

文章编号:1005-1538(2010)01-0060-04

抗菌剂壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌 对冻干前处理古木微生物作用的研究

李东风¹, 卢衡², 周 旻³

(1. 浙江省微生物研究所, 浙江杭州 310012; 2. 浙江省博物馆, 浙江杭州 310007; 3. 中国丝绸博物馆, 浙江杭州 310002)

摘要: 浙江余姚河姆渡出土干栏式建筑木构件, 在采用聚乙二醇(PEG)置换填充后存在着微生物侵害问题, 为避免采用合成抗菌防腐防霉剂带来的环境污染问题, 采用壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌对古木构件进行抗菌试验。采用经典方法对侵蚀微生物进行分离、鉴定, 并对壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌的有效抑菌浓度进行研究。侵蚀软性材的细菌主要有铜绿假单胞菌、摩根摩根氏菌和气味黄杆菌, 霉菌主要有木素木霉、土曲霉、灰绿曲霉、产黄青霉和无孢目丝核菌; 侵蚀硬质材的细菌主要有鲁氏不动杆菌, 霉菌主要有康宁木霉、烂木瓶孢霉、产黄青霉、展青霉、考氏头孢霉、细交链孢霉和无孢目丝核菌等。壳寡糖、儿茶素与纳米氧化锌的有效抑菌浓度分别为 2.5%、10.0% 和 5.0%。10% 儿茶素对 4 种主要细菌的抑菌能力大于 2.5% 壳寡糖和 5.0% 纳米氧化锌; 2.5% 壳寡糖对 8 种丝状真菌的抑菌能力大于 10% 儿茶素和 5.0% 纳米氧化锌。鉴于壳寡糖、儿茶素、纳米氧化锌对古木材微生物的选择性作用, 考虑到危害河姆渡木材的微生物主要是霉菌, 因此将 2.5% 壳寡糖作为首选的环保型生物抗菌剂。

关键词: 河姆渡木材; 微生物鉴定; 壳寡糖; 儿茶素; 纳米氧化锌; 环保抗菌; 抑菌效果

中图分类号: K876.6 **文献标识码:** A

0 引言

浙江余姚河姆渡遗址第三、四文化层的绝对年代在距今 6000~7000 年^[1], 为我国长江流域最早的新石器时期遗址之一。遗址出土的干栏式建筑木构件相当丰富, 极其珍贵。这些木构件在采用聚乙二醇(PEG)置换填充后存在着微生物侵害问题, 给文物的长期保存带来困难。以往通常采用合成抗菌剂防腐防霉^[2], 在消除有害微生物的同时也带来了环境污染问题。本项研究选用的壳寡糖是甲壳素的主要成分, 来源于甲壳类动物(蟹、虾等)及昆虫外壳中的物质, 在蘑菇、贝类、藻类、软骨动物及真菌类细胞壁中也广泛存在。自然界每年由生物合成的甲壳质产量仅次于植物纤维, 是人类继发现淀粉、纤维素之后在地球上所发现的第三大生物资源。甲壳素(Chitin)又称“几丁质”, 其化学名称为“聚 N-乙酰葡萄糖胺”, 基本结构单元与木材纤维素的基本结构单元十分相似, 均为 D-葡萄糖的构架, 如果将甲壳素糖残基上的乙酰胺基(CH₃CONH-)换成羟基(OH-), 则是纤维素^[3], 壳聚糖是甲壳素的 N-乙酰基产物, 有实用价值的工业品壳聚糖的脱乙酰度必须在 70% 以上, 基本结构单元在 2 个到 20 个,

相对分子质量低于 10000 的低聚壳聚糖即谓壳寡糖。木材组织中含有类似茶多酚这样的天然多酚类物质, 茶多酚是各种茶叶中都含有的水溶性浸出物, 许多生理和药理作用表明它对人体无毒, 无副作用。儿茶素是茶多酚的主要成分, 属黄烷醇类, 约占多酚类总量的 60%~80%, 主要有 EGCG、ECG、EC、DL-C、GCG、EGC 等单体组成。纳米氧化锌是目前正在开发和利用的新一代纳米金属木材抗菌剂, 属于离子溶出接触型无机杀菌剂的一种。相关研究表明壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌具有良好的抗菌性能^[4-8], 且这三种材料在 PEG 水溶液中的溶解性较好, 适合在以 PEG 作为饱水木材尺寸稳定剂时的抗菌性能添加剂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1) 古木试样。硬质古木材(含水率在 315%~345%), 鉴定材中的榆属、黄连木属, 编号: YM-3, YM-5; 软性古木材(含水率在 540%~590%), 鉴定材中的樟属、女真属、山矾属及松属, 编号: YM-1; YM-2; YM-4; YM-6。

