

氧化电位水杀菌效果的初步评价*

柳建平, 余晓东

(重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 400047)

摘要 :应用悬液定量杀灭试验检测氧化电位水对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草杆菌黑色变种芽胞的杀灭效果,并用此法检验10%小牛血清影响氧化电位水杀灭金黄色葡萄球菌的效果。氧化电位水对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌作用2 min,其平均杀灭率均为99.99%,作用于含10%小牛血清的菌悬液20 min,其杀灭率为57.11%。氧化电位水对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌具有快速杀灭和破坏作用,10%小牛血清对氧化电位水杀灭金黄色葡萄球菌的效果影响显著。

关键词 :氧化电位水;杀菌作用;小牛血清

中图分类号 :Q819

文献标识码 :A

文章编号 :1672-6693(2006)03-0079-03

Preliminary Evaluation on Germicidal Efficacy of the Electrolyzed Oxidizing Water

LIU Jian-ping, YU Xiao-dong

(College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract :A quantitative suspension test was used for detecting the germicidal efficacy of EOW against *Staphy aureus*, *Escherichia coli* and spores of *Bacillus subtilis var. niger*. This test was also used for observing the influence of 10% bovine serum on efficacy of EOW in killing *Staphy aureus*. It was found that EOW with 2 minutes contact time could attain a killing rate of 99.99% for *S. aureus* and *E. coli*. As the suspension of *S. aureus* containing or not containing 10% bovine serum, EOW with 20 minutes contact time could attain a killing rate of 57.11% or 100% respectively. EOW can rapidly kill or destroy the *S. aureus*, *E. coli*. The 10% bovine serum has significant influence on germicidal efficacy of EOW.

Key words :electrolyzed oxidizing water (EOW); germicidal factor; bovine serum

近年来,日本INTEK公司开发出一种新型氧化电位水生成机,该机采用铂金电极在有隔膜的电解槽中电解添加了0.05% NaCl的自来水,从阳极出来的水具有高氧化还原电位(Oxidizing-Reduction Potential, ORP > 1 050 mV)和低pH (< 2.7)。据报道,这种氧化电位水杀菌作用快、广,且无毒无害,是一种理想的消毒剂^[1,2]。鉴于目前使用的化学消毒剂的毒性强,用后有残留毒物质,急需开发高效低毒的消毒剂,作者对这种氧化电位水做杀菌效果试验,同时考虑到实际应用中常有有机物存在,所以本文对有机物的影响作了评价,并根据实验结果及有关报道,对氧化电位水的应用前景作了分析。

1 材料

1.1 菌株

金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、大肠杆菌(ATCC 8099)、枯草杆菌黑色变种芽胞(ATCC 9372)。

1.2 氧化电位水

日本INTEK公司生产的氧化电位水生成机JAW020型制备氧化电位水,其pH值为2.55,氧化还原电位(ORP)值在1 050~1 180 mV之间。

1.3 中和剂

0.5% 硫代硫酸钠、0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液

* 收稿日期 2006-06-06

资助项目:重庆市自然科学基金项目(No. CSTS2005BB5259)

作者简介:柳建平(1954-)男,湖北秭归人,实验师,研究方向为动物生化与生理。

(PBS), pH 值为 7.2 ~ 7.4, 用于定量杀菌试验; 0.2% 硫代硫酸钠、0.5% 吐温-80、0.03 mol/L PBS, 用于定量杀灭试验。

1.4 实验动物

18 ~ 22 g 昆明种一级小鼠, 雌雄各半; 2.5 ~ 3 kg 左右白色家兔。实验动物均由重庆医科大学实验动物中心提供, 实验前经检疫合格。

2 方法

2.1 悬液定量杀灭试验

INTEK 生成机制备氧化电位水, 取上述各菌或芽胞悬液 50 μ L 加入到 5 mL 新鲜的氧化电位水中, 其余步骤均按中华人民共和国卫生部 2002 年颁布的《消毒技术规范》进行。

2.2 有机物影响实验

在金黄色葡萄菌的悬液中加入 10% 的小牛血清, 做有机物影响杀菌实验。

2.3 稳定性实验

将氧化电位水放在 54 ± 1 $^{\circ}$ C 温箱中, 14 h 后取出, 做杀菌实验。

2.4 急性经口毒性试验

用霍恩氏法, 将 40 只小鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 雌雄各半。将氧化电位水分别按 2.15、4.64、10、21.5 g/kg 剂量经口灌胃一次, 观察 7 h 并记录结果, 并按中华人民共和国卫生部 2002 年颁布的《消毒技术规范》规定的 LD_{50} 计算方法计算 LD_{50}

数值。

2.5 急性皮肤刺激试验

按中华人民共和国卫生部 2002 年颁布的《消毒技术规范》进行, 将氧化电位水与家兔皮肤封闭接触 4 h, 试验结束后, 分别于去除受试物后 1 h、24 h 和 48 h, 观察皮肤局部反应(红斑形成和水肿形成), 并按该《消毒技术规范》中的表 2-11 进行刺激反应评分。

2.6 急性眼刺激试验

按中华人民共和国卫生部 2002 年颁布的《消毒技术规范》进行, 将氧化电位水滴入家兔眼内, 闭合数秒后用生理盐水冲洗, 滴眼后 1 h、24 h、48 h、72 h、7 d、14 d 和 21 d, 肉眼观察家兔眼结膜、虹膜和角膜的损伤与恢复情况, 并按该《消毒技术规范》中的表 2-13 对家兔眼角膜、虹膜和结膜的急性刺激反应进行评分。

