

麝香贮藏技术的研究

郭崇华¹, 汪大敏¹, 范黎², 李明运³, 李东林³, 高雄志³, 冯保科³, 陈清敏^{3*}

(1. 陕西省微生物研究所, 陕西 西安 710043; 2. 第四军医大学, 陕西 西安 710032; 3. 中国药材总公司 6782 单位, 陕西富平 711700)

摘要: 目的 为了解决珍稀药源麝香在多年贮藏后会发生毛壳壳溃散和着生白斑问题, 以便尽可能长时间的存储。方法 对贮藏麝香所感染的微生物进行了分离鉴定, 并以分离所获取的微生物为目标菌进行物理、化学抑制实验。结果 确定了以冷藏法实现麝香长期贮藏的方案(4℃以下)。结论 此方案在国家药库实施后, 获得了良好效果。同时, 该实验还否定了原以为麝香白斑为“霉变”的错误认识。

关键词: 麝香; 贮藏麝香; 麝香霉斑

中图分类号: R 282.4 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0752-03

Studies on storage technique of *Moschus*

GUO Chong-hua¹, WANG Da-min¹, FAN Li², LI Ming-yun³, LI Dong-lin³,

GAO Xiong-zhi³, FENG Bao-ke³, CHEN Qing-min³

(1. Shaanxi Institute of Microbiology, Xi'an 710043, China; 2. Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China;

3. Department of 6782, General Company of Chinese Medicinal Materials, Fuping 711700, China)

Key words: *Moschus*; storage of *Moschus*; mildew of *Moschus*

麝香是祖国医药宝库中最珍贵的药材之一, 也是现代香料工业的重要定香剂。由于其稀少珍贵, 故在国际市场上, 价逾黄金。在过去一段时期内, 我国一直为麝香的主要输出国。但自 20 世纪 60 年代以来, 由于环境破坏与过度猎杀麝等原因, 我国麝类资源已日趋枯竭, 麝香产量急剧下降, 麝香变得尤为稀少珍贵^[1,2] 从而保藏备用麝香也显得越来越重要。其实我们的祖先很早以前就很重视麝香的保藏与备用, 其方法大致是: 将阴干的毛壳麝香用油纸包裹, 贮于缸中, 可达数年不腐^[3], 视为麝香的早期保藏。现代麝香保藏是将毛壳麝香置棕色瓶中, 蜡封口, 深藏于常年温湿较稳定的窖库中, 以避光、防潮、防蛀^[4], 这样的保藏技术可使麝香贮藏期延长 10 年以上, 且具有失重少, 损失少, 能长期保持其油性性状等优点。但随着贮藏时间延长仍存在麝香毛壳溃烂、囊壳表面产生似霉斑的白斑现象, 使贮藏的麝香价值降低。本文对能使毛壳麝香腐败和产生白斑的微生物进行了分离和初步鉴定, 并以分离菌为抑制对象, 在实验室平皿抑制实验基础上, 确定分离菌的抑制要点, 进而改革贮藏方案。经国家 6782 药库具体实施, 获得良好的效果。

1 贮藏麝香染菌菌系分析及实验室抑菌试验

1.1 材料: 麝香样品: 由中国药材总公司 6782 单位提供; 培养基: 肉汤蛋白胨培养基、高氏培养基、麦汁培养基、加富 PDA 培养基(加入 1% 蛋白胨)。

1.2 方法

1.2.1 染菌菌系分离: A. 将已溃散的毛壳麝香皮和香仁随机取样少许, 置于无菌水中, 制成洗脱液涂布于营养琼脂平板表面, (28 ± 2)℃ 培养 3~7 d, 待有单菌落形成, 挑至斜面培养基上培养待测。B. 将已发生溃烂的毛壳皮样品表面消毒后, 用无菌剪刀剪块, 直接点种于营养琼脂表面, 待有菌落形成, 挑取生长物置于无菌水中进行稀释和细胞振荡分散后, 涂布于营养琼脂平板表面, 分离至形成单菌落, 再挑取单菌落, 接种于斜面培养基上培养待测。C. 为最大可能地收集麝香腐败菌, 将毛壳皮屑和香仁末少许分别置于加富 PDA 和肉汤液体培养基中培养 24 h, 将培养液直接涂布于营养琼脂平板表面, 待形成菌落后, 分离单菌落至斜面培养基上培养待测。D. 同时将上述培养物一套置于由焦性没食子酸与氢氧化钠作用形成的无氧容器内, 厌氧培养, 分离厌氧菌。