2) 尺寸稳定剂。聚乙二醇 2000 (Polyethylene

收稿日期:2009-08-12; 修回日期:2009-09-14

作者简介:李东风(1958—), 女, 1982 年毕业于浙江大学生物系, E-mail: lidongfeng58@gmail.com

glycol 2000,以下简称 PEG 2000)。

3) 抗菌剂。壳寡糖(Chitooligo Saccharide):平均分子量 2000,脱乙酰度 94.2%,杭州几丁生物技术有限公司生产。儿茶素(Catechins):EGCG 63.2%,ECG14.6%,EC8.5%,杭州禾田生物有限公司生产。纳米氧化锌(Nanosize zinc oxide):粒径:DZZn-01 ≤ 20nm;DZZn-02 ≤ 50nm,杭州万景新材料有限公司生产。

4) 培养基。营养肉汁琼脂培养基(NA);马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)^[9]。

1.2 试验设备

(1) 电热恒温水浴槽 DK-S25(室温~95℃);(2) 医用净化工作台 YJ-1300A 净化等级 100 级;(3) 生化培养箱 LRH-250A 15~40℃ ± 1℃;(4) 生物显微镜 Olympus BH-2 1500 ×。

1.3 试验方法

1.3.1 试样的前处理 所有的木材试样均按冷冻脱水前处理方法在 45~60℃ 恒温浴内用 20% 的 PEG2000 浸渍,直至浓度上升至 50%,用重量法及粘度法测定木材中与溶液的 PEG 浓度,直至木材内外达到平衡。在温度 25~32℃,相对湿度 70%~85% 的自然环境中置放 30d。

1.3.2 侵蚀菌的分离纯化 软性古木材:在无菌状态下,将试样表面除去,取中心部分,切碎,称重,置于定量无菌生理盐水中,30℃ 恒温振荡 30min,10 倍稀释,采用涂布法,取 0.1mL 分别涂布于 NA 和 PDA 平板上。

硬质古木材:参考影印接种法,在无菌状态下,以试样的不同平面分别直接影印在 NA 和 PDA 平板上,待菌长成后,再以划线法作进一步分离纯化。

接种的 NA 平板置于 32℃ 培养 24~48h,PDA 平板置于 28℃ 培养 3~5d,根据菌落培养的形态特征的不同,选取单菌落接入试管斜面,作鉴定备用。

1.3.3 侵蚀菌的分类鉴定 细菌的鉴定:根据菌落培养的形态特征(形状、大小、表面、透明度、边缘性状等)、显微特征及生理生化特性(发酵类型、生物

酶特性、碳源的利用等)进行鉴定。

丝状真菌的鉴定:采用点植法和载玻片培养法,根据显微镜下观察菌丝形状、孢子梗特征、孢子着生方式和孢子形态等,并结合菌落生长速度、菌落和培养基颜色变化、表面质地、渗出物等进行鉴定。

1.3.4 抑菌试验步骤

二种试验步骤如下:

(1) 摇瓶振荡-涂布试验。在营养肉汁培养液中添加 PEG 2000(终浓度为 20%),并分别加入不同浓度的壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌,以确定这三种抗菌剂的最低抑菌浓度,并以不加抗菌剂的培养液为对照,分别接种一定量经活化的试验菌,32℃,摇瓶振荡培养 24h,以 0.1mL 涂布于 NA 平板,32℃,培养 24~48h,观察生长情况。

(2) 抑菌圈试验。菌液含菌量在 $10^5 \sim 10^6$ 个/mL,培养基 10mL/皿($\Phi 9$ cm),接种量为 0.1mL/皿,培养温度和时间:细菌为 32℃,24~48h;丝状真菌为 28℃,3~5d。抑菌效果的强弱,依据抑菌圈值的大小确定,抑菌圈值越大表示抑菌效果越强,抑菌圈值小于 1cm 即无抑菌效果^[10]。

