

二氧化氯和超声波协同作用对鲜蛋表面消毒效果的研究

王耀峰^{1,2}, 宫智勇¹, 方敏¹, 刘良忠^{1,*}

(1. 武汉工业学院食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 武汉科技大学中南分校, 湖北 武汉 430223)

摘要: 研究二氧化氯(ClO_2)与超声波协同作用对鲜蛋表面大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀灭效果。二氧化氯浓度为 0、30、40、50、60 mg/L, 单独作用及在 59 kHz 超声波协同作用下分别处理 1、5、10 min。结果表明: 二氧化氯与超声波协同作用与二氧化氯单独作用相比, 处理时间 10 min, 对 3 个菌种的杀菌量 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$, 二氧化氯浓度从 60 mg/L 降低为 50 mg/L; 协同条件下二氧化氯浓度 50 mg/L, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的杀菌量 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$, 处理时间与单独作用相比从 10 min 缩短为 5 min。

关键词: 二氧化氯; 超声波; 消毒

Disinfection Effect of Chlorine Dioxide Combined with Ultrasonic Treatment on Egg Surface

WANG Yao-feng^{1,2}, GONG Zhi-yong¹, FANG Min¹, LIU Liang-zhong^{1,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Wuhan University of Science and Technology Zhongnan Branch, Wuhan 430223, China)

Abstract: In order to investigate the disinfection effect of chlorine dioxide combined with ultrasonic treatment on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* on egg surface, chlorine dioxide with various concentrations (0, 30, 40, 50 mg/L and 60 mg/L), with and without 59 kHz of ultrasound was used to treat eggs for 1, 5 min and 10 min, respectively. A synergistic effect of chlorine dioxide and 59 kHz of ultrasonic treatment on the death of bacteria on egg surface was observed. Bactericidal capacity of chlorine dioxide at the concentration of 50 mg/L assisted with 59 kHz of ultrasonic treatment for 10 min was more than 4.00 ($\lg(\text{CFU/ml})$) to three kinds of bacteria. Moreover, it was only required for 5 min to achieve 4.00 ($\lg(\text{CFU/ml})$) of bactericidal capacity to *E. coli* and *Staphylococcus aureus* under the combinatorial treatment of chlorine dioxide at the concentration of 50 mg/L associated with 59 kHz of ultrasound.

Key words: chlorine dioxide; ultrasound; disinfection

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)23-0150-04

鲜蛋由于母禽本身所带病菌的感染及贮运过程中微生物的侵染, 大多数蛋均带有细菌^[1]。研究表明, 市售鲜蛋每个蛋壳表面污染的杂菌数达 1423.1 万个^[2]。鲜蛋表面如果不及时消毒, 蛋壳表面的微生物在适宜的环境条件下会大量繁殖, 影响鲜蛋的品质。

二氧化氯(ClO_2)是目前国际上公认的高效 A1 级灭菌消毒剂, 它杀菌力极强、杀菌速度快、效率高、副产物少, 其毒理性与水同级, 非常适合作为食品中的杀菌消毒剂^[3-6]。超声波是常用的一种物理消毒手段, 其杀菌作用早有文献报道^[7-9], 具有杀菌速度较快, 对物

品无损害的优点, 但杀菌效果不易彻底, 目前主要用于辅助消毒。超声波与消毒剂的协同杀菌已有报道^[10], 本实验对二氧化氯单独作用及二氧化氯和超声波协同条件下对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀灭效果进行研究, 以期对鲜蛋表面消毒灭菌提供新的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡蛋为同批鲜蛋。

二氧化氯(食品级); 营养琼脂培养基按 GB/T 4798.2

收稿日期: 2009-07-21

基金项目: 武汉市科技攻关项目(200821422186; T200820422189-01)

作者简介: 王耀峰(1981—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品新资源开发及加工新技术。E-mail: 3009333@163.com

