

绍兴印山大墓木椁霉菌的硫酰氟杀灭试验

卢 衡 刘 莺 靳海斌 李东风 张遐耘

摘要：浙江绍兴印山大墓是春秋战国时期越王允常的陵墓，1998年定为国家级文物保护单位。大墓墓室为巨大的两面斜坡窝棚式木椁结构，出土后菌害极为严重，经中科院武汉病毒研究所鉴定，印山大墓的真菌菌种有10种以上，其中9种是霉菌。由于木椁结构较复杂，且木炭、树皮、青膏泥等部分保留的覆盖物有机质含量丰富，同样存在菌害问题，因此普通喷施杀菌剂的方法难以全部施药到位，给大墓菌害留下隐患。硫酰氟是文物的主要熏蒸灭菌剂之一，采用同步对比灭活试验，将熏蒸前后的菌落计数，可得出不同硫酰氟浓度下各菌种的杀灭率。试验表明，总厚度为0.168的聚乙烯薄膜能形成密闭的硫酰氟熏蒸系统；常温下硫酰氟浓度在 $20\text{g}/\text{m}^3$ 时能完全杀灭立枯丝核菌； $80\text{g}/\text{m}^3$ 的硫酰氟气体能100%杀灭印山大墓所有的霉菌。

关键词：木椁 霉菌 硫酰氟 熏蒸灭菌

浙江绍兴印山越国王陵位于绍兴县兰亭镇里木萨村之西南侧的印山之巔，墓室是一座两面斜坡窝棚式的木结构（图1），1998年4月由浙江省文物考古研究所主持完成发掘工作^[1]。

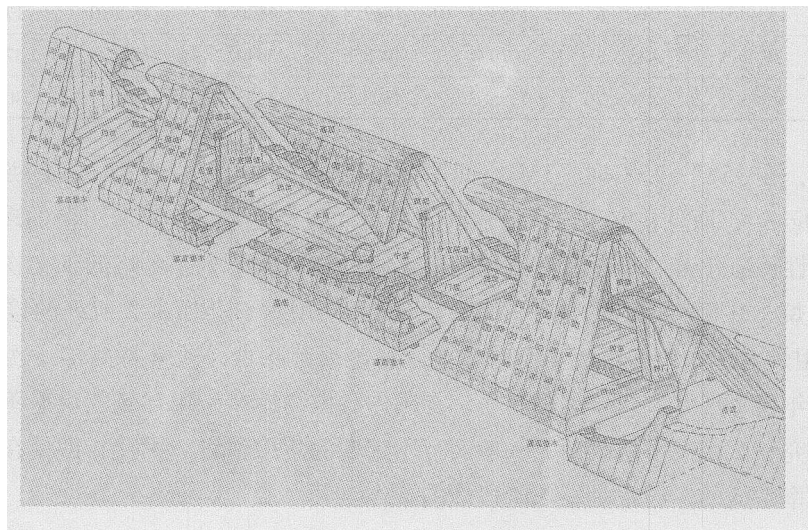


图1 印山越王陵墓室木椁复原图

由于大墓木椁结构较复杂，一部分被木炭层、树皮或青膏泥所覆盖，而且部分覆盖层内也已经孳生霉腐菌；还有一部分已揭露的木结构由于空间过于狭小，使通常采用的喷、洒、涂、刷灭菌剂的方法难以将药剂全部施药到位，发挥作用，为此考虑选用高效、扩散性好、毒性相对较低的灭菌

气体进行整体熏蒸灭菌，将喷涂防霉防腐剂作为辅助方法。

长期以来，能够应用于保护文物的熏蒸灭菌气体主要有环氧乙烷、溴甲烷及硫酰氟3种，它们对文物的影响最小^[2]。相比之下，硫酰氟的急性毒性最低，且可燃不爆，熏蒸剂量小，扩散性、渗透性好，室温蒸气压高，自然脱附残留小（除橡胶等个别物质外），处理成本较低，适合处理大型的不可移动文物^[3]。因此，硫酰氟作为灭除印山大墓木椁病菌的首选熏蒸气体。

