

真空处理对青霉菌的抑制及吸湿性能影响研究

孙喻晗¹, 邱增处^{1*}, 米冰冰¹, 付梦娜¹, 陈章景^{2*}

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 弗吉尼亚理工大学 木材科学与林产品系, 弗吉尼亚 24060)

摘要:接种青霉菌橡胶木在温度 15 ℃、绝对真空度 7 mmHg(即 933 Pa)下, 分别处理 0、12、24、36、48、60、72 h。经霉菌稀释计数观察青霉菌数量, 傅里叶变换红外光谱、热重分析仪和动态水蒸气吸附分析仪分析橡胶木表面化学结构、热稳定性与吸湿解吸性能。结果表明, 真空处理可明显抑制青霉菌生长, 处理 60 h, 青霉菌几乎完全被杀死; 接菌橡胶木与真空处理接菌橡胶木, 其纤维素、半纤维素和木质素均有所降解, 橡胶木表面亲水基团增加, 表面亲水性增强, 且后者易炭化, 热稳定性稍有降低; 侵染青霉菌的橡胶木吸湿与解吸性能有所增大, 真空处理后更趋明显。该研究可为真空处理抑制木材霉菌生长技术提供理论参考。

关键词:青霉菌; 真空处理; 抑制作用; 吸湿; 橡胶木

中图分类号:S781.52

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2022)01-0230-05

Inhibition of *Penicillium* by Vacuum Treatment and Its Effect on Hygroscopicity

SUN Yu-han¹, QIU Zeng-chu^{1*}, MI Bing-bing¹, FU Meng-na¹, CHEN Zhang-jing^{2*}

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; 2. Department of Sustainable Biomaterials, Virginia Polytechnic Institute and State University, VA 24060, USA)

Abstract: In this study, the rubber woods inoculated with *Penicillium* were respectively treated for 0, 12, 24, 36, 48, 60, and 72 h at 15 ℃ in the vacuum of 7 mmHg (933 Pa). The changes of the number of molds were observed by using comparison of plate counting, and FTIR, TGA and DVS were applied respectively for determining the effects of vacuum treatment from the surface functional group, the thermal stability and the sorption and desorption properties of the woods. The results showed that the vacuum treatment inhibited the mold, and *Penicillium* was almost completely killed when the wood was treated for 60 h. When testing the penicillin-infested rubber wood and vacuum-treated pieces, its cellulose, hemicellulose and lignin were partially degraded. The hydrophilic groups on wood surface increased, so the hydrophilia enhanced, and its thermal stability was less reduced as the later were more easily carbonized. Inoculation treatment could increase the hygroscopic and desorption properties of rubber wood, that was further increased by vacuum. This study can provide a theoretical basis for vacuum treatment as an inhibitor of molds growth.

Key words: *Penicillium*; vacuum treatment; inhibiting effect; hygroscopicity; rubber wood

霉菌是一种数量众多、代谢旺盛、繁殖能力强的微小真菌, 在潮湿环境和适宜温度下极易侵害木材, 导致其发霉腐败变质。这不仅影响木材外观, 延长木材干燥时间, 也使其更容易受到其他生物的攻击^[1]。因而采取有效措施对木材进行杀菌处理很有

必要。

目前, 多使用砷酸铜 CCA、季胺铜 ACQ、硼酸盐、三唑、多菌灵、百菌清、合成拟除虫菊酯类和氨基甲酸酯等化学药剂对木材进行杀菌处理, 但这类杀菌剂含有毒物质, 对环境 and 人体产生危害^[2-3]。近些

收稿日期: 2021-01-25 修回日期: 2021-06-30

基金项目: 国家林业和草原局 948 项目(2015-4-58)。

第一作者: 孙喻晗。研究方向: 木质材料加工与利用。E-mail: sunyhtxzm@163.com

* 通信作者: 邱增处, 副教授。研究方向: 木质材料加工与利用。E-mail: qzengchu@163.com

陈章景, 研究员。研究方向: 生物质材料加工与利用。E-mail: chengao@vt.edu

年发展起来的生物杀菌剂逐渐受到人们的青睐,如乙酰胺类化合物、芦丁及金属配合物、植物精油等,但其抑菌作用较弱^[4-11]。因此,研发对环境和人体无毒害的新型抑菌技术意义重大。