1.2.2 麝香样品染菌菌系的鉴定: 将麝香样品分离菌依据其菌落形态, 个体形态及生理生化反应, 初步

* 收稿日期: 2001-12-25

作者简介: 郭崇华, (1953-), 女, 原籍山西沁县, 1980 年毕业于西北大学生物系, 现为陕西省微生物研究所副研究员, 主要从事微生物及相关领域的研究。Tel: 029-8482817; 13088978503

鉴定到属^[5]。

1.2.3 复种实验: 用蒸馏水加琼脂制成不含营养物质的琼脂平板, 仅为培养物提供一个载体与合适的生长湿度条件。上置经过灭菌的麝香仁和毛壳皮, 将分离获得的好氧菌分别喷种于麝香块上, 30 培养。同时作一组对照, 只置麝香块, 不喷菌液。

1.2.4 化学药剂抑菌实验: 改良滤纸圆片法^[6,7]。在加富 PDA 培养基平板上, 用涂布法均匀涂布分离菌混合培养菌种, 用直径 1 cm 的灭菌滤纸圆片, 充分浸抑菌剂后, 分别置涂菌之平板表面, 置(30 ± 1) 培养, 等菌长出后, 观察滤纸周围形成的抑菌透明圈。

表 1 从贮藏麝香中确定微生物的属

特 征		菌 号								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
菌	宽(μm)	0.8~1	0.6~0.8	1~1.1	0.8~1	0.6~1	0.6~0.8	0.8~1	0.8~1	0.6~0.7
	长(μm)	2.5~3.2	1.5~2.5	2.5~3	2~3		2~2.5	2~2.5	2~2.5	2~3
	革兰氏染色	+	+	+	+	+	+	+	+	+
体	类脂粒染色	匀	匀	不匀	不匀		匀	匀	匀	匀
	吕氏美兰染色	匀	匀	不匀	不匀		匀	匀	匀	匀
菌体排列				链状	链状	聚集成团				链状
芽	形状	椭圆	椭圆	椭圆	椭圆		椭圆	椭圆	椭圆	椭圆
	孢囊膨大与否	微大	微大	微大	微大		微大	微大	微大	微大
孢	菌体内位置	次端生	次端生	近中生	近中生		近中生	次端生	近中生	中生
	鞭毛	周生	周生	周生	周生		周生	周生	周生	
有氧培养		+	+	+	+	+	+	+	+	-
接触酶		+	+	+	+	+	+	+	+	
土豆葡萄糖	光泽	无	无	半透明	无	有	有	有	无	有
	蛋白胨培	折皱	有	无	有	无	无	微有	有	无
培养基上菌	边缘	缺刻状	缺刻状	圆锯齿形	卷云状	齐	缺刻状	齐	堆云状	齐
	落特征	颜色	红→褐	褐色	白	桔红色	白	淡泥色	红黑褐色	透明
	形状	不规则	近圆	似水泡	圆	圆	圆	圆	不规则	圆
	色素		红色							
肉汤琼脂培	光泽	无	无	无	有	有	有	有	无	有
	折皱	有	有	几乎无	无	无	无	微有	有	无
培养基上菌	边缘	缺刻状	缺刻状	齐	圆锯齿状	齐	缺刻状	齐	堆云状	齐
	落特征	颜色	白	白	半透明	白	桔红色	白	淡土色	透明
	形状	不规则	近圆	圆泡状	近圆	圆	圆	圆	不规则	圆
	色素		红色							
液体试管培	菌膜	片层状	层状	胶膜状	膜状	无	片层状	片层状	膜状	
	养特征	混浊	—	—	微	—	—	—	—	
	沉淀	微	微	微	微	微	微	微	微	微
	颜色	淡粉	淡粉	白	白	无	白	粉白	淡粉	
来源		杏仁子	毛壳皮	毛壳皮	杏仁	杏仁	毛壳皮	毛壳皮	毛壳皮	毛壳皮
最适生长温度()		30~40	30~40	30~40	30~40	30~40	30~40	30~40	30~40	30~40
4	生长情况	—	—	—	—	—	—	—	—	—

