

7种植物精油对青霉抑菌活性的初步研究

唐 欢 周理坤 范文奇 王 春

(重庆中国三峡博物馆, 重庆, 400015)

摘要 作为极具潜力的文物防虫防霉剂, 植物精油与化学药剂剂相比具有诸多优势。为了评价植物精油对于青霉的抑菌效果, 为其今后在防治中的实际应用提供实验依据, 本研究利用纸片扩散法, 通过抑菌圈直径作为评价指标, 初步测定了7种植物精油对于橘青霉的抑菌能力。实验结果表明, 抑菌效果最好的是香茅油, 其次是桉叶油和珊瑚姜油, 薄荷油、青花椒芳香油、松叶油和迷迭香油也均可不同程度的抑制橘青霉的生长。

关键词 精油 霉菌 文物 抑菌

引 言

虽然目前博物馆文物保存和展陈环境得到了极大改善, 但文物霉变的情况依然大量存在, 对于文物友好型防霉剂的研发一直是文物保护工作中具有重要意义的研究方向之一。

在防治馆藏文物霉变的方法中, 熏蒸法被认为是最有效、最彻底的途径, 常见的熏蒸剂包括环氧乙烷、溴甲烷、硫酰氟等, 其有效性已经在洗涤、制药、食品等行业中得到充分证明, 但其安全性问题也随之引发争议, 包括环氧乙烷的易燃易爆性和致癌性、溴甲烷的环境危害和对人体的神经毒性、硫酰氟对大气的影响等。相较于上述熏蒸剂对人体的毒副作用和环境释放问题而言, 植物精油作为天然抑菌物, 抑菌活性强, 对人体相对安全, 对环境较为友好, 因此其应用范围逐渐扩大。在文博领域, 上海博物馆的相关研究团队先后开展了中药防霉剂的抗霉菌活性及其应用研究、三种植物成分防霉活性及其对纸张、颜料影响的研究、植物中药成分应用于文物虫霉病害防治中的适用性等研究, 重庆中国三峡博物馆也开展了多种植物精油对霉菌抑制作用的相关研究, 此外, 浙江省博物馆、首都博物馆等单位也对天然植物成分运用于文物防霉进行了探讨。

在本实验前期研究的基础上, 本研究利用纸片扩散法, 通过抑菌圈直径作为评价指标, 测定了7种植物精油对于橘青霉的抑菌能力。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌株为橘青霉 (*Penicillium citrinum* Thom.)，由西南大学植物保护学院提供。供试油样共7种，均由重庆日用化工研究所提供，详见表1和图1。

表1 供试精油

序号	精油名称	拉丁学名	来源
1	珊瑚姜油	<i>Zingiber corallinum</i> Hance	珊瑚姜块茎，超临界萃取，产地重庆荣昌
2	迷迭香	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	迷迭香叶，水蒸气蒸馏，产地重庆万州
3	松针油	<i>Pinus khasya</i> Royle	松树枝叶，水蒸气蒸馏，产地云南思茅
4	桉叶油	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	桉树枝叶，水蒸气蒸馏，产地四川宜宾
5	青花椒芳香油	<i>Zanthoxylum schinifolium</i> Sieb. et Zucc.	花椒果实，水蒸气蒸馏，产地重庆江津
6	薄荷油	<i>Mentha haplocalyx</i> Brig.	薄荷枝叶，水蒸气蒸馏，产地安徽
7	香茅油	<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle.	香茅叶，水蒸气蒸馏，产地四川西昌



图1 供试精油

1.2 7种植物精油抑菌实验

1.2.1 药敏纸片的制备

利用打孔器在定性滤纸上打出直径为6mm的圆形滤纸片，121℃湿热灭菌20min后烘干备用。

1.2.2 菌悬液的制备

将青霉接种于SDA液体培养基中，25℃，8000r/min转速下培养48h，于培养瓶中放置灭菌玻璃珠以使菌液均质化。

1.2.3 带菌平皿的制备

500mL沙氏葡萄糖固体培养基按说明配置好后,于121℃高温灭菌15min后,待冷却至不烫手,将均质化的青霉菌悬液10mL加入培养基中迅速混匀,然后倾注至灭菌的直径为9mm的培养皿中。

