

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20215724

· 论 著 ·

## 微酸性电解水实验室微生物杀灭效果研究

段弘扬, 王佳奇, 沈 瑾, 张 伟, 孙惠惠, 张流波, 班海群

(中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所消毒与感染控制中心, 北京 100021)

**[摘要]** **目的** 研究某微酸性电解水实验室微生物杀灭效果。**方法** 选取某次氯酸水发生器现制微酸性电解水, 测定不同有效氯含量、不同作用时间其对细菌繁殖体、芽孢以及真菌的杀灭效果。**结果** 该微酸性电解水有效氯含量为 34.3~118 mg/L, 有机干扰物牛血清白蛋白浓度为 3.0% 和 0.3% 时, 分别作用 1.0、3.0、5.0、10.0 min, 对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的平均杀灭对数值均 >5.00, 对白假丝酵母菌的平均杀灭对数值均 >4.00; 有效氯含量为 101~118 mg/L, 牛血清白蛋白浓度为 0.3% 时, 分别作用 5.0、10.0、30.0 min, 对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值均 >5.00。**结论** 在特定实验条件下, 该微酸性电解水对细菌的繁殖体、芽孢以及真菌均达到消毒剂消毒合格标准。

**[关键词]** 微酸性电解水; 微生物杀灭效果; 有效氯含量; 杀灭对数值; 消毒

**[中图分类号]** R187

## Microbial killing efficacy of slightly acidic electrolyzed water in laboratory

DUAN Hong-yang, WANG Jia-qi, SHEN Jin, ZHANG Wei, SUN Hui-hui, ZHANG Liubo, BAN Hai-qun (Department of Disinfection and Infection Control, National Institute of Environmental Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China)

**[Abstract]** **Objective** To study microbial killing efficacy of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) in laboratory. **Methods** SAEW produced by hypochlorous acid water generator was selected to determine the microbial killing efficacy of different available chlorine concentration and different action time on bacterial propagules, spores and fungi. **Results** When the available chlorine concentration in SAEW was 34.3–118 mg/L, concentration of organic interfering substance bovine serum albumin (BSA) were 3.0% and 0.3%, the average killing logarithm values for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* were all >5.00 after 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 minute contact time respectively, the average killing logarithm values for *Candida albicans* were all >4.00; when available chlorine concentration was 101–118 mg/L and concentration of BSA was 0.3%, the average killing logarithm values for spores of *Bacillus subtilis var. niger* were all >5.00 after 5.0, 10.0 and 30.0 minute contact time respectively. **Conclusion** Under specific experimental conditions, SAEW can meet the disinfection qualified standard of disinfectant for bacterial propagules, spores and fungi.

**[Key words]** slightly acidic electrolyzed water; microbial killing efficacy; available chlorine concentration; killing logarithm value; disinfection

近年来,酸性氧化电位水作为一种消毒剂在医疗卫生领域被越来越广泛的研究和应用<sup>[1-2]</sup>,并且制定了相应的安全与卫生标准<sup>[3]</sup>。同时,与酸性氧化电位水生成器原理、功能相似的微酸性电解水生成

器也已上市多年,不但应用于食品消毒,还用于环境和物体表面、瓜果蔬菜、手、皮肤、黏膜等消毒<sup>[4-6]</sup>。微酸性电解水 (slightly acidic electrolyzed water, SAEW) 是将软化水中加入低浓度盐酸和/或氯化