经鉴定 3,4 号菌属芽孢菌属 *Baxillus cohnii*, 1, 2, 6, 7, 8 号菌属芽孢杆菌属 *Bacillus cohnii* 枯草芽孢杆菌群, 5 号菌属葡萄球菌属 *Staphylococcus rosenbach*, 9 号菌属梭状芽孢杆菌属 *Clostridium*。2.2 复种实验: 喷涂有分离菌的平皿上, 在麝香毛壳皮、杏仁上及其周边形成一薄层肉眼可见的细菌菌落。毛壳皮、杏仁块周围能长菌可能与其中的水溶

1.2.5 控温抑菌实验: 将分离菌置于不同温度下培养, 绘制其生长曲线, 查找临界生长点。即挑取少许分离菌接种于肉汤蛋白胨液体培养基中, 摇匀后取 1 滴显微计数, 同时将培养液分装于 9 只三角瓶中, 分别置于 0 , 5 , 10 , 20 , 30 , 35 , 37.5 , 40 , 45 培养 48 h, 适当稀释后显微计数。以细胞数为纵座标, 以培养温度为横坐标绘制其生长曲线。

2 实验结果

2.1 贮藏麝香染菌菌系鉴定: 从贮藏麝香中分离菌株的个体及菌落形态见表 1。

物渗透扩散至周边基质中有关。对照组无菌落生成, 即分离菌能利用麝香进行生长。

2.3 平皿化学药物抑菌试验: 各种化学药物对麝香分离菌系的抑制效果见表 2。

2.4 温度对麝香分离菌生长的影响: 麝香分离菌在不同温度下生长量见图 1。

根据上述不同温度下的生长曲线, 设定抑菌实

表 2 各种化学药物抑菌试验

药 品	剂 量	抑菌能力 (cm)	剂 量	抑菌能力 (cm)	剂 量	抑菌能力 (cm)	溶 剂	备 注
山梨酸钾	0.2%	—	0.4%	—	0.6%	○	水	
VK	0.5%	—	1%	○	1.5%	2	乙醇	
安西林	400 r/mL	○	4 000 r/mL	2.0	40 000 r/mL	2.8	水	
甲硝唑	5 μg/mL	2	50 μg/mL	3	100 μg/mL	3.8	水	
对羟基苯酸甲酯	0.2%	—	0.4%	1.5	0.6%	2.5	50% 乙醇	
VK+ 尼泊金酯	0.15% + 0.3%	—	0.2% + 0.4%	1.7	0.3% + 0.6%	2.3	50% 乙醇	
包接碘	Φ0.8	3.6	Φ0.5	3				
活力碘	0.1%	—	0.25%	1.8	0.5%	2.45	水	自制
50%乙醇		—		—		—		溶剂干扰 排除试验

