

芦丁及其金属配合物对木材腐朽菌的抑菌性初探

毕振举, 钟杰, 闫丽

(西北农林科技大学林学院木材科学系, 陕西杨凌 712100)

摘要: 为开发新型木材防腐剂, 采用菌丝生长速率法, 研究天然黄酮类产物芦丁及其不同金属配合物对木材褐腐菌和白腐菌的抑制效果。结果表明: 芦丁及其金属配合物对两种腐朽菌均有一定的抑制作用, 且抑菌性随浓度升高逐渐增强。芦丁、芦丁-铜和芦丁-锌浓度在 6.66 mg/mL 时, 芦丁-镁和芦丁-锰在 9.99 mg/mL 时, 均可抑制两种腐朽菌的生长。芦丁、芦丁-铜和芦丁-锌可用于制备新型木材防腐剂。

关键词: 木材防腐; 芦丁; 芦丁金属配合物; 抑菌性

中图分类号: S782.33 文献标识码: A 文章编号: 1001-8654 (2018) 04-0014-04

Antifungal Activity of Rutin and Its Metal Complexes on Wood Decay Fungi

BI Zhen-ju, ZHONG Jie, YAN Li

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: To develop new wood preservatives, inhibition effects of rutin and its metal complexes (rutin-copper, rutin-zinc, rutin-manganese and rutin-magnesium) on brown-rot fungi (*Gloeophyllum trabeum*) and white decay fungi (*Coriolus versicolor*) were studied using the growth rate method.

Results indicated that rutin and its metal complexes had inhibition effects on the two decay fungi and that the antifungal activity increased with increased concentration. Rutin, rutin-copper and rutin-zinc could basically restrain growth of the two decay fungi at 6.66 mg/mL of concentration while rutin-manganese and rutin-magnesium substantially inhibited growth of the two decay fungi at 9.99 mg/mL of concentration. Rutin, rutin-copper and rutin-zinc could be used for preparing environmentally-friendly wood preservatives in the future.

Key words: wood preservative; rutin; rutin metal complex; antifungal activity

木材防腐是通过物理或化学手段处理木材, 使其免受腐朽菌、昆虫、海生钻孔动物等的侵害, 增强木材的耐久性。目前, 化学药剂防腐是较为普遍

的木材防腐方法, 其中水溶性防腐剂铜铬砷 (CCA) 防腐性能好、成本低, 广泛用于户外防腐木材处理, 但这类防腐剂含有铬和砷的重金属氧化物或盐, 对环境有诸多不利的影响, 2004 年开始逐步被美国、加拿大和欧盟等国家禁止和限制使用^[1]。因此, 研发环境友好且具有综合保护作用的木材防腐剂, 尤为迫切。

芦丁别名芸香苷, 为黄绿色或淡黄色针状晶体, 是一种无毒性的黄酮类化合物, 具有广泛的药理学活性^[2]。国内外研究表明, 由于芦丁分子具有完整的

收稿日期: 2017-11-21; 修改日期: 2018-06-05

基金项目: 杨凌示范区科技计划项目“魔芋加工剩余物制备木材生物防腐剂关键技术及处理材性能研究”(2016NY-37); 陕西省自然科学基金研究计划“魔芋加工剩余物抑制木材霉菌的有效成分提取关键技术与抑菌机理研究”(2017JM3031)。

作者简介: 毕振举(1994—), 男, 西北农林科技大学林学院硕士研究生。

责任作者: 闫丽, 女, 西北农林科技大学林学院副教授。

大 π 键共轭体系、合适的配位空间及强配位氧原子,其分子易与金属离子结合,形成结构稳定的芦丁金属配合物^[3]。并且芦丁与部分金属形成配合物后增强了药理学活性,具有很好的抗炎活性和抗菌活性^[4-5]。可与芦丁反应的金属元素有:铜、锌、镁、锰,毒性低,对环境无负面影响^[6];且芦丁与金属生成络合物后,还可提升金属和芦丁在水中的溶解度,是一种极具优势的抗菌剂。

鉴此,笔者采用菌丝生长速率法,研究了芦丁及其不同金属配合物在木材保护领域的应用,通过对木材腐朽菌抑菌性的测定,探索适合作为木材防腐剂主要成分的芦丁及其金属配合物,以期开发环境友好的新型木材防腐剂提供技术依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1) 试剂

主剂:芦丁($C_{27}H_{30}O_{16}$),无水碳酸钠(Na_2CO_3),一水合乙酸铜($Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$),乙酸锌($C_4H_{10}O_6Zn$),四水合乙酸镁($C_4H_6O_4Mg \cdot 4H_2O$),四水合乙酸锰($C_4H_6MnO_4 \cdot 4H_2O$);