引起木材霉变的真菌主要有木霉(*Trichoderma*)、青霉(*Penicillium*)、曲霉(*Aspergillus*)和毛霉(*Mucro*)等,最常见的霉菌如木霉属的绿色木霉、青霉属的青霉菌和曲霉属的黑曲霉等均为需氧型霉菌^[12]。霉菌适宜生长温度为 25 ℃,适宜湿度为 75%~95%^[13-14],故可通过排除氧气和水分抑制霉菌生长。真空灭菌技术在食品领域和医疗领域的应用较为广泛^[15-17],但在木材杀菌方面的报道较为少见,故可尝试将真空技术应用于木材的灭菌领域。

本研究通过对接种青霉菌的橡胶木进行真空处理,采取霉菌稀释计数、傅里叶红外分析、热重分析方法和动态水蒸气吸附分析试验,分析真空对青霉菌的抑制作用及真空处理对接菌橡胶木表面化学结构、热稳定性和吸湿解吸性能的影响,探索真空抑制青霉菌的工艺,以期研发新型环保抑菌技术提供更多的思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

木材:橡胶木(*H. brasiliensis*),含水率 5%,尺寸为 50 mm(L)×20 mm(T)×5 mm(R),采自海南省三亚市。

试验用菌:青霉菌(*Penicillium* sp.),子囊菌亚门,青霉属青霉菌,来自西北农林科技大学资源环境学院试验中心。

试剂:孟加拉红培养基、无水乙醇、75%的酒精、无菌水、绝干溴化钾(KBr)试剂(分析纯)、丙酮溶液、荧光素双醋酸盐(FDA)试剂等。

1.2 试验设备

HZ-2004A 型可程序恒温恒湿试验机,LDZM-80KCS-II 型立式压力蒸汽灭菌器,BBS-SDC 型无菌操作台,101-1AB 型电热鼓风干燥箱,SDV30 循环水式真空机组,JP-350A-8 型万能高速粉碎机,NICOLET FTIR IS10 傅里叶变换红外光谱仪,TGA/DSC3+热重分析仪,DVS-100T 型动态水蒸气吸附分析仪等。

1.3 试验方法

1.3.1 霉变橡胶木试件的制备 依据 GB/T 18261—2013《防霉剂对木材霉菌及变色菌防止效力的试验方法》对橡胶木试件进行接菌培养,共计 42 个培养皿,设置温度 25~28 ℃,相对湿度 85%,培养时长 30 d。

1.3.2 抽真空处理 将接种好青霉菌的橡胶木试件分为 7 组,每组 3 个进行真空处理,真空度 7 mm-Hg(933 Pa),温度 15 ℃,处理时长为 0、12、24、36、48、60、72 h,并设置未经任何处理的橡胶木试件为空白对照。

1.3.3 霉菌稀释计数 采用霉菌稀释计数法。分别配置 $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$ 和 $1:10^9$ 共 7 个体积分数梯度的菌悬液稀释溶液。选择这 7 个体积分数梯度的菌悬液溶液进行稀释计数。使用抑菌效率对真空抑制青霉菌的效果进行评价:

真空抑菌效率(%)=(未处理木材中青霉菌数—真空处理后木材中青霉菌数)/未处理的木材青霉菌数×100% (1)

1.3.4 傅里叶变化红外光谱分析 使用 KBr 压片法分别对空白对照(未接菌试件)、接菌-真空 0 h(真空处理时长 0 h)、接菌-真空 60 h(真空处理时长 60 h)试件进行红外光谱分析。取纯 KBr 粉末于 105 ℃下烘干去除多余水分后保存备用。取 1 mmg 橡胶木与 100 mg KBr 粉末置于玛瑙研钵内,在红外灯下充分研磨成细粉,转移至压片模具中,压力设置 10 MPa,加压时间 60 s,即得一透明压片,在 32 cm⁻¹ 分辨率下扫描 64 次,获得红外光谱图。

1.3.5 热重分析 采用 N₂ 作为保护气体,设置气流速度 50 mL·s⁻¹,反应温度 30~600 ℃,升温速率 10 ℃·min⁻¹,每次取 10 mg 200 目筛的橡胶木粉进行热解试验。