[收稿日期] 2020-06-21

[作者简介] 段弘扬(1987-),男(汉族),山西省临汾市人,助理研究员,主要从事消毒与感染控制研究。

[通信作者] 班海群 E-mail:banhaiqun@nieh.chinacdc.cn

钠,在有隔膜或无隔膜电解槽中电解后,生成的以次氯酸为主要杀菌成分的酸性水溶液<sup>[7]</sup>。SAEW 为无色透明液体,呈轻微氯味,pH 值在 5.0~6.5 之间。SAEW 于 20 世纪 90 年代末在日本首先研发,其杀菌机制在于次氯酸,次氯酸能损伤细胞膜,导致细胞内的蛋白酶、RNA 和 DNA 无法发挥正常的生化活性,致微生物死亡<sup>[8]</sup>。作为一种比酸性氧化电位水更环保、更安全的消毒剂,SAEW 在医疗卫生领域的进一步研究应用值得关注。然而,在国内标准中没有统一的 SAEW 管理规范 and 卫生技术要求,无法有效地指导其生产、经营、使用和监管。为更好地了解 SAEW 杀菌能力,为相关卫生标准的制订提供科学支撑,本研究选用某次氯酸水发生器产生的 SAEW,进行理化指标、实验室微生物杀灭效果研究,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 试验菌株 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、大肠埃希菌 8099、白假丝酵母菌 ATCC 10231、铜绿假单胞菌 ATCC 15442、枯草杆菌黑色变种芽孢 ATCC 9372,购自中国普通微生物菌种保藏管理中心。

1.1.2 消毒剂 试验用 SAEW 由某品牌次氯酸水发生器制备。

1.1.3 试验试剂 中和剂(含 0.1% 硫代硫酸钠、0.1% 吐温的生理盐水)、磷酸盐缓冲液(0.03 mol/L, pH7.2)、牛血清白蛋白(BSA)、胰蛋白胍大豆琼脂培养基、沙氏培养基、营养琼脂培养基等。

### 1.2 试验方法

1.2.1 有效氯含量的测定 试验前取现制某品牌 SAEW,按照《消毒技术规范》(2002 年版)中有效氯含量的测定方法进行检测<sup>[9]</sup>,试验时按不同有效氯含量 100、80、60、40 mg/L 依次分为 A、B、C、D 组。

1.2.2 菌悬液的制备 取金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、白假丝酵母菌 24 h 新鲜培养物和制备好的枯草杆菌黑色变种芽孢,用磷酸盐缓冲液配制成分成试验用菌悬液。

1.2.3 悬液定量杀菌试验 试验用 SAEW 均为现制现用,待产生的 SAEW 中有效成分处于稳定状态时,用 250 mL 磨口三角瓶接取满瓶后,盖好瓶盖,置(20 ± 1)℃ 水浴。试验用菌悬液分别加入 3% BSA 和 0.3% BSA 备用。按照《酸性电解水生成器

卫生要求》(GB 28234—2020)附录 A 进行试验<sup>[3]</sup>。试验重复 3 次,计算各组杀灭对数值。

1.2.4 评价标准 《酸性电解水生成器卫生要求》(GB 28234—2020)中规定:试验用细菌繁殖体和枯草杆菌黑色变种芽孢菌悬液菌量为(2.0~9.0) × 10<sup>9</sup> CFU/mL,白假丝酵母菌悬液菌量为(2.0~9.0) × 10<sup>8</sup> CFU/mL,SAEW 对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草杆菌黑色变种芽孢杀灭对数值 ≥ 5.00,对白假丝酵母菌杀灭对数值 ≥ 4.00,可判定为消毒合格。

## 2 结果

2.1 对细菌繁殖体、真菌的杀灭效果 次氯酸水发生器现制现用的 SAEW,经检测 A、B、C 和 D 组有效氯含量分别为 101~118、73.6~82.9、54.7~64.5、34.3~41.4 mg/L,在试验菌悬液 BSA 浓度分别为 3.0%、0.3% 时,分别作用 1.0、3.0、5.0、10.0 min,对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的平均杀灭对数值均 > 5.00,对白假丝酵母菌的平均杀灭对数值均 > 4.00。试验阴性对照均无菌生长,阳性对照金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌的菌量为(2.2~4.5) × 10<sup>7</sup> CFU/mL,大肠埃希菌的菌量为(2.1~4.5) × 10<sup>7</sup> CFU/mL,白假丝酵母菌的菌量为(1.0~4.4) × 10<sup>6</sup> CFU/mL。

2.2 对枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭效果 SAEW 仅在有效氯含量为 101~118 mg/L,牛血清白蛋白浓度为 0.3% 时,分别作用 5.0、10.0、30.0 min,对枯草杆菌黑色变种芽孢的平均杀灭对数值均 > 5.00。见表 1。

