

新疆出土纺织物修复现场的环境空气微生物控制研究

马 征¹ 尚玉平² 陈美均¹ 宋会宇² 康晓静² 唐 欢¹

[1. 馆藏文物有害生物控制研究国家文物局重点科研基地（重庆中国三峡博物馆），重庆，400015；2. 新疆维吾尔自治区文物考古研究所，新疆乌鲁木齐，830011]

摘要 本文使用传统纯培养手段和分子生物学测序技术，对新疆巴里坤出土清代纺织物污染霉菌进行检测，并针对文物上采集到的污染微生物进行植物精油筛选，最终筛选出植物精油A和D作为修复环境空气净化剂。在修复现场实际环境空气微生物控制中，采用熏蒸器主动挥发的方式对修复环境实施净化。通过对修复空间内空气浮游菌采样对净化效果进行监测。其结果表明：修复环境内每日空气微生物数量呈现“晚多早少”的规律，且每日修复工作前能达到洁净水平。随着修复工作的进行，修复空间内空气微生物整体呈现下降趋势，修复工作开展15日后完全达到正常环境水平，修复环境内空气微生物得到有效控制。本研究为文物，尤其是为出土有机质文物在保护修复过程中实施环境微生物控制的必要性提供了依据，同时也为文物修复过程中的环境控制提供了有效技术手段和参考借鉴。

关键词 纺织物 修复环境 微生物控制 植物精油

1 背 景

中国有着悠久的历史 and 灿烂的文明，同时也有着悠久的纺织业历史。早在距今5000~7000年前，黄河流域和长江流域就出现麻纺业和丝织业，西北地区出现毛织业^[1]。纺织品文物因其织造工艺繁杂多样，文化艺术内涵丰富，具有丰富的研究价值。

出土纺织物由于长期埋于地下，受到地下水、泥土、微生物以及各类酸碱盐类化学物质的影响^[2]，往往纤维降解，结构松散，严重者更是伴随着破损和糟朽。部分出土纺织物在地下漫长的时间里，在历经尸体腐败，尸液浸泡之后，表面和内部都受到严重的污染。这些附着于上的污染物，恰好是形成微生物最天然的繁殖温床。纺织品出土转移至室内进行揭取和修复过程中，地下的微生物随纺织品来到适宜的环境中，极易迅速繁殖暴发霉变病害，并对修复环境造成污染，对修复人员健康造成威胁。即便对霉变病害进行除菌处理，病害霉菌逸散在修复空间中的孢子通过沉降作用沉积在文物表面，也容易再次暴发霉变病害。因此，对修复环境实施空气微生物控制和净

化，能有效阻止霉变纺织品文物生物病害进一步发展，同时使修复人员在实施修复的过程中免受霉菌感染。

植物精油是由植物产生的次生代谢物，通常为具有芳香气味的挥发性复杂化合物。近年来，越来越多的植物提取物被报道具有抑菌作用^[3, 4]。植物精油来源广泛，成分复杂，不同植物精油对不同的微生物表现出来的抑菌能力也不相同。在文物保护领域，筛选对不同微生物具有抑制作用的植物精油，有针对性地对文物病害微生物进行个性化处理，具有重要意义。

在此背景下，本团队对新疆巴里坤出土清代纺织品文物修复过程实施了环境空气微生物控制和净化工作。

2 检测与分析

2.1 形态观察

2.1.1 主要仪器与方法

主要仪器：超景深三维显微系统和VH-Z20W超景深变焦物镜（ $20\times\sim 200\times$ ），基恩士KEYENCE。

观察方法：将残片置于一次性无菌培养皿中，根据样品不同随时切换调整光源模式及其强弱。以超景深三维显微镜直接观察霉变文物残片表面微生物形态，并拍照保存。

2.1.2 形态分析结果

出土服饰表面有大量片状、点状白色附着物。超景深视频显微镜观察结果显示，所有送检纺织品样品表面均覆盖有大量具有活性的霉菌，见图1、图2。这些文物上覆盖的活性霉菌极易逸散到环境中，对修复空间造成污染。因此对修复环境内实施空气微生物控制和净化，有利于消除微生物对修复人员健康造成的威胁，同时避免微生物对文物造成二次污染。