3 结果

3.1 杀菌实验

悬液定量杀灭试验后, 按中华人民共和国卫生部 2002 年颁布的《消毒技术规范》要求的方法计算出杀灭率, 见表 1。结果表明该氧化电位水原液对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌作用 2 min 杀灭率均可达 99.99%, 而对枯草芽孢体作用 20 min 杀灭率可达 99.12%。

表 1 氧化电位水对几种细菌作用不同时间的杀菌率

实验菌种	氧化电位水浓度	杀灭率/%				
		2 min	5 min	10 min	20 min	30 min
金色葡萄菌	原液	99.99	99.99	99.99	—	—
大肠杆菌	原液	99.99	99.99	100.00	—	—
枯草杆菌芽孢	原液	—	—	98.91	99.12	98.96

3.2 有机物影响试验

有机物影响试验后, 按中华人民共和国卫生部 2002 年颁布的《消毒技术规范》要求的方法计算出杀灭率, 见表 2。结果表明有机物小牛血清对该氧化电位水原液的杀菌效果有显著影响。

表 2 小牛血清对氧化电位水杀菌效果的影响

实验菌种	小牛血清浓度	氧化电位水浓度	杀灭率/%		
			5 min	10 min	20 min
金黄色葡萄菌	10%	原液	40.83	51.17	57.11

3.3 稳定性试验

稳定性试验后, 按中华人民共和国卫生部 2002

年颁布的《消毒技术规范》要求的方法计算出杀灭率(见表 3)。结果表明该氧化电位水原液放在 54 ± 1 $^{\circ}$ C 温箱中, 14 h 后, 再对金黄色葡萄球菌作用 5 min, 杀灭率仅为 60.63%。

表 3 氧化电位水的稳定性结果

试验菌种	氧化电位水浓度	杀灭率/%		
		5 min	10 min	20 min
金黄色葡萄菌	原液(放置 14 d 后)	60.63	61.77	70.00

3.4 经口急性毒性试验

经口急性毒性试验表明, 未见小鼠出现异常反应及死亡, 求得小鼠经口 $LD_{50} > 10$ g/kg, 按化学物

质急性毒性分级标准属实际无毒级。

3.5 急性皮肤刺激试验

急性皮肤刺激试验表明,皮肤刺激反应分值为0,按“皮肤刺激强度评价标准”属无刺激性。

3.6 急性眼刺激试验

急性皮肤刺激试验表明,急性眼刺激积分指数为2,眼刺激平均指数48 h后为0,按“眼刺激性评价标准”属无刺激性。

4 讨论

氧化电位水杀菌机理有两种学说:一种是早期提出的化学物理学说,即认为氧化电位水的低pH(2.7以下)与高ORP(+1 050 mV以上)超出微生物的生存范围,并使微生物细胞的膜电位发生改变,导致细胞膜通透性增强与细胞代谢物破坏,达到杀灭微生物的效果^[3];另一种是后来提出的有效氯化学说,即认为其杀菌的主要因素是其含有的微量次氯酸、过氧化氢和OH基^[4]。目前人们解释氧化电位水杀菌机理更偏向于有效氯化学说。在目前的消毒处理中,常采用化学制剂如洗必泰、过氧乙酸、戊二醛等,或物理方法如紫外线照射,虽然消毒效果能达到《消毒技术规范》要求,但消毒过程中,常产生刺激气味,对皮肤、眼球和呼吸道粘膜有不同程度刺激,甚至还可产生许多有毒物质,危害操作人员。因此,急需寻求和开发出一类无刺激无残毒的消毒液^[5]。据报道,氧化电位水便是一种无刺激无残毒的消毒液^[1,2],为此选择对日本INTEK公司制造的JAW02型氧化电位水生成机所制备的新鲜消毒液原液进行杀菌特性和安全性实验。实验表明,该氧化电位水原液对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌作用2 min杀灭率均可达99.99%,对枯草芽孢体作用20 min杀灭率可达99.12%。并表明,有机物(如小

牛血清)对该氧化电位水原液的杀菌效果有显著影响,提示在实际使用中,应尽量去除(如清洗)消毒对象上的有机物,才能保证消毒效果。稳定性实验显示,该氧化电位水原液放在 54 ± 1 °C温箱中,14 h后,再对金黄色葡萄球菌作用5 min,杀灭率仅为60.63%,表明该消毒液原液稳定性不好,提示在实际使用中应采用新鲜的氧化电位水,才能保证消毒效果。该消毒液原液经口急性毒性试验属无毒级,对皮肤、粘膜无刺激性。

综上所述,该氧化电位水原液是一种较好的消毒剂,消毒作用迅速。其突出优点是无臭无味,对人体无刺激性,在常温环境中,经光、温度等物理因素影响,较快还原成普通的水,对环境无污染,对物品无腐蚀作用,具有广阔的应用范围,但因稳定性不好,消毒时,应尽量采用制备的新鲜氧化电位水原液。

参考文献:

- [1] 林原正. 强酸性电解水消毒效果测定[J]. 医学检验, 1994, 43(3): 545.
- [2] 清水义信. 电解氧化水在院内感染防治中的应用[J]. 感染控制, 1995, 4(6): 81-85.
- [3] 李新武, 孙守宏, 李涛, 等. 酸化电位水对微生物的杀灭效果及其作用机理的初步研究[J]. 中华流行病学杂志, 1996, 17(2): 95-98.
- [4] 张颖, 肖旖旎. 强氧化离子水消毒灭菌效果临床研究[J]. 中国公共卫生管理, 1998, 14(6): 427-428.
- [5] 王国卿, 刘丽华, 冯晓玲. 强氧化离子水治疗严重创面感染的作用[J]. 中华医院感染学杂志, 1999, 9(3): 156-157.

(责任编辑 欧红叶)