表 1 某 SAEW 对枯草杆菌黑色变种芽孢的杀灭效果

Table 1 Killing efficacy of SAEW on spores of *Bacillus subtilis* var. *niger*

分组	有效氯含量 (mg/L)	BSA 浓度 (%)	作用不同时间的平均杀灭对数值			
			3.0 min	5.0 min	10.0 min	30.0 min
A 组	101~118	3.0	无法计数	无法计数	无法计数	3.74
		0.3	4.93	>5.00	>5.00	>5.00
B 组	73.6~82.9	3.0	无法计数	无法计数	无法计数	无法计数
		0.3	无法计数	无法计数	4.12	4.86

注:“无法计数”是指平板上生长的菌落过多,甚至形成菌苔,无法看到清晰的菌落形态,故无法计算菌落数;阴性对照无菌生长;阳性对照菌量为(1.0~4.5) × 10<sup>7</sup> CFU/mL。

### 3 讨论

探索安全、有效和快速的消毒措施一直是消毒领域的研究热点。目前国际上公认的理想消毒剂的标准包括:杀菌谱广,作用迅速;性能稳定,便于储存和运输;无毒、无味、无刺激,无致畸、致癌、致突变作用;易溶于水,不着色,易去除,不污染环境,作用浓度低,使用方便等。随着多年的研究和实践,酸性氧化电位水以其杀菌谱广、迅速、使用方便、成本低的特点逐步得到应用。而与其生成原理、功能相似的 SAEW,其生成过程除生成有杀菌效果的有效氯外,不再产生氧气或臭氧,原料中可不含盐,使用后干燥也不会出现盐的浓缩结晶,另外其微酸性的特点决定对人体的危害更小,对物体几乎无腐蚀性。

SAEW 生成原理是将适量低浓度的稀盐酸和/或氯化钠水溶液加入到有隔膜或无隔膜式电解槽内,通过电解,在阳极生成氯气和  $H^+$ ,  $H^+$  溶于水使水呈酸性,pH 值为 5.0~6.5,氯气与水反应生成盐酸和次氯酸(HClO),阴极只生成氢气。与酸性氧化电位水相比,其不产生臭氧等副产物,pH 值接近于 7,对物体几乎无腐蚀性;并且以稀盐酸为原料,成本较低,生成产物随空气蒸发不易于在环境中残留,更加安全环保,目前已逐步应用于食品、农业、医疗等领域<sup>[10]</sup>。SAEW 对黄瓜表面的自然菌及大肠埃希菌杀菌效果显著,30 次消毒试验后的平均杀灭对数值分别达到 2.18、3.08<sup>[11]</sup>,是一种比较理想的食品消毒剂。我国于 2011 年颁布了关于酸性氧化电位水的国家安全与卫生标准,对于规范酸性氧化电位水生成器的使用起到了重要作用。然而,与其生成、功能相似的 SAEW 仍未进行条款规定,亟待开展大量相关研究提供科学支撑。

本研究选取某次氯酸生成器现制现用的 SAEW,探究不同有效氯含量、不同 BSA 浓度下其实验室杀菌效果。有效氯含量是 SAEW 杀菌的重要因素之一,在 SAEW 所处的 pH 值范围其有效氯以 HClO 分子为主,具有较高的杀菌能力<sup>[12]</sup>。国外相关研究<sup>[13]</sup>表明,SAEW(有效氯含量为 23 mg/L 时)可有效杀灭大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和沙门菌。Koide 等<sup>[14]</sup>研究指出,含有效氯为 4 mg/L 的 SAEW 可以完全杀灭沙门菌。本研究中,SAEW 有效氯含量在 34.3~118 mg/L,BSA 浓度为 3% 和 0.3% 时,作用 1.0、3.0、5.0、10.0 min,对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和白假丝酵母菌

的杀灭效果均达消毒合格标准;而对枯草杆菌黑色变种芽孢,仅当 SAEW 有效氯含量为 101~118 mg/L,BSA 浓度为 0.3% 时,作用 5.0、10.0、30.0 min,才能达到消毒合格标准。