1.2.4 抑菌活性的测定

采用纸片扩散法。待带菌平皿内的琼脂凝固水分干燥后,用无菌镊子夹取药敏纸片平贴于平皿中心位置,每个平皿内贴一张纸片。用移液器分别吸取5 μ L、10 μ L、20 μ L的受试植物精油滴于滤纸片上,每个浓度分别做三个重复,对照组平板的纸片上则滴取对应量的生理盐水。平板用封口膜包裹后,倒置于培养箱中,于27℃,70 RH%条件下培养48h,利用游标卡尺以十字交叉法测量抑菌圈直径。根据中药方剂的抑菌试验中,常规抗生素药敏试验抑菌圈敏感性判断标准,抑菌圈直径大于20mm视为极度敏感,15~20mm为高度敏感,10~15mm的界定为中度敏感,6~10mm为低敏感;滤纸片的直径为6mm,因此当抑菌圈直径小于6mm时,则视为无抑菌作用。

1.3 数据统计

实验数据以平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示,其差异性分析采用SPSS13.0统计软件进行统计, $p<0.05$ 表示差异具有显著统计学意义, $p<0.01$ 表示差异具有极显著统计学意义。

2 结果与讨论

从抑菌圈直径统计的线条图(图2)可直观看到,在三个实验剂量条件下,香茅油对青霉的抑菌效果均最好,其次为桉叶油、珊瑚姜油和薄荷油;迷迭香油的抑菌效果均最弱,较弱的还包括青花椒芳香油和松针油。使用量为5 μ L时,珊瑚姜油、薄荷油、青花椒芳香油、松针油及迷迭香的抑菌效果相近,远低于香茅油及桉叶油。当使用量增大到10 μ L时,珊瑚姜油及薄荷油的抑菌效果有了