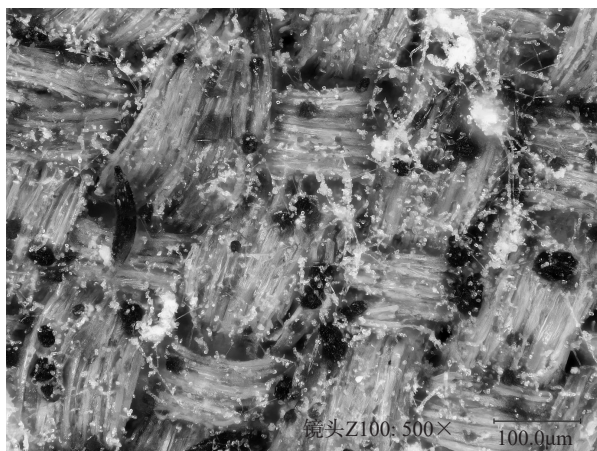


图1 残片表面菌丝体 500×

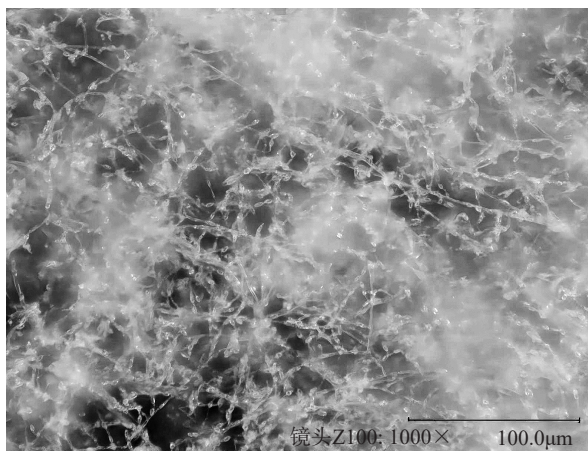


图2 残片表面菌丝体 1000×

2.2 微生物的分离和测序

2.2.1 主要材料和方法

主要材料：沙保罗营养琼脂培养基（SDA），购自重庆庞通医疗器械有限公司。Ezup柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒、Taq DNA聚合酶、真菌通用引物ITS1（5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'）和ITS4（5'-TCCTCCGCT TATTGATATGC-3'），购自生工生物工程（上海）股份有限公司。

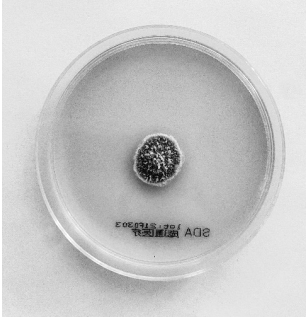
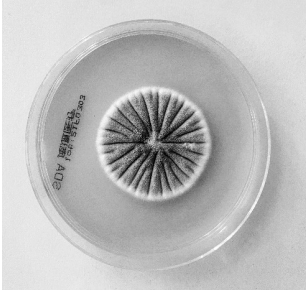
检测方法：从出土纺织品表面进行表面取样共计29处，拾取残片9份，用传统纯培养手段对采样所得的微生物进行分离纯化。根据DNA抽提试剂盒说明书提纯化霉菌的DNA。使用真菌通用引物ITS1和ITS4进行真菌ITS基因片段扩增。PCR反应体系为25μL，其中模板量为1μL（20ng/μL），10×PCR buffer 2.5μL，10mM dNTP Mixture 0.5μL，50mM MgCl₂ 0.8μL，引物ITS1、ITS4（12.5pm/L）各1μL，Taq DNA聚合酶0.2μL，无菌双蒸水18μL。PCR扩增程序设定：94℃预变性5min；94℃ 30s，52℃ 30s，72℃ 1min 30s，35个循环；最后72℃延伸5min。使用1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增产物，并送生工生物工程（上海）股份有限公司进行测序。

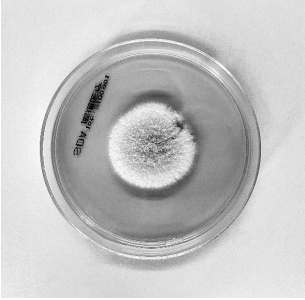
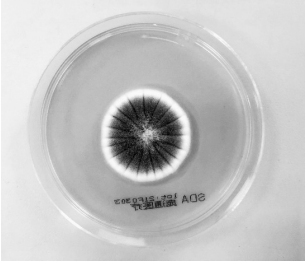
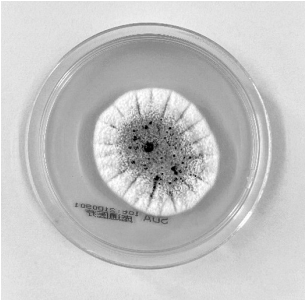
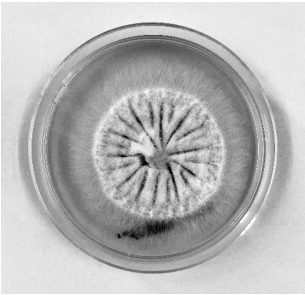
测序返回结果使用DNA Star中的Seq Man进行序列拼接，即为所测菌株的DNA序列，将所得的序列结果在NCBI中进行Blast比对后判断出待测微生物的种属。