2 试验结果

2.1 侵蚀菌的鉴定结果

古木材侵蚀菌的鉴定结果见表 1。从表 1 可见,硬质古木材侵蚀菌主要为丝状真菌,有烂木瓶孢霉(*Phialophora richardsial*)、考氏头孢霉(*Cephalosporium costantinii*)、细交链孢霉(*Alternaria tenuis*)、链毛孢属(*Streptothrix*)等;侵蚀细菌为鲁氏不动杆菌(*Presumptive Acinetibacter lwoffii*)。软性古木材的侵蚀细菌主要是铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),其次为摩根摩根氏菌(*Morganella morganii*)和气味黄杆菌(*Flavabacterium oboratum*);丝状真菌主要有土曲霉(*Aspergillus terreus*)、灰绿曲霉(*Aspergillus glaucus*)、产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)等,另有一些为木素木霉(*Trichoderma lignorum*)。而立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)在硬质古木材和软性古木材中都存在,且频次较高,6 个样本有。

表 1 古木材侵蚀菌的鉴定结果

Table 1 Ancient wood erosion bacteria identification results

古木材编号	细菌	丝状真菌
硬质古木材 YM-3	鲁氏不动杆菌(<i>Presumptive Acinetibacter lwoffii</i>)	立枯丝核菌(<i>Rhizoctonia solani</i>)
		链毛孢属(<i>Streptothrix</i>)
YM-5	鲁氏不动杆菌(<i>Presumptive Acinetibacter lwoffii</i>)	细交链孢霉(<i>Alternaria tenuis</i>)
		展青霉(<i>Penicillium Patulum</i>)
		产黄青霉(<i>Penicillium chrysogenum</i>)
		康宁木霉(<i>Trichoderma koningii</i>)

(续表 1)

古木材编号		细 菌	丝状真菌
硬质古木材	YM-5	鲁氏不动杆菌 (<i>Presumptive Acinetibacter lwoffii</i>)	考氏头孢霉 (<i>Cephalosporium costantinii</i>) 烂木瓶孢霉 (<i>Phialophora richardsii</i>) 立枯丝核菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>)
	YM-1 (木屑深棕色)	铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) 摩根摩根氏菌 (<i>Morganella morganii</i>)	立枯丝核菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>) 木素木霉 (<i>Trichoderma lignorum</i>)
软性古木材	YM-2 (木屑咖啡色)	铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	立枯丝核菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>) 产黄青霉 (<i>Penicillium chrysogenum</i>)
	YM-4 (木屑黑色)	铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	灰绿曲霉 (<i>Aspergillus glaucus</i>) 土曲霉 (<i>Aspergillus terreus</i>) 木素木霉 (<i>Trichoderma lignorum</i>)
	YM-4 (外色炭黑,木屑咖啡色)	铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) 气味黄杆菌 (<i>Flavobacterium oboratum</i>)	立枯丝核菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>) 产黄青霉 (<i>Penicillium chrysogenum</i>)

2.2 抗菌剂的抑菌效果

抗菌剂对古木侵入细菌的抑菌效果采用抑菌圈试验和摇瓶振荡-涂布试验;对侵入真菌的抑菌效果试验采用抑菌圈试验。试验起始浓度定位于三种抗菌剂对鉴定古木细菌或真菌的 1 种以上初步显效;上限浓度为对鉴定古木细菌或真菌全部有效。

2.2.1 对侵蚀细菌的抑菌效果 抑菌圈试验结果显示:0.5%壳寡糖和 1.0%纳米氧化锌对 4 种侵蚀河姆渡古木材的细菌基本无抑菌效果,2.0%儿茶素

抑菌效果不明显;随着抗菌剂浓度的增加,抑菌效果显现:当壳寡糖浓度达到 2.5%、儿茶素浓度达到 10.0%、纳米氧化锌浓度达到 5.0%时,抑菌效果显著,尤以 10.0%儿茶素抑菌效果最佳(表 2)。

摇瓶振荡-涂布试验结果(表 3),进一步明确定位了三种抗菌剂对 4 种侵蚀细菌不同的抑菌效果:10.0%儿茶素对 4 种菌均具较好的抑菌效果;2.5%壳寡糖对鲁氏不动杆菌和摩根摩根氏菌抑菌效果较好;5.0%纳米氧化锌对鲁氏不动杆菌抑菌效果明显。

