

微酸性电解水对大肠杆菌在育雏鸡场消毒通道中的试验研究

赵丽杰² 臧一天¹ 李保明¹ 李星烁¹ 曹薇¹ 胡经理² 赵再岭² 刘纯²

1. 中国农业大学农业部设施农业工程重点开放实验室, 北京 100083;

2. 华裕农业科技有限公司, 邯郸 057153

1. 引言

近年来,随着中国经济发展及畜禽生产规模化集约化程度的逐渐增高,疫病已成为限制畜禽产业利润增长的主要因素;而人们对养殖生产中抗生素减少的需求和食品安全的担忧亦日益增加,在这种情况下,联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization, FAO)认为施行生物安全以控制动物疫病的发生是一种经证明减少疫病发生风险的重要性和可行性措施^[1], Hsu 及 Wanaratana 等^[2-3]人分别将生物安全在内容上分为隔离、清洗及消毒三大部分,其中,消毒是减少疫病传入及控制疫病传播的重要因素之一。

目前,畜禽养殖过程中通常使用一些化学消毒剂灭活病原微生物达到消毒作用,但这些化学制剂往往会带来严重的化学残留及环境污染,而一些物理消毒方法如紫外线、高压蒸汽和空间电场等虽没有化学残留等问题,但其适用范围极其狭窄^[4],随着人们对畜禽产品质量要求的提高在畜禽生产中亟需一种健康高效环保的绿色消毒剂。

酸性电解水(acidic electrolyzed water, AEW),亦称高氧化还原电位水,是一种新型杀菌消毒剂,大量研究表明酸性电解水对各种细菌、病毒具有瞬时、广谱、无残留的高效杀菌作用^[5-7]。然而,由于其强酸性($\text{pH}<2.7$)、对金属腐蚀

性大，限制了其应用^[8]，特别是在畜禽养殖中的应用^[9]。微酸性电解水（slightly acidic electrolyzed water, SAEW）的 pH 值（6.0~7.0）较高且腐蚀性小、并亦具有与酸洗电解水同样的高效杀菌作用，且其他化学消毒剂相比，微酸性电解水使用成本低，是一种廉价、安全的绿色消毒剂^[10-11]。

大肠杆菌（*Escherichia coli*）病是一种对养鸡业危害巨大的频发性疾病，人员或物品在进入鸡场时会有很大机率带入并传播大肠杆菌，而通过微酸性电解水在人员或物品进入通道时消毒可有效控制并降低大肠杆菌病在鸡场的传播风险。因此，本文首先研究了微酸性电解水对大肠杆菌菌悬液的杀菌效果，并随后模拟试验研究了微酸性电解水在消毒通道中对大肠杆菌在衣物表面的杀菌效果，并同时对比了其与其他消毒剂（戊二醛、季铵盐类）的杀菌效果。

2. 材料与方法

2.1 试验地点和仪器设备

试验于 2014 年 10 月-11 月在河北某育雏场消毒通道中进行，该消毒通道长×宽×高为 6.5 m×1 m×3 m，东西走向，南墙约 2 米处安装两台喷雾器，其距前门入口处各 1.6m 和 2.6m，该喷雾器喷雾启动及时间受人员消毒控制器（ 公司）控制，其所喷雾滴大小约为 70-80 μ m。

2.2 试验方法

2.2.1 细菌培养

将冷冻干燥的大肠杆菌（ATCC 25922）接种到胰酪胨大豆肉汤培养基上 37 °C 恒温培养 24 h 活化，随后离心机 4°C、4000 转离心 15 分钟并弃上清，将

细菌沉淀用 0.1%的蛋白胨水清洗两次，重新制成 10ml 含菌数约为 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL 的菌悬液备用。

2.2.2 消毒剂的制备

采用微酸性电解水连续式无隔膜电解水机(睿安德环保设备有限公司) 通入 NaCl 溶液和稀盐酸电解制取 PH 值约为 6.25-6.50，ORP 为 589-897mv 的不同有效氯浓度的电解水，在菌悬液杀菌实验中，为达到所需有效氯浓度，分别将制取的有效氯浓度为 10mg/l 的电解水进行不同浓度的稀释以达到所取的有效氯浓度，其中，有效氯浓度的测试采用有效氯测定仪（RC-2Z, 竺原理化工工业株式会社, 日本）,PH 值及 ORP 分别采用 PH 计及 ORP 计（赛多利斯股份公司，德国）。将戊二醛及季铵盐类消毒剂则采用原液与自来水混合至 1%浓度的比例以备用。