2.2.2 测序结果

通过纯培养手段最终从该文物上分离出6类共7株霉菌。经过rDNA ITS区段序列分析，该7株霉菌测序结果见表1。测序结果表明，该纺织品主要污染霉菌来自曲霉属、青霉属和毛壳属。

表1 出土清代纺织品文物表面采样提取微生物测序结果

微生物编号	图片	测序结果
1		<i>Aspergillus chevalieri</i> ，谢瓦氏曲霉 比对相似性100%
2		<i>Penicillium rubens</i> ，产红青霉 比对相似性100%

续表		
微生物编号	图片	测序结果
3		<i>Aspergillus pseudoglaucus</i> , 假灰绿曲霉 比对相似性100%
4		<i>Penicillium rubens</i> , 产红青霉 比对相似性100%
5		<i>Chaetomium globosum</i> , 球毛壳菌 比对相似性100%
6		<i>Aspergillus sydowii</i> , 聚多曲霉 比对相似性100%
7		<i>Aspergillus ochraceus</i> , 赭曲霉 比对相似性100%

3 修复环境空气微生物控制试剂筛选

3.1 精油筛选

3.1.1 主要材料和仪器

主要材料：沙保罗营养琼脂培养基（重庆庞通医疗器械有限公司）。

受试霉菌：2号产红青霉、4号产红青霉和6号聚多曲霉。

供试精油：植物精油共6种，分别以字母A～F命名（重庆市日用化学工业研究所）；复配香精，由植物精油A～F按一定比例混合，实验室自制而成。

主要仪器：恒温恒湿培养箱（KBF 240，德国Binder）；立式压力蒸汽灭菌锅（LDZX-30FBS，上海申安医疗器械厂）；超净工作台（SW-CJ-IFD，苏州安泰空气技术有限公司）。

3.1.2 筛选方法

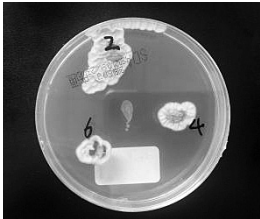
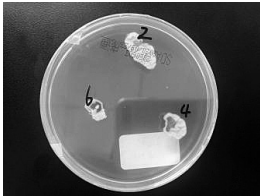
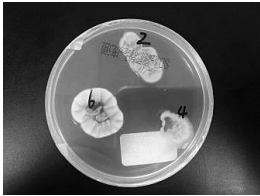
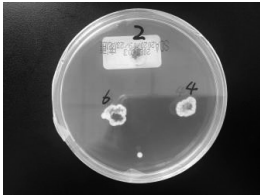
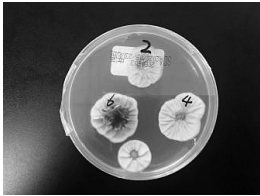
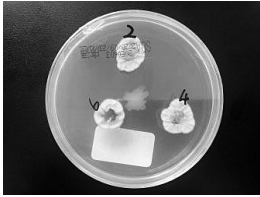
采用平板熏蒸法^[5]对受试精油进行筛选。从新鲜培养的受试霉菌培养基中，打取直径为5mm的菌饼，转移至崭新的培养基内，于培养皿皿盖中滴加供试精油，对照组不放置精油，用封口胶密封培养基，倒置培养，观察受试霉菌菌落生长大小情况，并与对照组比较，确定精油对霉菌的熏蒸抑制效果。

3.1.3 精油熏蒸结果

植物精油A～F及复配物对受试霉菌的抑制效果见表2。

表2 植物精油对2、4、6号霉菌的抑制效果

编号	精油名称	用量/ μ L	72h	7d
1	A	5		
2	B	5		

续表				
编号	精油名称	用量/ μL	72h	7d
3	C	5		
4	D	5		
5	E	5		
6	F	5		
7	A : B	2.5+2.5		
8	A : C	2.5+2.5		
9	B : C	2.5+2.5		