助剂:无水乙醇(C_2H_6O),二甲亚砜(C_2H_6OS),冰醋酸(CH_3COOH)。

均为分析纯,外购。

2) 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),外购。

3) 菌种:褐腐菌(密粘褶菌 *Gloeophyllum trabeum*),菌种编号 CFCC86617;白腐菌(采绒革盖菌 *Coriolus versicolor*),菌种编号 CFCC5336,外购。

1.2 仪器与设备

DF-101S 集热式磁力加热搅拌器,101-4A 电热鼓风干燥箱,SHZ-DIII 循环水式真空泵,LDZM-80kcs 压力蒸汽灭菌锅,Nicolet is10 傅里叶变换红外光谱仪。

1.3 试验方法

1.3.1 芦丁金属配合物的制备

借鉴以往芦丁金属配合物合成方法的研究^[7-8],略作改进,制备芦丁金属配合物。

配制过程如下:

1) 在装有搅拌和冷凝装置的三颈烧瓶中加入 0.3 mmol (约 0.183 mg) 芦丁粉末和 25 mL 无水乙醇,

40 °C 水浴加热并不断搅拌,约 30 min 后得到黄色澄清溶液;

2) 加入 0.6 mmol (约 0.064 g) 无水碳酸钠粉末,继续加热搅拌 1 h,有黄色芦丁钠盐生成时,加入 0.6 mmol (约 0.12 g) 一水合乙酸铜(或乙酸锌、四水合乙酸镁、四水合乙酸锰),回流搅拌 4 h,有黄色沉淀析出。

3) 对沉淀物进行真空抽滤,并用 40 °C 无水乙醇多次洗涤,然后再次抽滤,最后置于 40 °C 干燥箱内干至恒重,所得固体粉末分别为芦丁-铜、芦丁-锌、芦丁-锰和芦丁-镁配合物。

1.3.2 抑菌性试验

采用菌丝生长速率法^[9]。以二甲亚砜(DMSO)为溶剂,溶解芦丁及其金属配合物芦丁-铜、芦丁-锌、芦丁-锰、芦丁-镁粉末后,倒入溶解的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)中,分别制成浓度为 3.33、6.66、9.99 mg/mL 的培养基^[10]。空白对照组加入等量的培养基溶液和二甲亚砜溶剂。

将培养基放于 121 °C 灭菌锅中灭菌 30 min,冷却后倒入培养皿,待冷却凝固后,在培养皿接种直径为 8 mm 的褐腐菌或白腐菌。

将培养皿在 28 °C、80% 相对湿度的生化培养箱中培养 14 天。从第 4 天开始,每 2 天观察菌落的生长情况,记录菌圈直径。

重复试验 2 次,结果取均值。

1.3.3 合成物的红外光谱分析

为了确定芦丁金属配合物的配位位置,选取抑菌效果最好的芦丁及其金属配合物进行红外光谱分析。将其粉末分别置于红外光谱仪的水平 ATR 附件硒化锌晶体表面,在 4 cm^{-1} 分辨率下扫描 32 次,获得样品的红外谱图。

2 结果与分析

2.1 抑菌性分析

在本试验条件下,白腐菌和褐腐菌的菌圈直径测试结果,列于表 1。

由表 1 可知,接种白腐菌和褐腐菌的对照组培养皿,经 14 天培养后,白腐菌和褐腐菌的菌圈直径分别增至 82.1、81.5 mm,说明试验用腐朽菌可以正常生长,试验有效。

表 1 芦丁及其金属配合物的腐朽菌菌圈直径
Tab.1 Decay fungi circle diameter of rutin and its metal complexes /mm

药剂浓度/ (mg · mL ⁻¹)	时间/ d	白腐菌						褐腐菌					
		对照	芦丁	芦丁-铜	芦丁-锌	芦丁-锰	芦丁-镁	对照	芦丁	芦丁-铜	芦丁-锌	芦丁-锰	芦丁-镁
3.33	4	41.2	8.0	8.0	8.0	14.7	8.5	38.4	17.7	8.0	8.3	9.1	8.4
	14	82.1	8.0	23.9	8.0	35.8	25.2	81.5	51.2	8.0	10.3	36.1	29.8
6.66	4	41.2	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	38.4	8.0	8.0	8.0	8.8	8.4
	14	82.1	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	81.5	8.0	8.0	8.0	18.2	16.2
9.99	4	41.2	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	38.4	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
	14	82.1	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	81.5	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0

随芦丁及其金属配合物浓度的增加，其抑菌性增强，并且对白腐菌和褐腐菌的抑菌能力不同。

1) 芦丁及其金属配合物的浓度为 3.33 mg/mL 时，经 14 天的培养，含有芦丁和芦丁-锌的培养皿，白腐菌菌圈未增长，直径仍为 8 mm；而含有芦丁-铜、芦丁-锰、芦丁-镁的培养皿，白腐菌的菌圈直径分别增至 23.9、35.8 和 25.2 mm。