表 2 抗菌剂对细菌侵蚀菌的抑菌效果 A(抑菌圈试验)

Table 2 Antimicrobial agents' inhibition effect on erosive bacteria A (inhibition zone test) (cm)

侵蚀菌名称	壳寡糖			儿茶素			纳米氧化锌		
	0.5%	1.5%	2.5%	2.0%	6.0%	10.0%	1.0%	3.0%	5.0%
鲁氏不动杆菌 (<i>Presumptive Acinetibacter lwoffii</i>)	1.0	1.4	2.9	1.2	1.5	4.0	1.0	1.3	2.5
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	0.7	1.0	1.7	1.1	1.1	4.0	0.9	1.1	2.0
摩根摩根氏菌 (<i>Morganella morganii</i>)	0.8	1.0	2.3	1.1	1.3	4.0	0.9	1.0	2.0
气味黄杆菌 (<i>Flavobacterium oboratum</i>)	0.7	0.9	1.6	1.0	1.0	3.0	0.8	0.9	1.9

表 3 抗菌剂对细菌侵蚀菌的抑菌效果 B(摇瓶振荡-涂布试验)

Table 3 Antimicrobial agents' inhibition effect on erosive bacteria B (shake flask oscillation - coating test) (cm)

侵蚀菌名称	对照	壳寡糖			儿茶素			纳米氧化锌		
		0.5%	1.5%	2.5%	2.0%	6.0%	10.0%	1.0%	3.0%	5.0%
鲁氏不动杆菌 (<i>Presumptive Acinetibacter lwoffii</i>)	+	+	±	-	+	±	-	+	+	-
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	+	+	+	±	+	±	-	+	+	±
摩根摩根氏菌 (<i>Morganella morganii</i>)	+	+	+	-	+	±	-	+	+	±
气味黄杆菌 (<i>Flavobacterium oboratum</i>)	+	+	+	±	+	+	-	+	+	±

注:“+”表示含菌量在 $1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5$ 之间;“±”表示含菌量在 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ 之间;“-”表示含菌量在 1.0×10^3 以下。

2.2.2 对丝状真菌的抑菌效果 对河姆渡鉴定古木材的丝状真菌的抑菌效果见表 4。从表 4 可看出,0.5%壳寡糖、2.0%儿茶素、1.0%纳米氧化锌对 9 种丝状真菌侵蚀菌均无抑菌效果,随着抗菌剂浓度的增加,当壳寡糖浓度达到 2.5%时,对 9

种丝状真菌显示出较好的抑菌效果;纳米氧化锌浓度达到 5.0%时,只对灰绿曲霉、土曲霉、产黄青霉、链毛孢属有抑菌效果;儿茶素浓度达到 10.0%时,仅对链毛孢属有抑菌效果,而对其余 8 种菌效果均不明显。

表 4 抗菌剂对丝状真菌侵蚀菌的抑菌效果(抑菌圈试验)

Table 4 Antimicrobial agents' inhibition effect on erosive filamentous fungi (inhibition zone test) (cm)

侵蚀菌名称	壳寡糖			儿茶素			纳米氧化锌		
	0.5%	1.5%	2.5%	2.0%	6.0%	10.0%	1.0%	3.0%	5.0%
灰绿曲霉(<i>Aspergillus glaucus</i>)	无效	无效	1.7	无效	无效	无效	无效	无效	2.3
土曲霉(<i>Aspergillus terreus</i>)	无效	无效	1.5	无效	无效	无效	无效	无效	1.4
木素木霉(<i>Trichoderma lignorum</i>)	无效	无效	2.0	无效	无效	无效	无效	无效	不明显
细交链孢霉(<i>Alternaria tenuis</i>)	无效	无效	2.0	无效	无效	1.0(遮盖)	无效	无效	1.0(遮盖)
产黄青霉(<i>Penicillium chrysogenum</i>)	无效	无效	1.4	无效	无效	1.0(遮盖)	无效	无效	1.4
展青霉(<i>Penicillium Patulum</i>)	无效	无效	1.4	无效	无效	1.0(遮盖)	无效	无效	无效
立枯丝核菌(<i>Rhizoctonia solani</i>)	无效	无效	基本不长	无效	无效	无效	无效	无效	基本不长
烂木瓶孢霉(<i>Phialophora richardsial</i>)	无效	无效	2.0	无效	无效	1.0(遮盖)	无效	无效	无效
链毛孢属(<i>Streptothrix</i>)	无效	无效	2.5	无效	无效	2.5	无效	无效	1.3