续表				
编号	精油名称	用量/ μL	72h	7d
10	A : D	2.5+2.5		
11	对照组	—		

由表2可观察到，单体精油A~F通过熏蒸实验对受试霉菌的抑制情况。7d内植物精油A对2号产红青霉的抑制效果最好；植物精油D对4号产红青霉抑制效果最好，各单体精油对6号聚多曲霉的抑制作用均不明显。在所有供试精油中，A和D的复配物对2号产红青霉、4号产红青霉均表现出了最好的抑制作用，且该复配物在7d内对6号聚多曲霉也表现出了较强的抑制作用。

3.1.4 筛选结果

根据精油熏蒸实验的结果，决定选取植物精油A和植物精油D两种植物精油配合使用，作为本次修复环境空气微生物净化和控制的真菌净化剂。

3.2 环境细菌控制试剂筛选

目前，细菌对有机质文物的影响尚不明确。为了避免空气中的细菌对本次出土的纺织物造成影响，我们以净化空气中的细菌为目的，对市售的消毒剂展开筛选，最终选定新洁尔灭作为本次修复环境空气微生物控制的细菌净化剂。

4 修复现场环境微生物控制

4.1 修复现场空气微生物控制工作情况

4.1.1 采样

修复环境微生物控制小组分别于修复工作开始前，以及修复工作开始后每日早晚，采用空气浮游菌采样器，于修复环境中选取两个固定采样点进行修复环境空气微生物采样工作。

4.1.2 植物精油熏蒸

修复现场同时使用筛选出的植物精油A和D，使用定制熏蒸器，对修复环境进行24h不间断熏

蒸。熏蒸器能使植物精油变被动挥发为主动挥发，其中的驱动电机带动扇叶旋转形成负压，吹向植物精油并将其带入到修复环境气相中，使之能够更高效迅速的充满修复空间。

4.1.3 细菌杀菌液喷洒

选定的细菌类微生物净化和控制药剂——新洁尔灭，按照说明书所示比例配制为杀菌液体，每日修复工作前和每日修复工作结束后，对修复环境空气进行喷洒，并对修复环境各表面进行清洁。

4.2 现场微生物采样结果与分析

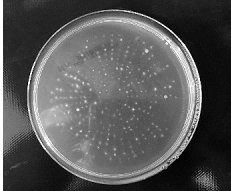
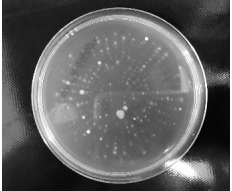
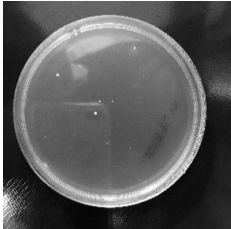
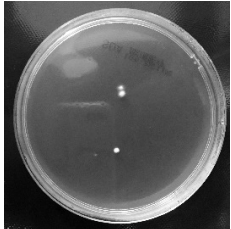
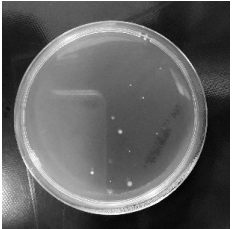
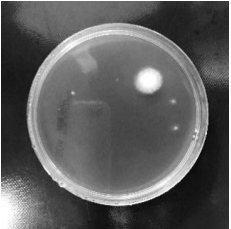
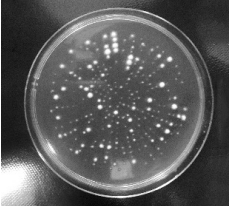
4.2.1 文物进入修复空间前后采样结果与分析

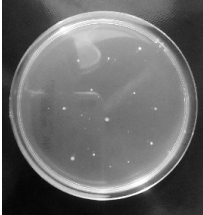
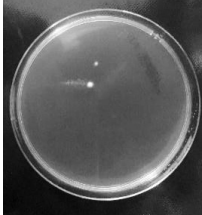
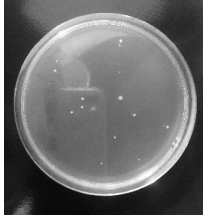
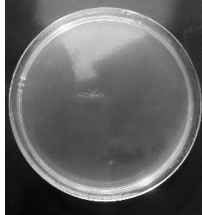
出土纺织品进驻前后，对修复空间内进行空气微生物采样，所采的真菌微生物种类有较大的区别。文物进入修复空间后，所采得的微生物种类变得单一。经分离纯化后，并经过rDNA ITS区段序列分析，确定该霉菌测序结果为产红青霉。该结果说明修复环境内的主要污染微生物，是来源于文物表面。