硫酰氟最初被农业部门用于杀虫，后由中国人民大学、国家档案局、中国历史博物馆等多家单位研究了硫酰氟熏蒸处理档案文物等的应用技术^[4]，在研究文物档案除虫的基础上进行了灭菌试验，取得了成效^[5]，但迄今尚未见引用于遗址、墓葬等不可移动文物或大型出土文物灭菌的报道，本项试验旨在确定硫酰氟对印山大墓木椁菌种的有效灭菌浓度，作为消除印山大墓木椁等生物危害的可行性研究之一。

一、硫酰氟的基本性质

硫酰氟分子式为 SO_2F_2 ，分子量 102.96，常温下为无色气体，比重 2.88（20℃），沸点 -55.2℃，蒸汽压 1792.3Kpa（25℃），难溶于水，易溶于丙酮、氯仿、溴代烷等。硫酰氟的灭菌机理是其能抑制菌体多种酶的活性，能刺激蛋白质分解成氨基酸，并与氨基酸的 NH_2 、 OH 等基团结合，破坏菌体细胞的正常机能。

硫酰氟的沸点低，在低温下仍有很高的蒸汽压，而且温度变化对硫酰氟浓度影响不明显（表1）。

表1 不同温度下的熏蒸剂浓度

熏蒸剂浓度/ $g \cdot m^{-3}$	温度/℃							
	0	5	10	15	20	25	30	35
环氧乙烷	1331.51	1606.6	1854.5	1862.4	1830.4	1800.0	1771.2	1740.8
溴甲烷	3839.3	4152.8	4079.4	4008.6	3940.2	3874.1	3710.1	3748.3
硫酰氟	4546.0	4464.2	4385.3	4309.2	4235.7	4146.6	4095.9	4029.4

由表1可知，在15℃~25℃时，1M³空间中的硫酰氟浓度比溴甲烷高，大约是环氧乙烷的2.2倍，超过了4000g/m³，而且在室温较低时这种优势更明显，是室温下熏蒸灭菌的理想杀菌气体。

硫酰氟的毒性比氯化苦、磷化氢及氢氰酸等传统熏蒸剂低得多；也略低于文物上允许使用的其他熏蒸剂（溴甲烷、环氧乙烷）的毒性（表2）。实际应用时不会如表2所列的接触密度（每周一次），日本用溴甲烷对博物馆展厅或文物库房进行熏蒸灭菌除虫，通常每两年一次，展厅与库房交替消毒，例如单年熏蒸展厅，双年熏蒸库房。在国内，博物馆多采用环氧乙烷熏蒸器处理文物，上海博物馆也曾研究和试用溴甲烷灭菌。一般实行不定期的集中消毒。因此，即使在文博单位，人体接触熏蒸剂的频率是低的，通常是一项阶段性的工作。

表 2 人接触熏蒸剂的最大限量

熏蒸剂名称	接触时间 (一周一次)		
	7 小时/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	1 小时/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0.1 小时/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
氯化苦	1	1	5
磷化氢	1	25	50
氢氰酸	20	40	200
硫酰氟	200	400	2000
溴甲烷	100	200	1000
环氧乙烷	150	500	2000

表 3 是硫酰氟、环氧乙烷、溴甲烷熏蒸处理后在部分植物性材料上的残留量。木材用硫酰氟熏蒸处理后, 经常温下自然挥发脱附 (解吸), 残留量仅为 $0.2 \mu\text{g}/\text{g}$, 接近其他二种熏蒸气体采用专用设备经人工脱附后的残留量。

表 3 熏蒸剂的脱附温度与物质残留

名称	脱附温度/ $^{\circ}\text{C}$	自然残留/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			脱附残留/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$		
		纸木棉			纸木棉		
环氧乙烷	30 ~ 54	5.7	18.9	0.6	0.1	0.7	0
溴甲烷	-60 ~ 220	7.4	3.0	0.9	0	0.04	0.1
硫酰氟	室温	0.4	0.2	0.2	无需人工脱附		