含有芦丁-铜的培养皿，褐腐菌的菌圈直径保持在 8 mm 左右；但含有芦丁、芦丁-锌、芦丁-锰、芦丁-镁的培养皿，褐菌圈的菌圈直径分别增至 51.2、10.3、36.1 和 29.8 mm；说明芦丁及其金属配合物的浓度在 3.33 mg/mL 时，均不能完全抑制木材腐朽菌的生长。

2) 芦丁及其金属配合物的浓度增至 6.66 mg/mL 时，经 14 天培养，除了芦丁-锰和芦丁-镁的培养皿，褐腐菌的菌圈直径分别增至 18.2、16.2 mm，其余培养皿两种腐朽菌的菌圈直径仍为 8 mm。表明在此药剂浓度下，芦丁、芦丁-铜和芦丁-锌能够完全抑制木材腐朽菌的生长。

3) 将芦丁及其金属配合物的浓度增至 9.99 mg/mL 时，经过 14 天的培养，能完全抑制木材腐朽菌的生长。试验组各培养皿，两种腐朽菌的菌圈直径均未增长。

通过上述分析可知，芦丁、芦丁-铜和芦丁-锌抑菌性能较好，适用于制备木材防腐剂。

2.2 红外光谱分析

为确定芦丁金属配合物的配位位置，对上述 3 种药剂进行红外光谱分析，结果如图 1 所示。

图 1 中显示的芦丁、芦丁-铜、芦丁-锌的主要特征峰及归属，列于表 2^[11]。

与芦丁分子相比，芦丁-铜和芦丁-锌碳环上的醚键 (C-O-C) 吸收峰的峰位未发生偏移，说明碳环上氧原子未参与配位；而羰基 (C=O)、碳碳双键 (C=C)

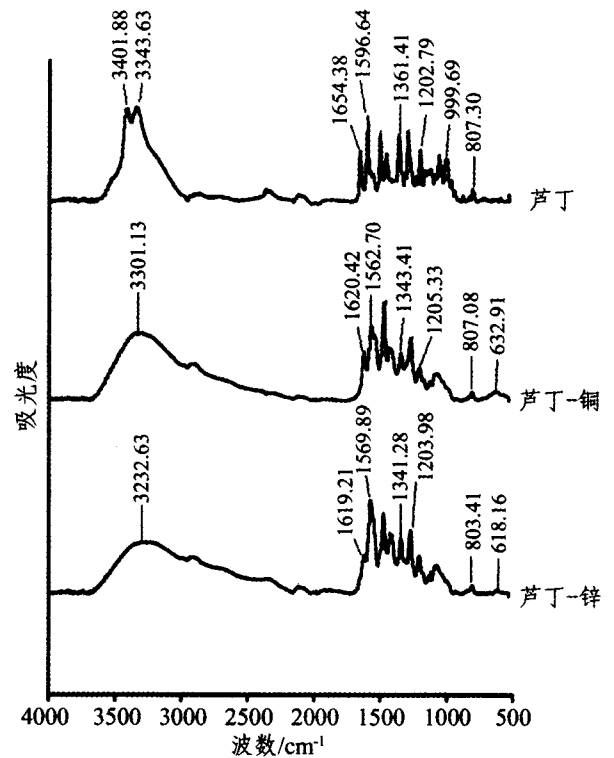
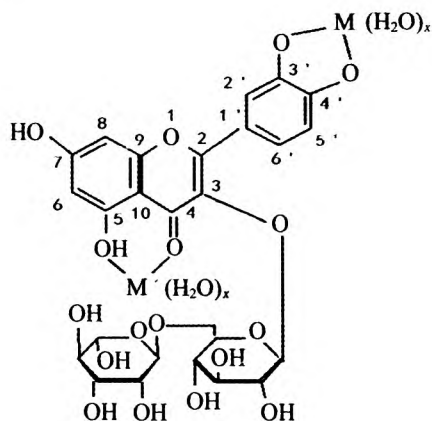


图 1 芦丁、芦丁-铜、芦丁-锌的红外光谱
Fig.1 FTIR spectra of rutin , rutin-copper and rutin-zinc

表 2 芦丁、芦丁-铜和芦丁-锌的主要吸收峰
Tab.2 Absorption peaks of rutin, rutin-copper and rutin-zinc

化合物	V _{C=O} /cm ⁻¹	V _{C-O} /cm ⁻¹	V _{C-O-C} /cm ⁻¹	V _{M-O} /cm ⁻¹
芦丁	1 654	1 597	1 203	-
芦丁-铜	1 620	1 563	1 205	632
芦丁-锌	1 619	1 570	1 204	618