4.2.2 修复过程中空气微生物采样结果及分析

每日修复工作开始前和结束后两次与修复环境中两个固定采样点对空气微生物进行采样，选取其中48h采样结果列示于表3。

表3 修复空间空气微生物变化情况（部分）

时间	采样点1		采样点2	
	细菌	真菌	细菌	真菌
第10日 修复结束				
第11日 修复前				
第11日 修复结束				

续表				
时间	采样点1		采样点2	
	细菌	真菌	细菌	真菌
第12日 修复前				

根据采样结果，修复空间内空气微生物数量总体呈现出“晚多早少”特点，即每日修复工作结束后，空气中的微生物增多；当日修复工作结束至第二日修复工作开始前，是精油熏蒸控制时间，可见，熏蒸结束后即第二日修复工作开始前，空气中微生物显著减少。

上述结果的产生，是由于在修复工作中，对出土纺织品的揭取、翻动、剥离、湿敷回潮等修复操作，使得出土纺织品上的霉菌孢子逸散至修复环境空气中，造成污染；同时修复人员进出走动频繁引起修复空间内外空气交换，带入了部分空间外的细菌。而修复工作结束后，修复空间内的环境相对于白天更为稳定。新洁尔灭对修复空间内表面的擦拭和空气喷洒，对细菌起到了很好的抑制作用；而熏蒸器主动挥发植物精油A和D，对修复空间内进行持续一夜的熏蒸，对修复空间空气中的霉菌孢子达到了抑制和净化作用。

4.2.3 修复过程中环境空气微生物控制效果评价

在修复过程中，对环境微生物采样部分计数结果见表4。

表4 修复空间内环境采样计数结果（部分）

采样时间	采样点1		采样点2	
	细菌 (CFU/皿)	真菌 (CFU/皿)	细菌 (CFU/皿)	真菌 (CFU/皿)
文物进驻前	246	11	246	——
文物进驻后	+++++	+++++	+++++	+++++
修复第3日工作前	2	10	11	4
修复第3日工作后	++++	++++	++++	++++
修复第10日工作前	71	4	99	8
修复第10日工作后	+++	+++	+++	+++
修复第15日工作前	23	2	19	2
修复第15日工作后	36	25	51	26

注：+表示培养皿内菌落总数超过培养皿计数上限，无法计数。+越多表示生长霉菌越多。
——表示未采样。

环境空气微生物采样结果显示，自修复工作开展第3日起，每日修复工作开展前修复空间环境内微生物数量均已接近或小于文物进驻前修复空间空气采样结果，达到洁净水平。尽管修复空间内

微生物数量呈现“晚多早少”的规律，但随着修复工作的进行，修复环境空气内微生物采样总体呈现下降趋势。修复工作开展15日后，修复空间内工作结束后环境空气采样结果均已接近正常环境空气微生物水平。修复空间内环境微生物得到有效控制。

结 论

通过对新疆巴里坤出土清代纺织品文物修复过程进行环境微生物控制和净化过程进行研究，得出以下结论。

1) 对出土纺织品文物霉变部位进行微生物采样，分离纯化出污染菌株，并通过测序手段确定污染霉菌种类，主要类群是曲霉属、青霉属和毛壳属。

2) 对污染霉菌进行熏蒸精油筛选，确定了植物精油A和D为环境微生物控制的熏蒸剂。同时通过对市售的消毒剂筛选，确定新洁尔灭为空气细菌净化剂。

3) 对修复空间内空气进行持续的微生物采样和监测，确定了修复空间内的主要污染微生物，经分离纯化和测序比对，为来源于文物的产红青霉。

4) 使用熏蒸器持续不断主动挥发筛选出的植物精油A和D，并且每日早晚两次使用新洁尔灭对修复空间内空气进行喷洒和对表面进行清洁，该处理可对修复环境中的微生物实施有效控制。

参 考 文 献

- [1] 魏芙蓉.论馆藏纺织品文物的科学保管[J]. 科技创新导报. 2017(3): 247-250.
- [2] 王旭,徐军平,赵林娟.考古出土纺织品的保护、修复和保管综述[C]//中国文物保护技术协会,故宫博物院文保科技部.中国文物保护技术协会第五次学术年会论文集.北京:科学出版社.2008: 211-220.
- [3] 吴津挺,张悦丽,张博,等. 11种植物精油对6种植物病原真菌的抑菌活性研究[J]. 植物科学学报. 2013, 31(2): 198-202.
- [4] 李国林,张忠,毕阳,等. 八种植物精油体外抑菌效果的比较[J]. 食品工业科技. 2013, 34(7): 130-133.
- [5] 袁媛,邢福国,刘阳. 植物精油抑制真菌生长及毒素积累的研究[J]. 核农学报.2013, 27(8): 1168-1172.