

# 大蒜抗菌物質的研究

高中組第二名

台北市立北一女

製作學生：葉淑永 曾璧峯

指導老師：王 聿 峯



一、目的：

研究大蒜所含對細菌、黴菌的抗菌物質，以便加以研究利用。

二、用品：（材料）

特選大蒜、冷房（4°C）、低溫離心機、seitz 無菌濾過器、果汁機。

三、初步實驗準備工作：

(一)剝蒜：選出去皮後尖頭沒有長芽，表面沒有蟲蛀的。

(二)洗試管：先用自來水、再用蒸餾水（為除去水中可能含有之鐵離子）。

(三)稱量：（利用單臂天平）量取60gm之大蒜。

(四)打碎：60gm大蒜 + 300cc 蒸餾水於冷房中用果汁機有打 3 分鐘，因此所得濃度為20%

(五)分裝：

⊖打完後表面泡沫極多，色乳白（因蛋白質和水之理化作用而生成）。

⊖傾析分裝於 6 試管。

⊖以10cc之吸管使各管盛量相等（約45cc）

⊖分裝後各管濃度不變20%

(六)離心：

⊖將各管分裝於離心機之固定槽裏。

⊖六管分三對成對角線位置於入離心機中。

⊖速度3000rpm，時間40分，溫度4°C。

(七)取出：

⊖離心後取出，可看見試管內物質分成四層。

⊖用試管吸汲上層之汁液裝入錐形瓶中。

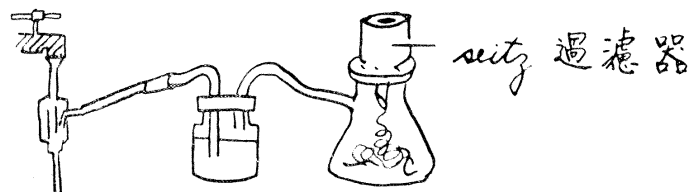
(八)無菌過濾：

⊖濾材先經高壓蒸汽消毒後方可使用。

⊖在無菌室中過濾，

裝大蒜抽取液緩緩倒入瓷濾器。

⊖濾器外另裝一抽氣設備，以便加快速度（因其濾孔太小），



此過程稱爲“減壓過濾”。

(九)再分裝：

⊖過濾後在無菌室分裝。

⊖取在濾過器後，加熱瓶口（錐形瓶），一方面用滅菌過之吸管吸取大蒜汁裝入無菌螺絲帽管，用火燒一方面使瓶口空氣膨脹，確保無菌，一方面使冷氣無法進入，細菌無法進入）。

⊖分裝畢，試管口蓋緊，即成無菌液。

⊖放入 $-27^{\circ}\text{C}$ 冰櫃中保存。

四、培養細菌的準備工作：（製平板之準備工作）

(一)取用營養瓊脂（爲美國Fisher Scientific公司出品）

成分 PH=6.8 g/l

⊖peptone（蛋白朊經某種程度消化之蛋白質）……5.0

⊖Beaf Extract Bacteriological……3.0

（細菌用牛肉浸膏）

⊖Agar（洋菜）……15.0

✳使用時以100cc蒸餾水+2.3grams乾燥營養瓊脂。

(二)調培養基：依上用量、調配數份裝入錐形瓶中，瓶口用紙封住。

(三)高壓滅菌：將培養基及所需之培養皿及 cup-method（不銹鋼鐵環）以高壓滅菌後備用。

（ $121^{\circ}\text{C}$ ，15分鐘，蒸氣壓，15磅/立方英寸）

五、取菌種及製平板：

(一)所用菌種有五：

⊖金黃色葡萄球菌 [ATCC (美國標準菌種收集中心)12692]

⊖大腸桿菌 (JE 2100)

⊖金黃色葡萄球菌 (榮總分離, 1018—91)

⊖新型隱球菌 (酵母菌型的黴菌)

(*Cryptococcus neoformans*)

⊖白色念珠菌 (類酵母菌型的黴菌)

*Candida albicans*

※各菌種需先於agar斜面上培養18小時後才可取用。

(二)取菌種：

⊖準備滅菌之試管數隻及0.9%生理鹽水。

⊖吸管及鹽水瓶口先用火燒過後，吸取鹽水約半管。

⊖取出培養菌種之試管，打開試管口之棉花球，用鹽水沖下agar斜面之菌種，迅速再吸起，並裝入無菌螺絲帽管做成“細菌懸浮液”。

(三)確定各菌種之濃度：

⊖利用分光光譜光度計 ( Spectrophotometer ) 美國 Coleman公司出品者。

⊖取一管無菌鹽水作為空白對照管，調其透光率為100%

⊖歸零。

⊖依次測定各菌種之濃度，並且調其透光率為20%

(四)製平板：

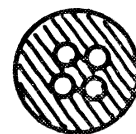
⊖將準備好之培養基取出並加熱，溶化後放在一旁冷卻，冷到45°—48°C時便可用（一方面agar不會凝固，且細菌也適宜溫度）。

⊖取各菌種懸浮液1.5ml加入100ml之培養基中，調勻之，在它尚未凝固以前倒入培養皿中做成平板。

※黴菌的培養基較特別，需另加5%之葡萄糖，以期得到更好的效果。

⊖每個培養皿約倒5-10ml即可（愈薄愈好觀察結果）。

⊖取出備用之無菌鐵環，以對角線位置放入（插入）培養皿中。（要插得牢，但不需到底）。



六、正式實驗：

(一)大蒜抗菌物質安定性之測定：

⊖置大蒜抽取液於100°C沸水浴中分別加熱10分、20分、30分後取出，於冰浴中急速冷卻之。

⊖把加熱處理過與未加熱（對照）之大蒜抽取液分別注入無菌鐵環中。

- ③於37°C 溫箱中培養24小時後，觀察結果。
- ②大蒜抗菌物質的最低有效抑菌濃度之測定：
  - ⊖將大蒜抽取液以10倍稀釋法做成各種濃度。
  - ⊖把各濃度之大蒜抽取液分別加入鐵環中。
  - ⊖於37°C 溫箱中培養24小時後，觀察結果。
- ③大蒜抗菌物質對有抗藥性細菌之作用：
  - ⊖選擇對抗生素，有抗藥性的菌種為試驗蒜種（榮總分離之金黃色葡萄球菌）。
  - ⊖並以美國標準收集所之菌種為對照菌種。
  - ⊖依前法分別將大蒜抽取液及氯黴素（CM），四環黴素（TC）分別加入鐵環中。
  - ⊖於37°C 溫箱中培養24小時後，觀察結果。
- ④大蒜抗菌物質對黴菌的作用：
  - ⊖選取由榮總分離之新形隱球菌及白色念珠菌各一株為本實驗之試驗菌種。
  - ⊖依前法以含5% 之葡萄糖之營養瓊脂做成平板置入無菌鐵環，並於鐵環中分別加入。大蒜抽取液與 Amphotericin-B（10mg/ml及1mg/ml）。
  - ⊖置入37°C 溫箱中培養24小時後，觀察結果。

## 七、結果：

- ①本實驗證實大蒜確實含有抗菌成分。
- ②大蒜抗菌物質對身體深部感染性之黴菌如新型隱球菌及白色念珠菌有特殊明顯的效果。
- ③大蒜抗菌物質對熱不安定。
- ④大蒜所含抗菌物質對有抗藥性之細菌仍然有效。