作为一种更为环保、安全的消毒剂,SAEW 在空气消毒<sup>[15]</sup>、医院环境物体表面、口腔医疗、医务人员手及皮肤消毒等方面具有广阔的应用前景。SAEW 实验室微生物杀灭效果的研究,为 SAEW 在医疗卫生领域的应用提供了重要的科学支撑,探索有效氯含量以及有机干扰物对 SAEW 杀灭微生物效果的影响,对于指导其在临床医疗环境中的应用具有重要意义。本研究依据《酸性电解水生成器卫生要求》(GB 28234—2020)中的试验方法进行检测,在实验室特定环境条件下,该 SAEW 对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、白假丝酵母菌和枯草杆菌黑色变种芽孢均有杀灭效果。在非实验室特定环境条件下,其杀菌有效性,尤其是毒理安全性,仍需要大量的进一步的试验验证。

### [参考文献]

- [1] 赵凯丽,李武平,张晓娜,等.酸性氧化电位水对铜绿假单胞菌的杀菌机制研究[J].中国感染控制杂志,2017,16(1):41-45.
- [2] 罗廷刚,刘亚男,王晨宇,等.酸性氧化电位水在野战方舱医院感染控制中的应用[J].中国感染控制杂志,2018,17(9):819-822,830.
- [3] 中华人民共和国国家市场监督管理总局,中国国家标准化管理委员会.酸性电解水生成器卫生要求:GB 28234—2020[S].北京:中国标准出版社,2020.
- [4] 王燕,钱培芬.微酸性电解水用于手消毒的效果观察[J].护理学杂志,2014,29(5):4-5.
- [5] 张秋婷,林素丽,朱松明,等.超高压与微酸性电解水结合对鲜切果蔬的杀菌效果研究[J].农业机械学报,2017,48(3):338-344.
- [6] 黄凝,韩冰,沈瑾,等.微酸性电解水用于口腔综合治疗台水路消毒的效果观察[J].中华现代护理杂志,2016,22(24):3534-3537.
- [7] 孙芳艳,张伟博,钱培芬.微酸性电解水与氧化电位水的消毒效果比较[J].上海护理,2011,11(3):17-19.
- [8] 孙芳艳,钱培芬.微酸性电解水的临床应用与进展[J].上海护理,2011,11(2):66-69.
- [9] 中华人民共和国卫生部.医疗机构消毒技术规范:WS/T 367—2012[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [10] 辛鹏举,黄凝,孙惠惠,等.微酸性电解水对口腔综合治疗台水路持续消毒效果研究[J].中国消毒学杂志,2017,34(5):422-425.
- [11] 丁年平,夏枫耿,赵培静,等.微酸性电解水对黄瓜的消毒效

果及安全性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 930 - 934.

[12] 牛会平, 李慧颖, 吴彤娇, 等. 微酸性电解水与强酸性电解水消毒能力比较及分析[J]. 河北医药, 2018, 40(1): 124 - 126, 131.

[13] Issa-Zacharia A, Kamitani Y, Tiisekwa A, et al. In vitro inactivation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.* using slightly acidic electrolyzed water[J]. J Biosci Bioeng, 2010, 110(3): 308 - 313.

[14] Koide S, Shitanda D, Note M, et al. Effects of mildly heated, slightly acidic electrolyzed water on the disinfection and physicochemical properties of sliced carrot[J]. Food Control, 2011, 22(3/4): 452 - 456.

[15] 郑中华, 林孝昶, 朱松明, 等. 微酸性电解水雾化除菌效果研

究[J]. 中国消毒学杂志, 2016, 33(4): 312 - 314, 317.

(本文编辑:文细毛)

**本文引用格式:**段弘扬, 王佳奇, 沈瑾, 等. 微酸性电解水实验室微生物杀灭效果研究[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(3): 261 - 264. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20215724.

**Cite this article as:** DUAN Hong-yang, WANG Jia-qi, SHEN Jin, et al. Microbial killing efficacy of slightly acidic electrolyzed water in laboratory[J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(3): 261 - 264. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20215724.