* 通讯作者: 刘良忠(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品新资源开发及加工新技术。E-mail: liu2022888@163.com

—2008 配制; 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌由本校生化实验室提供。

1.2 仪器与设备

SW-CJ-2FD 净化工作台 苏州净化设备有限公司;
DNP-9082 电热恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司;
SHA-C 恒温振荡器 常州国华电器有限公司;
SK2200LH 超声波清洗器 上海科导超声仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菌种培养

将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌在无菌条件下, 分别接入牛肉膏蛋白胨培养基中, 37℃ 下培养 12h, 制成菌悬液, 取 1ml 注入营养琼脂平板中, 37℃ 下培养 48h 后, 计数。

1.3.2 鲜蛋表面接种

将鲜蛋用自来水冲洗干净, 用吸水纸吸干水分后在超净工作台上紫外线照射 30min。用移液枪吸取 1ml 菌悬液点接在鲜蛋表面, 在超净工作台上干燥 30min 使菌体固定在鲜蛋表面。

1.3.3 ClO₂ 和超声波处理

接菌种的鲜蛋分别在二氧化氯消毒液单独作用及二氧化氯消毒液和 59kHz 超声波协同作用下做灭菌处理, 处理后用 10ml 无菌水将鲜蛋表面的菌体洗下, 制成菌悬液。取 1ml 菌悬液, 加入到牛肉膏蛋白胨营养琼脂培养基中, 37℃ 培养 48h, 平板计数。

杀菌量 = 蛋壳表面的接菌量 - 处理后蛋壳表面的含菌量

结果用对数值表示。

1.3.4 数据处理

采用 Excel 2003 和 SPSS 13.0 对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 二氧化氯单独作用及在超声波协同作用下的杀菌效果

由图 1~3 可知, 处理时间 10min, 随着二氧化氯消毒液浓度的逐渐增加, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀菌量不断增大。不同浓度的二氧化氯消毒液对 3 种菌的杀菌量都有所增加。在二氧化氯浓度为 30、40、50mg/L 时, 对大肠杆菌的杀灭效果, 超声波辅助杀菌与二氧化氯单独作用相比, 存在显著性差异($P < 0.05$); 对金黄色葡萄球菌, 二氧化氯浓度为 30、40、50、60mg/L 时, 超声波辅助杀菌与二氧化氯单独作用相比, 存在显著性差异($P < 0.05$); 对枯草芽孢杆菌, 超声波辅助杀菌与二氧化氯单独作用相比, 在各浓度下均存在显著性差异($P < 0.05$)。在二氧化氯浓度为 50mg/L 时, 在超声波协同作用下与二氧化氯单独作用相比, 大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的杀菌增

加量最大, 分别为 1.39(lg(CFU/ml))、0.84(lg(CFU/ml)), 而对金黄色葡萄球菌, 在二氧化氯浓度为 40mg/L 时, 两者相比杀菌增加量达到最大, 为 1.17(lg(CFU/ml))。无论是二氧化氯单独作用还是与超声波协同作用, 在相同处理条件下, 对 3 种菌的杀灭能力由强到弱均为大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌。在二氧化氯与超声波协同作用下, 大肠杆菌和枯草芽孢杆菌杀灭效果存在显著性差异($P < 0.05$), 而大肠杆菌与金黄色葡萄球菌, 金黄色葡萄球菌与枯草芽孢杆菌杀灭效果不存在显著性差异($P > 0.05$)。

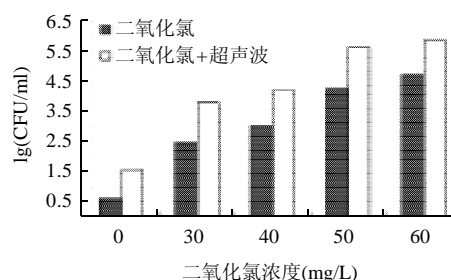


图1 二氧化氯单独作用及在超声波协同作用下杀灭大肠杆菌的效果比较
Fig.1 Disinfection effect comparison of chloride dioxide at individual treatment and combined with 59 kHz of ultrasonic treatment on *Escherichia coli*