2.2.3 微酸性电解水对大肠杆菌菌悬液的杀菌实验

分别测定不同有效氯浓度及不同时间下微酸性电解水对大肠杆菌的杀菌效果，即在无菌试管中加入 0.5mL 试用菌悬液，再用移液枪取 4.5mL 的有效氯浓度分别为 2mg/l、4 mg/l、6 mg/l、8 mg/l、10 mg/l 的微酸性电解水注入无菌试管中，迅速混合并立即计时，待试验菌与电解水相互作用至预定时间(1min、1.5min、2min、 2.5min、 3min)，吸取 0.5mL 混合液加入 4.5mL 中和剂（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ）中混合均匀，停止杀菌，进行系列梯度稀释，选择 3 个合适的稀释度，吸取 0.1mL 稀释液，进行涂布平板培养计数。每组重复三次，取平均值。

2.2.4 微酸性电解水在消毒通道中的杀菌实验研究

将制取的 260mg/l 的微酸性电解水及 1%浓度的戊二醛及季铵盐类消毒剂分别放置在消毒通道内自动喷雾器下的入水桶中，入水通每次放入不同消毒剂前皆进行清洗，在放入后亦试运行 30 秒钟以去除设备内残留的其他消毒剂。以剪刀

剪取 $4 \times 4 \text{cm}^2$ 的衣物（取自饲养员常用饲养服），并清洗后高压灭菌，随后在生物安全柜中待其干燥后备用。将所制备的 $10^8 \sim 10^9 \text{ cfu/mL}$ 的菌悬液稀释至 10^5 cfu/mL ，并取 0.1 mL 均匀涂抹在 $4 \times 4 \text{cm}^2$ 的衣物（取自饲养员常用饲养服）上。待其 30 min 干燥后，放入通道内进行时间为 0.7 min 的喷雾消毒。消毒后，取无菌棉签，先在高压灭菌后的中和剂内浸润，随后在消毒后的衣物上来回擦拭 20 次左右，将采样后的棉签放置在装有 9 mL 中和剂的离心管内震荡混匀，随后分别取 0.1 mL 涂板， 37°C 下， 24 h 培养后计数。

3. 结果与讨论

3.1 不同有效氯浓度下微酸性电解水对大肠杆菌的杀灭效果

图 1 表示有效氯浓度为 2 mg/L 、 4 mg/L 、 6 mg/L 、 8 mg/L 、 10 mg/L 时，大肠杆菌的杀灭对数分别为 1.55 ± 0.13 、 4.83 ± 0.12 、 6.43 ± 0.11 、 8.12 ± 0.01 、 8.12 ± 0.02 ；随着有效氯浓度的不断提高，微酸性电解水对大肠杆菌的杀灭效果有明显提高

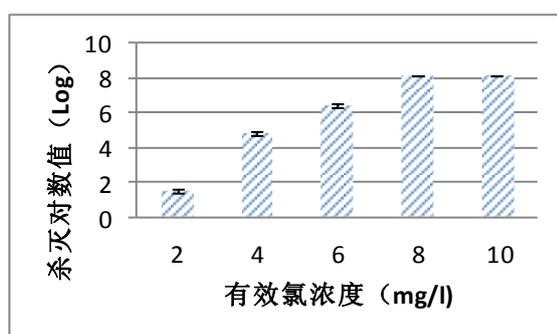


图 1 不同有效氯浓度下微酸性电解水对大肠杆菌的杀灭效果

3.2 不同杀菌时间下微酸性电解水对大肠杆菌的杀灭效果

图 2 表示有效氯浓度为 8 mg/L 的微酸性电解水对大肠杆菌分别作用 1 min 、 1.5 min 、 2 min 、 2.5 min 、 3 min 时的杀灭效果，随着时间的增加，微酸性电解水对