二、菌种的采样、分离和鉴定

由中科院武汉病毒研究所负责对印山大墓木椁及木炭、土壤表面的霉菌进行采样、培养、分离和鉴定, 真菌的鉴定结果有霉菌 10 个, 酵母菌一个, 具体分列于表 4。

表 4 印山大墓霉菌菌种

序号	菌种学名	中文名称	菌种编号
1	<i>Aspergillus flavus</i>	黄曲霉	AS 3. 042
2	<i>Aspergillus niger</i>	黑曲霉	AS 3. 3928
3	<i>Endomyces fibuligera</i>	扣囊拟内孢霉	AS 2. 1145
4	<i>Fusarium proliferatum</i>	镰孢霉	AS 3. 4726
5	<i>Mortierella minutissima</i>	小被孢霉	AS 3. 2796
6	<i>Mucor mucedo</i>	大毛霉	AS 3. 3438
7	<i>Paecilomyces variotii</i>	宛氏拟青霉	AS 3. 4253
8	<i>Rhizoctonia solani</i>	立枯丝核菌	AS 3. 2888
9	<i>Trichoderma viride</i>	绿色木霉	AS 3. 3942
10	<i>Verticillium psalliotae</i>	蘑菇轮枝孢	AS 3. 4423
11	<i>Paecilomyces variotii</i>	宛氏瓶梗青霉	AS 3. 4253

上表中, 除了扣囊拟内孢霉为酵母目真菌外, 其余均为霉菌, 由于宛氏瓶梗青霉与宛氏拟青霉

为同一菌种的不同中文名称，习惯上多以后者命名，故实际试验菌种为宛氏拟青霉等 10 个菌种。

三、硫酰氟灭菌试验

1. 菌种试样

除桔梗青霉以外的印山大墓 10 种已鉴定菌种，菌种孢子稀释度 $10^1 \sim 10^5$ 倍。

2. 灭菌气体

99% 硫酰氟压缩气体（临海利民化工厂生产）。

3. 材料

0.84mm 聚乙烯薄膜（图 2）， $\phi 8$ mm 硅胶管。

4. 试验设备

- (1) 超净工作台。
- (2) 0.25m³ 培养箱（图 3）。
- (3) 15 ~ 35kg/0.5 ~ 1g 工业电子天平。
- (4) 气体钢瓶，压力表，减压阀。

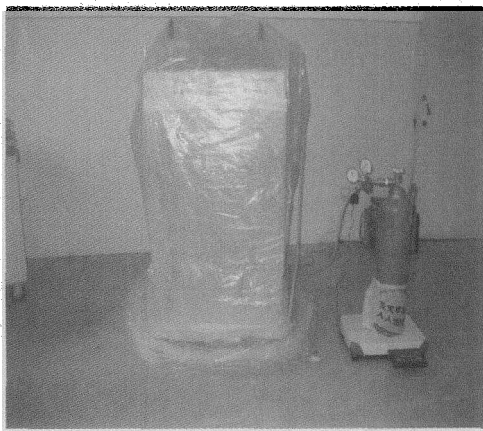


图 2 用双层 0.84mm 聚乙烯

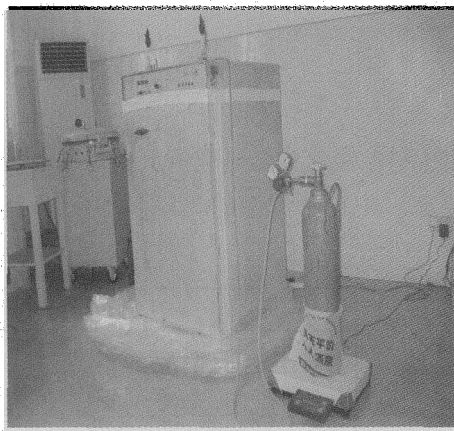


图 3 培养箱连接硫酰氟

5. 试验步骤

(1) 10 个供试菌种分成三种试验浓度，将稀释后的菌种孢子涂布在内含马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）的培养皿中，每一级稀释浓度 4 个试样，分为两组，其中一组试样接触硫酰氟，另一组试样作为对照。