1.3.6 动态水蒸气吸附分析仪分析 从空白对照、接菌-真空 0 h、接菌-真空 60 h 试件表面取少量样品作为试验材料。称取少量样品放入动态水蒸气吸附分析仪的样品盘上,设置温度 25 ℃,相对湿度 0~90%,相对湿度梯度 10%。每隔 1 min 用高精度天平测定样品的质量,天平精度 10⁻⁴ g。在一定的相对湿度下,木材的平衡含水率(equilibrium moisture content, EMC, 公式中用 E_{MC} 表示)为:

$$E_{MC} = \frac{w - w_o}{w_o} \times 100\% \quad (2)$$

式中: E_{MC} 为样品平衡含水率,%; w 为某一相对湿度下样品的重量,g; w_o 为样品的绝干重量,g。

动态水蒸气吸附分析仪可以得到相对湿度 0~90%共 10 个点的平衡含水率,使用 Origin 软件绘制吸湿解吸曲线图。

2 结果与分析

2.1 真空处理抑菌效率分析

真空处理接菌橡胶木小于等于 24 h 时,抑菌效

率呈直线上升(表 1)。处理时间大于 24 h 时,抑菌效率增加量逐渐降低。处理 48 h 时,抑菌效率达到 99.79%,几乎没有青霉菌生长;处理 60 h,真空抑菌效率达到 99.99%;之后时长增加,抑菌效率不再变化,可视为青霉菌被全部杀死。分析可知,真空处

理对于青霉菌的生长有明显的抑制作用。由于青霉菌生长环境湿度大于 82%,温度 5~32℃,而随着真空处理时长增加,木材内部和青霉菌体内的氧气和水分被抽出,霉菌因缺水、缺氧被杀死^[13-14]。

表 1 每克木材中含有的霉菌数及其抑菌效率

Table 1 The number of molds per gram of wood and its bacteriostatic efficiency

真空处理时间/h	0	12	24	36	48	60	72
稀释倍数	108	108	107	106	105	103	103
青霉菌数	5.9×10^9	3.3×10^9	8.3×10^8	2×10^8	1.2×10^7	1.0×10^5	7.3×10^4
抑菌效率/%	0	44.07	85.93	96.61	99.79	99.99	99.99

2.2 傅里叶变换红外光谱分析

分析图 1 和表 2 可知,与空白对照组相比,接菌处理的橡胶木试件在 2 924 cm^{-1} 处甲基、亚甲基中的 C—H 的伸缩振动减弱,说明经过青霉菌处理的橡胶木试件纤维素有所降解。1 736 cm^{-1} 附近乙酰基和羧基上的 C=O 伸缩振动有所减弱,说明经过青霉菌处理的橡胶木试件中的半纤维素有所降解。经过真空处理后,半纤维素相对含量有所增加。1 049 cm^{-1} 附近的 C—O 伸缩振动和乙酰基中的烷氧键伸缩振动减弱,说明样品中的纤维素和半纤维素有所降解。经过青霉菌处理的橡胶木试件在 1 643 cm^{-1} 处木质素共轭羰基伸缩振动减弱,1 512 cm^{-1} 处苯环骨架振动减弱,1 254 cm^{-1} 处酚醚键伸缩振动减弱,说明木质素有所降解;3 422 cm^{-1} 附近的 O—H 伸缩振动峰尖锐程度增加,说明接菌后的橡胶木试件亲水基团增加,表面亲水性增加^[18-20]。根据红外结果分析可知,青霉菌能够降解橡胶木表面的纤维素、半纤维素和木质素(三大素),增强表面亲水性。但经过 60 h 真空处理,橡胶木中的青霉菌被杀死,青霉菌分解产生的 CO_2 和单糖类物质被抽出,三大素相对含量又有所增加。

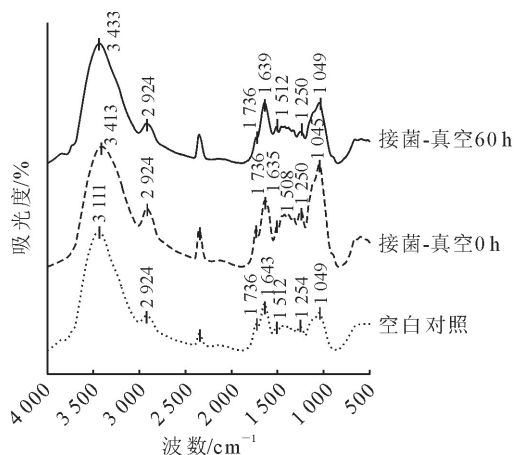


图 1 不同处理条件橡胶木样品红外光谱

Fig. 1 FTIR spectra of rubber wood samples under different treatment conditions

2.3 热重分析

从图 2 可知,橡胶木试件在 250℃ 开始发生热解,直到 370℃ 后反应才大致结束,反应过程大概分为 3 个阶段:

30~250℃,随着温度的上升,橡胶木试件内水分逐渐蒸发,少量半纤维素发生降解。250~370℃,剩余半纤维素(220~270℃)、纤维素(250~320℃)和木质素(280~400℃)热解速率加快,失重率高达 60% 以上,其中,接菌橡胶木试件降解速率明显加快,最大反应速率对应的温度降低了 17.5℃。真空处理 60 h 的试件降解反应速率介于两者之间,但降解反应温度提前约 20℃。由于青霉菌的作用,橡胶木试件的纤维素、半纤维素和木质素被降解,热解反应更易发生。

370℃ 之后,3 种试样 TG 曲线随温度升高变化趋于平缓,DTG 曲线热解速率接近于 0,热解炭化后的残余物为少量固体炭化物和灰分。从 TG 曲线看,经过接菌的 2 个试件在 350℃ 最早进入热解炭化阶段,未接菌处理试件在 374℃ 进入炭化阶段,说明青霉菌感染过的橡胶木更易炭化,其热稳定性降低,其中经过真空处理的接菌试件热稳定性最低。

2.4 橡胶木的吸湿解吸特性分析

由图 3 可见,在 25℃ 下,随着环境相对湿度逐渐增大,橡胶木试件的吸湿和解吸曲线均呈现上升趋势,并且相对湿度对橡胶木试件平衡含水率的影响是不均衡的。橡胶木的吸湿等温线的形状均呈“S”形,解吸等温线近于直线。当相对湿度小于 50% 时,橡胶木试件的吸湿等温线缓慢上升;当相对湿度大于 50% 时,其吸湿等温线上升加快。对比空白对照,经过青霉菌处理的橡胶木吸湿解吸性明显增加,滞后现象减弱,这可能与橡胶木经青霉菌分解后,一部分纤维素和半纤维素被分解,游离羟基增加,吸湿性增加有关,这与 2.2 中橡胶木经青霉菌处理后亲水性官能团增加结果一致。加之,由于青霉菌的作用使橡胶木内部微毛细管系统受到破坏,也

会增加其解吸性。虽然经过真空处理 60 h 后的橡胶木青霉菌生长被抑制,但是青霉菌分解产生的小分子物质被抽出,导致其孔隙率增加,使这一性能又有所增加。

表 2 不同处理条件橡胶木样品红外光谱特征吸收峰及其官能团归属

空白对照		接菌-真空 0 h		接菌-真空 60 h		官能团归属	
最大吸收波数 /cm ⁻¹	百分透光度 /%	最大吸收波数 /cm ⁻¹	百分透光度 /%	最大吸收波数 /cm ⁻¹	百分透光度 /%		
3 444	100	3 413	98.34	3 433	100	O—H 伸缩振动	木质素
2 924	29.06	2 924	48.73	2 924	33.29	甲基、亚甲基中的 C—H 伸缩振动	纤维素
1 736	22.12	1 736	31.24	1 736	21.33	C=O 伸缩振动,乙酰基和羧基	半纤维素
1 643	39.44	1 635	55.21	1 639	50.72	C=O 伸缩,芳香族醛、酮结构	木质素
1 512	21.09	1 508	33.51	1 512	30.25	芳香族骨架振动	
1 254	20.16	1 250	46.61	1 250	26.32	酚醚键 C—O—C 伸缩振动	木质素
1 049	31.44	1 045	85.14	1 049	50.20	C—O 伸缩振动;乙酰基中的烷氧键伸缩振动	纤维素和半纤维素