注: 抑菌能力以抑菌圈直径(cm)表示: —表示无作用, 滤纸上也能长菌; ○表示滤纸上不长菌, 但无抑菌圈。

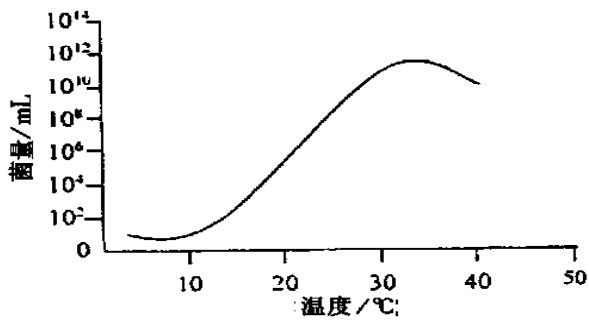


图 1 麝香分离菌在不同温度下的生长曲线图
验温度为 0 ~ 4 。再将分离菌喷涂于无营养琼脂的麝香毛壳皮和杏仁上, 分别置 0 、 4 和 20

培养一周。与 20 培养物比较, 0 和 4 培养物无明显的菌落生成迹象, 因此 4 即能抑制分离菌生长。

3 实施实验

因考虑到化学药品实施时存在的实际问题, 物理方法要优于化学方法, 因此库房实施时用低温控制法。在低于 4 的温度条件下贮藏麝香, 经两年多的观察记录, 对毛壳麝香 370 批标样, 麝香仁 50 批标样分析表明, 冷藏条件下麝香标样均保持原有状态, 溃散不再发生, 白色斑的出现大大减少, 随机抽样分析见表 3。

4 讨论

表 3 冷藏麝香样品分析

样 品 标样批数		白斑增加直径(贮后—贮前) (mm)											
冷藏样	12 0 1 1 0 0 0	0	0	0	1	0	1	4	0.33				
对照样	12 12 27 31 11 36 21	23	37	13	41	32	27	311	25.9				

续表 3

样 品	毛壳溃散	占总数百分率(%)	总数
冷藏样	0	0	240
对照样	17	7.1	240

4.1 分离菌对化学药品敏感, 对温度也敏感, 但用温度控制比用化学方法好, 不会引起其他不必要的负反应, 处理时的损失要少得多。

4.2 在感染菌分离时, 没有分离出霉菌, 特别用着生白斑的斑块点种, 也未分离到霉菌。笔者以为这一结果, 既与麝香感染菌中菌类少且主要是芽孢杆菌相对应, 也与麝香具有抗炎作用相对应^[8-10]。芽孢的耐受性要比一般微生物的营养细胞高一些, 故对麝香能产生腐败作用的主要是这些细菌。

4.3 麝香白斑物质曾被认为是霉斑^[11], 我们对麝香白斑物质进行分析与培养观察, 首次肯定这些白斑物质不是霉斑。镜检和电镜扫描发现其呈针柱状结晶, 因而断定其为麝香在保藏过程中的析出物。这一结果, 否定了以前认为麝香白斑物质是发生霉变的霉斑的错误认识, 为那些着生白斑的贮藏麝

香仍具有药用价值提供了有力依据, 使之免遭淘汰, 从而为国家挽回了巨额损失。同时说明麝香内部物质在常温下贮藏会有部分物质损失, 且会有结晶在毛壳表面形成。冷藏起到了遏制白斑生成的作用, 对保护贮藏麝香药理活性具有一定的意义。

参考文献:

[1] 李德军, 徐海宁, 姜凤梧, 等. 珍稀濒危药用动物资源的保护和管理[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(10): 582.

[2] 项 军. 中国麝类资源保护[J]. 基层中药杂志, 1992, 6(1): 1-3.

[3] 冉懋雄, 周厚琼, 等. 现代中药栽培养殖与加工手册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1999.

[4] 中国药典[S]. 1990 年版. 一部.

[5] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社, 1978.

[6] 微生物研究法讨论会. 微生物学实验法[M]. 北京: 科学出版社, 1983.

[7] 马振赢, 吴小梅. 工业防霉[M]. 北京: 轻工业出版社, 1983.

[8] 于德泉, 柳雪枚, 高淑艳, 等. 天然麝香抗炎有效成分的研究[J]. 药学报, 1980, 15(5): 306.

[9] 柳雪枚, 李虹奇, 肖 宣, 等. 天然麝香抗炎蛋白质的研究 1Mu-a-I, 的分离纯化及其部分性质的鉴定[J]. 动物学报, 1992, 38(3): 302.

[10] 朱秀媛, 徐桂芳, 程雨时, 等. 麝香的药理研究 —— 麝香及其有效成分的抗炎作用[J]. 药理学报, 1988, 23(6): 406.

[11] 中国药材公司. 中药保管技术[M]. 北京: 中国商业出版社, 1984.