(2) 调节培养箱温度至 $29 \pm 1^\circ\text{C}$ ，将菌种培养皿置于培养箱内，用胶带纸黏封培养箱门，再用二层 0.84mm 的聚乙烯薄膜密封（硫酰氟组留出输气口）。

(3) 灭菌剂浓度分为 $20\text{g}/\text{m}^3$ 、 $40\text{g}/\text{m}^3$ 、 $80\text{g}/\text{m}^3$ 三级, 每一级熏蒸处理周期为 48h。打开硫酰氟钢瓶总阀, 压力表显示瓶内压力, 通过减压阀缓缓将硫酰氟气体输入培养箱, 输入速度为 $1\text{g}/6 \sim 10\text{s}$, 通过工业电子天平的 LCD 屏直接读数, 至设定剂量后关闭钢瓶阀门。

(4) 48h 后打开培养箱, 取出培养皿, 显微镜下统计各菌种的菌落数, 并将灭菌组与对照组比较。试验结果见表 5。

表 5 硫酰氟灭菌试验结果

试验菌	菌浓度	硫酰氟 $20\text{g}/\text{m}^3$			硫酰氟 $40\text{g}/\text{m}^3$			硫酰氟 $80\text{g}/\text{m}^3$		
		对照组	试验组	杀灭率/%	对照组	试验组	杀灭率/%	对照组	试验组	杀灭率/%
黄曲霉	$10^{-1} 10^{-2}$	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	$10^{-2} 10^{4-434}$	多不可计	多不可计	—	23, 20	16, 15	30	21, 23	0, 0	100
	$10^{-3} 10^{-4u}$	160, 229	141, 90	41	5, 6	3, 0	73	4, 4	0, 0	100
黑曲霉	$10^{-1} 10^{-2}$	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	119, 135	0, 0	100
	$10^{-2} 10^{-3}$	多不可计	多不可计	—	33, 17	16, 13	42	9, 9	0, 0	100
	$10^{-3} 10^{-44u}$	236, 257	215, 230	10	2, 1	1, 1	33	3, 1	0, 0	100
扣囊拟内孢霉	$10^{-1} 10^{-2}$	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	$10^{-2} 10^{-3}$	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	201, 117	0, 0	100
	$10^{-3} 10^{-u}$	多不可计	多不可计	—	58, 89	58, 64	17	21, 31	0, 0	100
镰孢霉	10^{-1}	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	10^{-2}	多不可计	113, 121	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	10^{-3}	14, 21	16, 9	29	149, 155	103, 108	31	64, 57	0, 0	100
小被孢霉	10^{-1}	10, 6	4, 11	6	多不可计	多不可计	—	27, 35	0, 0	100
	10^{-2}	2, 0	2, 0	0	多不可计	多不可计	—	3, 2	0, 0	100
	10^{-3}	0, 0	0, 0	—	19, 27	14, 12	43	0, 0	0, 0	100
大毛霉	10^{-1}	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	10^{-2}	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	10^{-3}	66, 79	70, 52	16	35, 37	25, 34	18	58, 60	0, 0	100
宛氏拟青霉	$10^{-1} 10^{-2}$	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	$10^{-2} 10^{-3}$	多不可计	多不可计	—	28, 30	26, 24	21	40, 42	0, 0	100
	$10^{-3} 10^{-5}$	284, 293	177, 166	41	2, 3	0, 0	100	0, 0	0, 0	100
绿色木霉	$10^{-1} 10^{-3}$	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	23, 24	0, 0	100
	$10^{-2} 10^{-u}$	多不可计	多不可计	—	2, 4	2, 3	17	6, 6	0, 0	100
	$10^{-3} 10^{-5}$	多不可计	多不可计	—	0, 1	0, 1	0	0, 2	0, 0	100
蘑菇轮枝孢	10^{-1}	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	10^{-2}	多不可计	多不可计	—	多不可计	多不可计	—	多不可计	0, 0	100
	10^{-3}	143, 110	98, 90	26	31, 57	14, 27	53	95, 92	0, 0	100
立枯丝核菌	10^{-1}	11, 7	0, 0	100	多不可计	0, 0	100	多不可计	0, 0	100
	10^{-2}	0, 0	0, 0	—	10, 7	0, 0	100	13, 14	0, 0	100
	10^{-3}	0, 0	0, 0	—	0, 0	0, 0	—	0, 0	0, 0	100