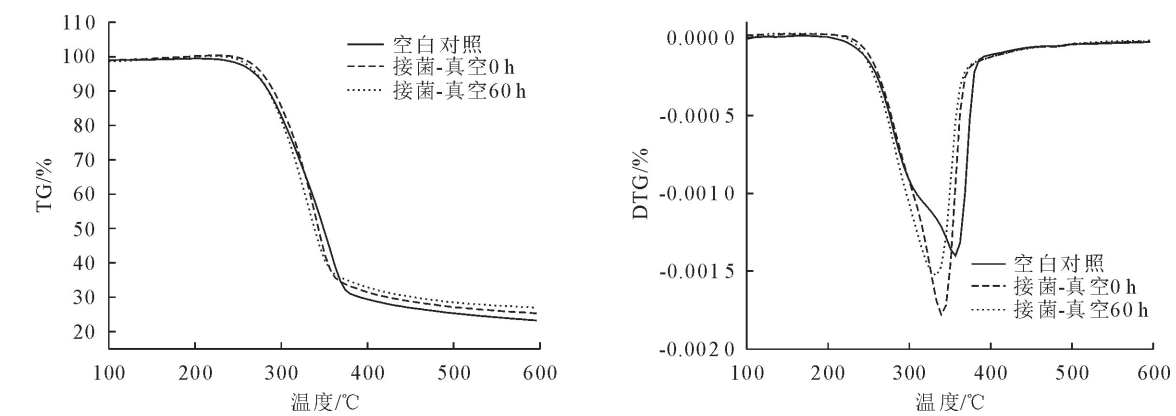


图 2 橡胶木热解 TG/DTG 曲线
Fig. 2 TG and DTG curves of rubber wood

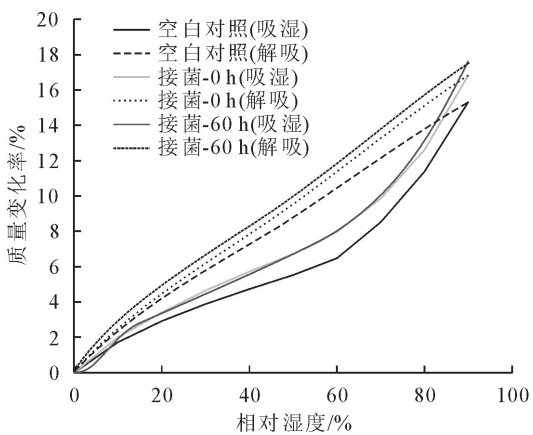


图 3 不同处理条件下橡胶木的吸湿解吸情况
Fig. 3 Sorption and desorption of rubber wood under different treatment conditions

3 结论

使用 7 mmHg 绝对真空对橡胶木上生长的霉菌进行处理,研究发现真空处理可明显抑制青霉菌的生长,时间越长,抑制效果越好。60 h 真空处理对青霉菌的抑制效率可高达 99.99%。

青霉菌能降解木材,使其表面的纤维素、半纤维素和木质素含量增大,增加木材表面亲水性,增强木材吸湿解吸性能。真空处理后,木材表面三大素含量愈加增大,吸湿解吸性进一步增强。

木材经青霉菌侵染后,热降解的最大速率对应的反应温度降低,热稳定性能降低;真空处理 60 h 后,该结果更趋显著,其热稳定性能进一步降低,木材更易发生碳化。

参考文献:

[1] REINPRECHT L. Wood deterioration, protection and maintenance[M]. West Sussex, United Kingdom: John Wiley & Sons, 2016, 65-66.

[2] PEPIN S, BLANCHET P, LANDRY V. Performances of white pine and white spruce treated with organic fungicides using an aqueous buffered amine oxide preservation system[J]. Biore-sources, 2019, 14(1): 264-288.

[3] GARDNER D J, TASCIOGLU C, WÅLINDER M E P. Wood composite protection[J]. Acs Symposium, 2003, 845: 399-419.