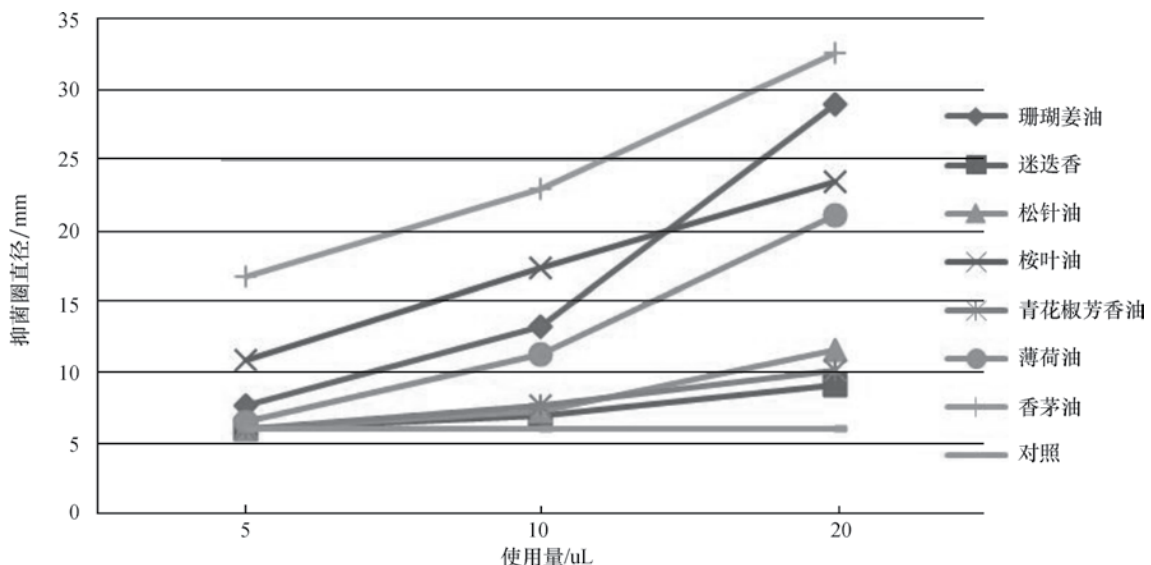


图2 抑菌圈直径统计线形图

显著增加,这种趋势与精油使用量为20 μ L时检测的效果一致,桉叶油的抑菌效果亦随其使用剂量增大而增强。

利用SPSS软件对抑菌圈直径数据进行统计学分析,如表2所示,不同植物精油对于青霉的抑菌效果具有一定差异,同种精油在不同使用剂量下其抑菌效果也具有统计学差异。比如,香茅油与桉叶油的抑菌能力相比较,在使用剂量为5 μ L时,香茅油的抑菌效果即可极显著高于桉叶油($p=0.003$),在使用剂量为10 μ L时,二者的抑菌效果差异减小($p=0.043$),当使用剂量增大为20 μ L时,二者对青霉的抑制效果均极其显著,二者间相比无差异($p=0.115$)。而通过与对照相比较可以发现,珊瑚姜油、迷迭香油、松针油、青花椒芳香油在其使用量为5 μ L时,对青霉菌均无显著性抑制作用,在低使用量时,能够较好抑制青霉生长的精油为香茅油、桉叶油和薄荷油,抑菌效果最好的精油为香茅油。但当抑菌剂使用量加大到20 μ L时,7种受试精油均可极显著抑制青霉的生长。

根据抑菌圈敏感性判断标准得知,当使用剂量为20 μ L时,青霉对珊瑚姜油、桉叶油、薄荷油极度敏感,而香茅油的抑菌优势从10 μ L剂量即表现为极敏。

表2 抑菌圈直径统计结果

植物 提取物	抑菌圈直径(平均值 \pm 标准差)/mm					
	5 μ L		10 μ L		20 μ L	
珊瑚姜油	7.67 \pm 2.00	低敏	13.31 \pm 0.72**	中敏	29.02 \pm 3.74**	极敏
迷迭香	6	低敏	6.98 \pm 0.15*	低敏	9.14 \pm 1.08**	低敏
松针油	6	低敏	7.29 \pm 0.68*	低敏	11.62 \pm 1.38**	中敏
桉叶油	10.92 \pm 1.32**	中敏	17.37 \pm 1.75**	高敏	23.49 \pm 3.45**	极敏
青花椒 芳香油	6	低敏	7.66 \pm 0.40**	低敏	10.14 \pm 0.82**	中敏
薄荷油	6.61 \pm 0.29*	低敏	11.37 \pm 2.08*	中敏	21.10 \pm 1.22**	极敏
香茅油	16.82 \pm 0.85** $\Delta\Delta$	高敏	22.95 \pm 2.79** Δ	极敏	32.59 \pm 7.05**	极敏
对照	6		6		6	

注:VS 对照组:**, $p<0.05$ 表示差异具有显著统计学意义;*, $p<0.01$ 表示差异具有极显著统计学意义。

VS 桉叶油组: $\Delta\Delta$, $p<0.05$ 表示差异具有显著统计学意义; Δ , $p<0.01$ 表示差异具有极显著统计学意义。

部分实验图片见图3。

从实验图片可见,除直接抑菌外,珊瑚姜油、薄荷油、香茅油的实验平皿中可见抑菌圈周围有部分孢子未生长,仅有菌丝(白色部分)。可见,精油对橘青霉的抗菌作用应表现在两个方面,一为杀菌作用,即使孢子无法萌发,菌丝不能生长;二为抑菌作用,即使孢子停止生长或延缓其生长。

