Mb A, Ik C, et al. Honey antibacterial activity: A neglected aspect of honey quality assurance as functional food [J]. 2021, 118: 870–886.