[4] SALEM M Z M, ZIDAN Y E, EL HADIDI N M N, et al. Eval-uation of usage three natural extracts applied to three commer-

- cial wood species against five common molds[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 110: 206-226.
- [5] 胡拉, 杨章旗, 秦理哲, 等. 植物精油对木材霉变菌的抑菌效力研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2020, 40(1): 144-149.
HU L, YANG Z Q, QIN L Z, *et al.* Antifungal efficacy of plant essential oils against wood mould and stain fungi[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2020, 40(1): 144-149. (in Chinese)
- [6] 齐文玉, 李清芸, 陈孝丑, 等. 黄枝润楠木材提取物抑菌效果的研究[J]. 西北林学院学报, 2018, 33(1): 184-187.
QI W Y, LI Q Y, CHEN X C, *et al.* Antifungal activities of the extracts from machilus versicolora wood against wood-decaying fungi[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(1): 184-187. (in Chinese)
- [7] 陈军, 高国平, 张伟, 等. 6 种杀菌剂及其混配剂对香栓孔菌的室内毒力测定[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(1): 129-131.
CHEN J, GAO G P, ZHANG W, *et al.* Toxicity test of six fungicides and their mixtures to trametetes suaveolens in Laboratory[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2012, 27(1): 129-131. (in Chinese)
- [8] 李满林, 魏太保, 李荣华, 等. 1,3,4-噻二唑-2,5-二硫乙酰芳胺的合成及其抑菌性能研究[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(1): 147-150.
LI M L, WEI T B, LI R H, *et al.* Synthesis of 1,3,4-Thiadiazole-yl-2,5-dithiol acetyl arylamines and their antibacterial activities[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(1): 147-150. (in Chinese)
- [9] 方森苗, 袁静怡, 刘守佳, 等. 芦丁及芦丁金属配合物对木材霉菌的抑菌性初探[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(5): 218-224.
FANG S M, YUAN J Y, LIU S J, *et al.* Mold resistant activities of rutin and rutin metal complexes[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(5): 218-224. (in Chinese)
- [10] 曹娜, 祝文博, 黄麒, 等. 2 种拮抗云杉梢枯病细菌的抑菌活性研究[J]. 森林工程, 2021, 37(3): 72-78.
CAO N, ZHU W B, HUANG Q, *et al.* Antibacterial activity study of two antagonistic bacteria of *Dothiorella gregaria* [J]. Forest Engineering, 2021, 37(3): 72-78. (in Chinese)
- [11] 郭映雪, 孙墨珑. 核桃楸外果皮三萜类物质的提取及抑菌活性[J]. 森林工程, 2020, 36(3): 37-43.
GUO Y X, SUN M L. Extraction of triterpenoids from the green peel of *Juglans mandshurica* maxim and its antibacterial activity[J]. Forest Engineering, 2020, 36(3): 37-43. (in Chinese)
- [12] LANSING M P, JHON P H, DONALD A K. 微生物学[M]. 沈萍(译). 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 129.
- [13] VIITANEN H, RITSCHKOFF A C. Mould growth in pine and spruce sapwood in relation to air humidity and temperature [J]. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Products, 1991, 221: 49.
- [14] AYERST G. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi[J]. Journal of Stored Products Research, 1969, 5(2): 127-141.
- [15] 陈梦曦, 李欣洋, 代黄梅, 等. 真空臭氧消毒机对新鲜果蔬杀菌效果的实验研究[J]. 中国消毒学杂志, 2019, 36(3): 164-166.
CHEN M X, LI X Y, DAI H M. Experimental study on germicidal efficacy of fresh fruits and vegetables by vacuum ozone disinfectant[J]. Chinese Journal of Disinfection, 2019, 36(3): 164-166. (in Chinese)
- [16] 史智佳, 乔晓玲, 陈文华, 等. 真空-蒸汽-真空食品表面杀菌技术[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 339-341.
SHI Z J, QIAO X L, CHEN W H, *et al.* Vacuum-steam-vacuum(VSV) surface pasteurization technique of solid food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(1): 339-341. (in Chinese)
- [17] 方玉萍. 脉动真空压力蒸汽灭菌器灭菌效果监测[J]. 中国消毒学杂志, 2014, 31(5): 513-514.
- [18] 翁诗甫. 傅里叶变换红外分析[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2010: 291-325.
- [19] 李坚. 木材波谱学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 105-110.
- [20] 李晓文, 李彤彤, 李冠君, 等. 基于 FTIR 和 UV-Vis 光谱表征蒸汽介质高温热改性对橡胶木颜色的影响[J]. 热带作物学报, 2019, 40(4): 746-752.
LI X W, LI T T, LI G J, *et al.* The characterization of effects of thermal modification on rubber wood color change based on FTIR and UV-Vis Analysis[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(4): 746-752. (in Chinese)