3 结 论

- (1) 7种植物精油中,抑菌效果最好的是香茅油,其次是桉叶油和珊瑚姜油。
- (2) 薄荷油、青花椒芳香油、松针油和迷迭香油也可不同程度的抑制橘青霉的生长。

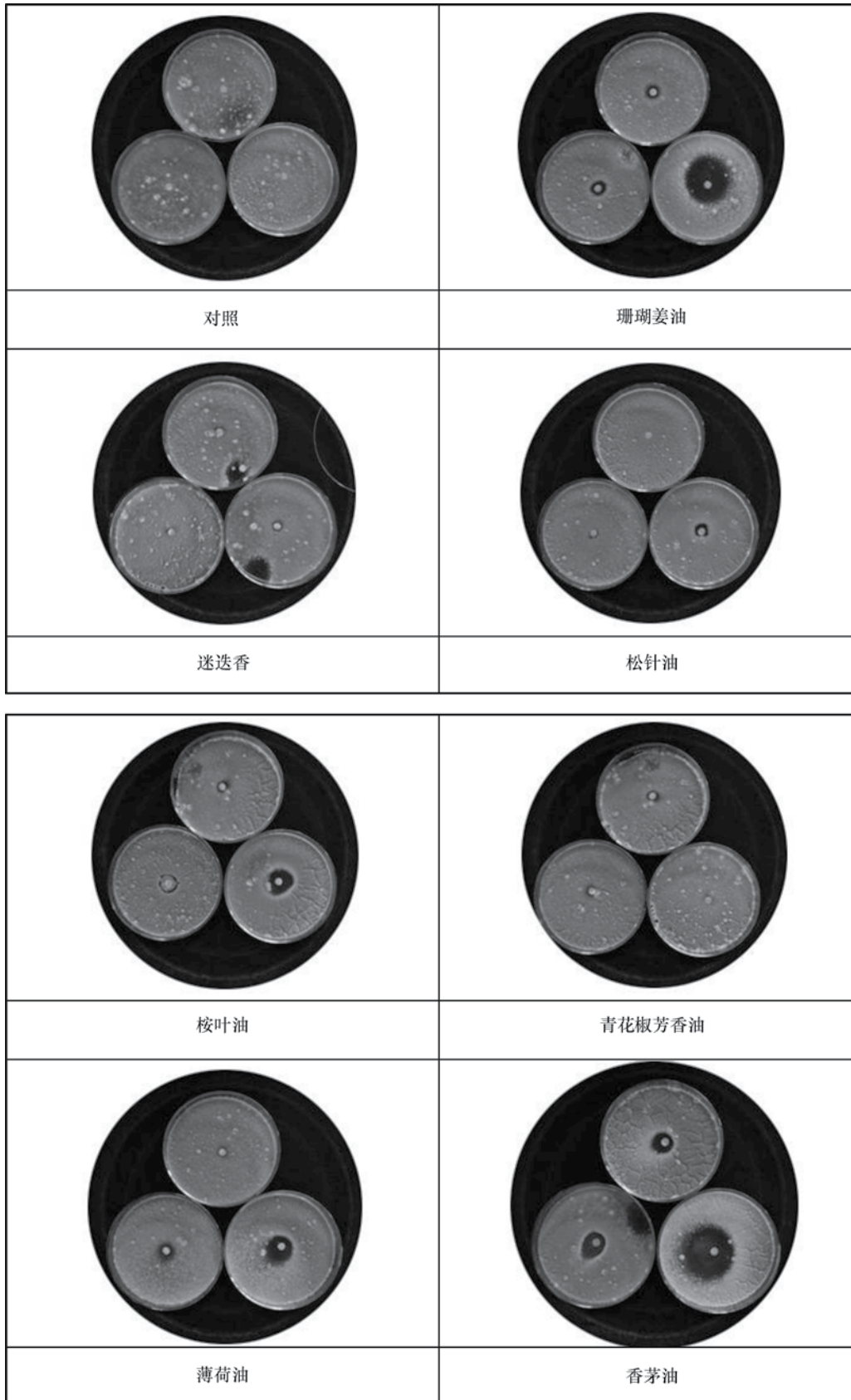


图3 抑菌圈实验图片