2.3 试验结果

试验结果表明,对古木材侵蚀细菌的抗菌能力排序为:10.0%儿茶素 > 2.5%壳寡糖 > 5.0%纳米氧化锌;对丝状真菌土曲霉、细交链孢霉、产黄青霉、木素木霉和立枯丝核菌而言,其抗菌能力排序为:2.5%壳寡糖 > 5.0%纳米氧化锌 > 10.0%儿茶素;对烂木瓶孢霉、展青霉和链毛孢属而言,其抗菌能力排序为:2.5%壳寡糖 > 10.0%儿茶素 > 5.0%纳米氧化锌;对灰绿青霉而言,其抗菌能力排序为:5.0%纳米氧化锌 > 2.5%壳寡糖 > 10.0%儿茶素。

3 讨论

1) 杀菌效果。壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌均对微生物有选择性作用,对于用 50% PEG2000 处理的河姆渡木材,2.5%的壳寡糖能抑杀侵入木材的全部 9 种霉菌(丝状真菌);10%的儿茶素和 5.0%纳米氧化锌对 4 种侵入细菌均有效,尤以 10%儿茶素效果显著。

2) 杀菌机理。壳寡糖取自甲壳素,是一种天然高分子聚合物,属于氨基多糖,其单体以 β-1,4 糖苷键链接而成,与木材纤维素分子结构相似,在抑菌的同时可起到补充修复的作用,比较适合木质文物丝状真菌的抗菌处理。壳寡糖的抗菌机理众说不一,比较认同的观点是其作用于 DNA 解旋酶和 RNA 聚合酶,从而阻碍 DNA 向 RNA 的转录,影响微生物的生长繁殖,达到抑菌作用。儿茶素是一种大分子多酚类化合物,主要取自于茶科植物叶片。

儿茶素对蛋白质具有亲和性,能与细菌中酶蛋白成分结合,引起其细胞膜结构的改变,进而使之丧失生理功能,达到抑菌作用,但改变膜结构的特性具有选择性。具有广谱抗菌性能的纳米氧化锌,其金属锌氧化物在一定湿度条件下,产生、释放抑制丝状真菌的锌离子,锌离子的尺寸大小对微生物的抑制作用关系很大,尺寸愈小,比表面积愈大,氧化作用愈强,粒径在 100nm ~ 200nm 的锌粒子对破坏细菌的生物学功能最为有效,

3) 环保。鉴于壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌对古木材微生物的选择性作用,考虑到危害河姆渡木材的微生物主要是霉菌(本次未发现大型真菌),因此将壳寡糖作为首选的生物抗菌剂。长期以来应用于木质文物的有机合成抗菌剂大多存在一定的毒性;而壳寡糖、儿茶素等无此缺点,是绿色环保型生物抗菌剂,有利于环境安全及人身健康,符合当今可持续性发展的理念。

4 结论

木材的微生物危害主要由真菌引发的各种损害,其中霉菌主要侵害木材的边材,其危害有三方面:首先是霉菌寄生于木材边材的射线薄壁细胞和轴向薄壁细胞中,并以这些细胞或细胞中的营养物质生存和繁殖。随着菌丝体向四周蔓延扩展,边材的细胞组织受到损害;其次是霉菌在分解木材细胞组织时会产生醋酸、蚁酸等有机酸,使木材局部酸性增加,促进木材组织进一步损害;最后是霉菌在孳生