大肠杆菌的杀灭效果有明显提高

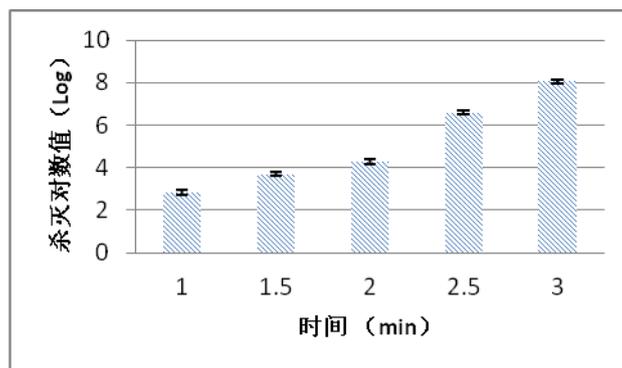


图 2 不同作用时间下微酸性电解水对大肠杆菌的杀灭效果

3.3 微酸性电解水在消毒通道中的实验研究

图 3 显示戊二醛、季铵盐类消毒剂及微酸性电解水在消毒通道内对衣物的消毒效果，其灭菌率计算则分别为 81.4%、81.4% 及 95%

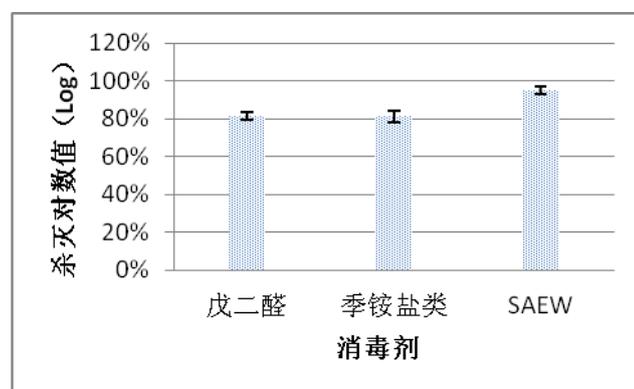


图 3 不同消毒剂在通道内对衣物模拟的灭菌率

结果可以看出，微酸性电解水 260mg/l，戊二醛，季铵盐类浓度各 1%（规定浓度为 0.15%左右）在 0.7min 时的杀菌效果为：SAEW>戊二醛=季铵盐类，该结论可以证明微酸性电解水在消毒通道中的应用效果等同或优于普通消毒剂，且微酸性电解水在通道内喷雾过程中，其对人员的刺激性要低于其他两种消毒剂，并无化学残留，因此微酸性电解水可取代某些消毒剂以应用于消毒通道中，用于

抑制疫病的传播风险。

结论

微酸性电解水对大肠杆菌有高效的杀灭效果，且杀菌作用随着时间及有效氯浓度的增加而增加；当对 10^8 cfu/mL 的大肠杆菌菌悬液进行处理时，有效氯浓度为 8mg/l，时间达到 3min 钟时，可完全杀灭大肠杆菌；在且采用微酸性电解水在消毒通道内进行喷雾模拟消毒时，对衣物的灭菌率可达到 95%。微酸性电解水可有效抑制疫病的传入和传播，降低疫病的传播风险，作为一种新型环保的高效性消毒剂，具有巨大的应用潜力。

参考文献

- [1] FAO, 2007. Good Biosecurity Practices in Small Scale Commercial and Scavenging Production Systems in Kenya by Nyaga, P. FAO Report, available at: <http://www.fao.org/docrep/013/al838e/al838e00.pdf>
- [2] Hsu, B.B., Yinn Wong, S., Hammond, P.T., Chen, J., Klibanov, A.M., 2011. Mechanism of inactivation of influenza viruses by immobilized hydrophobic polycations. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108 (1), 61–66.
- [3] Wanaratana, S., Tantilertcharoen, R., Sasipreeyajan, J., Pakpinyo, S., 2010. The inactivation of avian influenza virus subtype H5N1 isolated from chickens in Thailand by chemical and physical treatments. Vet. Micro-biol. 140 (1–2), 43–48.
- [4] 刘滨疆. 畜禽舍微生物气溶胶的空间电场防疫原理及其应用[J]. 中国禽业导刊, 2005, 22 (6): 13-14.

- [5] Huang Y R, Hung Y C, Hsu S Y, et al. Application of electrolyzed water in the food industry[J]. Food Control, 2008, 19(4): 329—345.
- [6] Kim C, Hung Y C, Russell S M. Efficacy of electrolyzed water in the prevention and removal of fecal material attachment and its microbicidal effectiveness during simulated industrial poultry processing[J]. Poultry Science, 2005, 84(11): 1778—1784.
- [7] Liao L B, Chen W M, Xiao X M. The generation and inactivation mechanism of oxidation–reduction potential of electrolyzed oxidizing water[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(4): 1326—1332.
- [8] Cui Xiaodong, Shang Yuchao, Shi Zhengxiang, et al. Physicochemical properties and bactericidal efficiency of neutral and acidic electrolyzed water under different storage conditions[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(4): 582—586.
- [9] 朱志伟, 李保明, 李永玉, 等. 中性电解水对鸡蛋表面的清洗灭菌效果[J]. 农业工程学报, 2010, 26(1): 358—362.
- [10] 郑炜超, 李保明, 尚宇超, 等. 蛋种鸡场中性电解水带鸡喷雾消毒试验研究[J]. 农业工程学报, 2010, 26(9): 270—273.
- [11] Zhang, C.L., Lu, Zh.H., Li, Y.Y., Shang, Y.Ch., Zhang, G. and Cao, W. (2011) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* on mung bean seeds and sprouts by slightly acidic electrolyzed water. Food Control. 22, 792–796.