说明: 菌浓度项的第一个质量分数表示硫酰氟浓度 $20\text{g}/\text{m}^3$ 时的菌种浓度; 第二个质量分数表示硫酰氟浓度 $40\text{g}/\text{m}^3$ 和 $80\text{g}/\text{m}^3$ 时的菌种浓度; 单一质量分数表示三种硫酰氟浓度均采用相同的菌种浓度。

试验表明,在供试菌种中,立枯丝核菌对硫酰氟最敏感,20g/m³浓度就能够全部灭活。其他菌种在硫酰氟浓度20~40g/m³范围内只是部分灭活,40g/m³浓度对曲霉属、拟青霉属、轮枝孢属有一定的灭活效果。当浓度达到80g/m³时,所有供试菌种全部灭活。

四、结 论

硫酰氟是文物的主要熏蒸灭菌剂之一,80g/m³浓度的硫酰氟能杀灭绍兴印山大墓几乎所有的霉菌,其灭菌剂量小,被熏蒸处理物可自然解吸,对木材等材料的残留小,设备和工艺简单,处理成本相对较低。

硫酰氟最初被农林渔业部门用于除虫,对谷象、谷长蠹、黑皮蠹、烟草甲等农业害虫及天牛、小蠹虫、蠹蛾、白蚁等古建园林害虫的有效杀灭浓度仅为20~40g/m³。由于普通昆虫比真菌对硫酰氟更为敏感,因此,在印山大墓实施灭菌的同时可灭除所有的害虫,包括虫卵,实现灭菌除虫一步到位。

由于硫酰氟不燃不爆,人体接触的允许剂量200~2000ug/g,0.1~7h/7day,比较安全。硫酰氟常温下蒸汽压大,扩散性好,经熏蒸处理后的古木材等物质上的残留小,采用硫酰氟对印山大墓木结构进行灭菌熏蒸处理,其废气直接排空不会对环境造成不良影响。

五、印山大墓熏蒸大棚结构的设想

印山大墓木结构的硫酰氟熏蒸大棚,拟采用网架式或笼式结构,大棚由基座档、基座斜插管、镀锌卡槽和主、副立拱杆等组成,全部采用拆装式构件,能重复使用。外表面覆盖0.15mm的进口PEP膜。在基座档东、西两侧,各设置φ1/2"进气球阀一个,作为硫酰氟的进气口;在棚顶西侧设置φ200mm排气口,由PE软管与550W离心风机连接。整个熏蒸环境的容积包括大棚与墓坑两部分,共计约1350m³,扣除木材体积,熏蒸大棚内所需硫酰氟的有效剂量估计在80kg左右。

参 考 文 献

- [1] 浙江省文物考古研究所,绍兴县文物保护管理局. 印山越王陵. 北京:文物出版社,2002.
- [2] 解玉林,陈元生. 溴甲烷在物质中的残留//马承源主编. 上海博物馆文物保护科学论文集. 上海:上海科学技术文献出版社,1996:332-335.
- [3] 卢衡. 文物熏蒸剂的环境影响与适用性探讨. 文物保护与考古科学,2003,2:51-56.
- [4] 范濯涟,冯惠芬,王菊芬,等. 硫酰氟熏蒸处理档案等的应用技术研究. 硫酰氟协作组部分资料汇编,1983:1-75.
- [5] 周德庆. 微生物学实验手册. 上海:上海科学技术出版社,1986.

作者单位:卢 衡、刘 莺、靳海斌,浙江省博物馆

李东风、张遐耘,浙江省微生物研究所

联系方式:浙江省杭州市孤山路25号,邮编310007

浙江省微生物研究所,邮编310012