过程中留下各种色素、菌丝体等污染木材尤其是木质文物的外观。对于检出的四种细菌对木材的影响则很小,通常不在木质文物保护的考虑范围,细菌对木材的影响有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 林华东. 河姆渡文化初探[M]. 杭州:浙江人民出版社,1992:17.
LI Hua - dong. A brief investigation to Hemudu culture[M]. Hangzhou: Zhejiang People Publishing, 1992:17.
- [2] 中国文化遗产研究院编. 中国文物保护与修复技术[M]. 北京:科学出版社,2009:623.
Research Institute of Chinese Cultural Heritage. Chinese heritage conservation and restoration techniques [M]. Beijing: Science Press, 2009:623.
- [3] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京:化学工业出版社,2007:2.
JIANG Ting - da. Chitosan [M]. Beijing: Chemical Industry Publishing, 2007:2.
- [4] EL Ghaouth A. Antifungi activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits [J]. Phytopathology, 1992, **82**(4): 398 - 402.
- [5] 王 阳. 壳聚糖衍生物抗菌剂的应用[J]. 印染, 2006, **21**:38 - 41.
WANG Yang. Application of chitosan derivatives antimicrobial agent[J]. Print Dyed, 2006, **21**:38 - 41.
- [6] Fukai K, Ishigami T, Hara Y. Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacteria[J]. Agr Biol Chem, 1991, **55**(7):1895 - 1897.
- [7] Sakanaka S, Aizawa M, Kim M, et al. Inhibitory effects of Green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, Porphyromona sgingivalis[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1996, **60**(5):745 - 749.
- [8] 郑兴国. 新型纳米杀菌剂在木材防腐中的应用[J]. 林业机构与木工设备, 2008, **36**(7):9 - 11.
ZHENG Xing - guo. Application of new nano - biocide in wood preservation[J]. Forest Mach Woodwork Equip, 2008, **36**(7):9 - 11.
- [9] 周宇光. 菌种目录[M]. 北京:中国农业科技出版社,1997:230.
ZHOU Yu - guang. Strain list [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Publishing, 1997:230.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[M]. 北京:卫生部卫生法制与监督司编印,2008:84.
The People's Republic of China Ministry of Health. Technical standard for disinfection[M]. Beijing: Law and Supervision Department of Health Ministry Published, 2008:84.

Research on the antimicrobial effect of catechine, chitooligo saccharide and zinc oxide nanoparticles on freezing - dehydration pre - treated ancient timber

LI Dong - feng¹, LU Heng², ZHOU Yang³

(1. Zhejiang Provincial Institute of Microbiology Research, Hangzhou 310012, China;

2. Zhejiang Museum, Hangzhou 310007, China;

3. China National Silk Museum, Hangzhou 310002, China)

Abstract: An architectural wooden bar unearthed in Hemudu, Yuyao, Zhejiang Province has suffered from disintegration caused by micro - organisms after earlier replacement and filling with polyethylene glycol (PEG). The antimicrobial effects of chitooligo saccharide, catechin and zinc oxide nanoparticles on those ancient wooden structures were tested, with the aim of avoiding the environmental issue resulting from synthetic preservatives. The classical method of separation and identification of destructive microbes was used, and the effective antimicrobial concentrations of chitooligo saccharide, catechin, and zinc oxide nanoparticles were investigated. The bacteria which damage ancient soft timber include *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii* and *Flavobacterium oboratum*. Fungi include mainly *Trichoderma lignorum*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium chrysogenum* and *Rhizoctonia solani*; The primary bacterium that damage ancient hard timber is *Presumptive Acinetibacter lwoffii*, fungi include *Trichoderma koningii*, *Phialophora richardsial*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium patulum*, *Cephalosporium costantinii*, *Alternaria tenuis* and *Rhizoctonia solani*. The respective effective antimicrobial concentrations of chitooligo saccharide, catechin, and zinc oxide nanoparticles are 2.5%, 10.0% and 5.0%. The effectiveness of 10% catechin's against the four main types of destructive bacteria is greater than that of 2.5% chitooligo saccharide and 5.0% zinc oxide nanoparticles; the inhibitory effect of 2.5% chitooligo saccharide toward eight kinds of filamentous fungi is greater than that of 10.0% catechin and 5.0% zinc oxide nanoparticles. Since chitooligo saccharide, catechin and zinc oxide nanoparticles show selective inhibitory effects against ancient timber microbes, and taking into account that the main harmful microbes to timber is fungi, 2.5% chitooligo saccharide is the preferred environment - friendly bio - antibacterial agent.

Key words: Hemudu - timber; Microbes identification; Catechine; Chitooligo saccharide; Zinc oxide nanoparticles; Environment - friendly antimicrobial; Antimicrobial effectiveness

(责任编辑 谢 燕)