和羟基(-OH)吸收峰的峰位偏移,说明芦丁碳环上羟基、羰基、碳碳双键参与了配位,因此可以推断,铜离子和锌离子的配位位置,发生在3'-羟基和4'-羟基位或5'-羟基和4'-羰基位^[12](图2);632 cm⁻¹和618 cm⁻¹处的吸收峰,分别归属于铜原子和氧原子及锌原子和氧原子间的配位键,二者峰位有所不同,原因在于不同金属原子和氧原子间的伸缩震动有所不同。



$x=2$ $M=\text{Zn}(\text{II})$; $x=4$ $M=\text{Cu}(\text{II})$

图2 芦丁-铜和芦丁-锌可能的化学结构

Fig.2 Possible chemical structure of rutin-copper and rutin-zinc

根据红外光谱分析的结果,推测芦丁-铜和芦丁-锌可能的化学结构(图2),分析结果与以往研究一致^[13]。

芦丁-铜和芦丁-锌在3 300 cm⁻¹左右出现羟基的伸缩振动吸收峰,说明两者均保留了芦丁原有具抑菌作用的酚羟基结构。

相对于芦丁-锰和芦丁-镁,芦丁-铜和芦丁-锌抑菌活性较强,可能与金属离子配体位置以及配体和金属离子的协同作用有关。例如铜离子形成配位后,减少了多肽失活和导致胞溶的可能性,保持了较强的抗炎活性^[14]。

3 结论

1) 芦丁及其铜、锌、锰和镁的金属配合物对木

材白腐菌和褐腐菌均有一定的抑菌性能。抑菌效果因菌种、金属配合物的种类及浓度而异。

2) 随着芦丁及其金属配合物浓度的升高,其抑菌性增强。芦丁及芦丁-铜、芦丁-锌在浓度为6.66 mg/mL时,基本可以抑制白腐菌和褐腐菌两种腐朽菌的生长;而芦丁-锰和芦丁-镁对两种腐朽菌的抑菌作用较弱,需将浓度增至9.99 mg/mL时,方能抑制两种腐朽菌的生长。

3) 芦丁、芦丁-铜和芦丁-锌可用来制备新型防腐剂,下一步将针对芦丁及其金属配合物处理木材的耐腐性能,开展后续研究。

参考文献:

- [1] 于丽丽,唐镇忠,马晓军,等. 铬化磷酸铜防腐处理木材对环境安全的影响综述[J]. 生物质化学工程,2013,47(1): 61-65.
- [2] 赵强,董晓宁,王国庆,等. 芦丁金属配合物的制备及抑菌活性研究[J]. 中国酿造,2012,31(5): 50-52.
- [3] 翟广玉,薛华珍,邹祺. 芦丁金属配合物的研究进展[J]. 化学试剂,2007,29(8): 463-468.
- [4] Han Y. Rutin has therapeutic effect on septic arthritis caused by *Candida albicans*[J]. International Immunopharmacology, 2009, 9(2): 207-211.
- [5] Ikeda N E, Novak E M, Maria D A, et al. Synthesis, characterization and biological evaluation of Rutin-zinc(II) flavonoid-metal complex[J]. Chemo-Biological Interactions, 2015, 239: 184-191.
- [6] 周蓓蓓,潘见,开桂清,等. 光度法研究铜离子和铁离子与芦丁的不同配位特性[J]. 安徽化工,2006,32(1): 65-67.
- [7] 屠世忠,廖耀忠,梅美珍,等. 芦丁镁络盐的制备及其降胆固醇的作用[J]. 中草药,1981,12(2): 13-15.
- [8] 洪晓华,贝自英. 芦丁过渡金属配合物的制备[J]. 南京中医药大学学报,1992(1): 31-32.
- [9] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1991.
- [10] 郭艳华,许国权,李艾华,等. 天然黄酮芦丁的化学改性及抑菌作用[J]. 江汉大学学报(自然科学版),2013,41(2): 31-35.
- [11] 康敬万,苏碧泉,卢小泉,等. 芦丁配合物的合成、表征及其与DNA作用的电化学研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版),2006,42(1): 54-57.
- [12] 尹文萱,王兴涌,王建怀. 芦丁和槲皮素及其金属配合物的 FTIR 研究[J]. 中国矿业大学学报,2009,38(6): 884-888.
- [13] Samsonowicz M, Kamińska I, Kalinowska M, et al. Alkali metal salts of rutin-Synthesis, spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV-VIS), antioxidant and antimicrobial studies[J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2015, 151: 926-938.
- [14] 张振学,刘珂,王守愚,等. 黄酮金属络合物作为潜在药物的研制与开发[J]. 中草药,1996(3): 179-181.

(责任编辑 劳万里、姜征)

本刊微信公众号: mucaigongye 投稿请认准本刊唯一官网: mcgy.criwi.org.cn
全国各地邮局均可办理订阅(邮发代号: 2-311) 微信扫码(见封面)订阅更便捷、更优惠