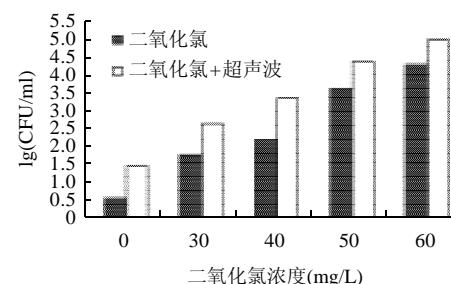


图2 二氧化氯单独作用及在超声波协同作用下杀灭金黄色葡萄球菌效果的比较

Fig.2 Disinfection effect comparison of chloride dioxide at individual treatment and combined with 59 kHz of ultrasonic treatment on *Staphylococcus aureus*

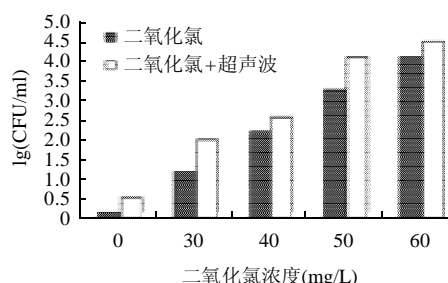


图3 二氧化氯单独作用及在超声波协同作用下杀灭枯草芽孢杆菌效果的比较

Fig.3 Disinfection effect comparison of chloride dioxide at individual treatment and combined with 59 kHz of ultrasonic treatment on *Bacillus subtilis*

2.2 处理时间对灭菌效果的影响

二氧化氯浓度为 0、30、40、50、60mg/L 分别与 59kHz 超声波协同作用, 不同的处理时间对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌杀灭效果的影响见图 4~6。

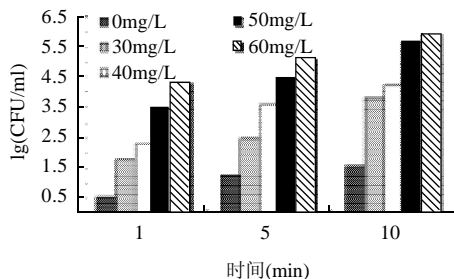


图4 不同浓度的二氧化氯分别与 59kHz 超声波协同作用不同时间对大肠杆菌杀灭效果

Fig.4 Disinfection effect comparison of chloride dioxide with various concentrations combined with 59 kHz of ultrasonic treatment on *Escherichia coli*

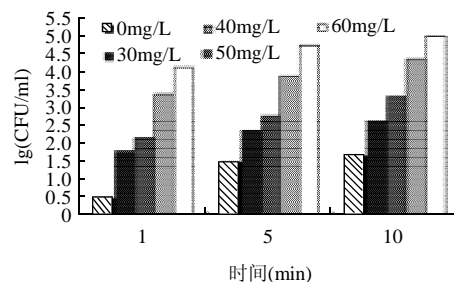


图5 不同浓度的二氧化氯分别与 59kHz 超声波协同作用不同时间对金黄色葡萄球菌杀灭效果

Fig.5 Disinfection effect comparison of chloride dioxide with various concentrations combined with 59 kHz of ultrasonic treatment on *Staphylococcus aureus*

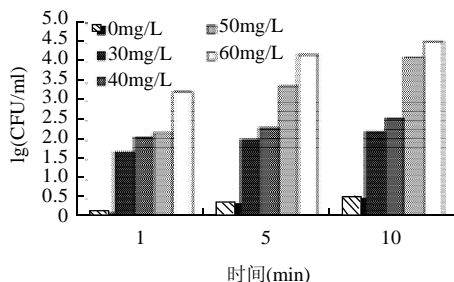


图6 不同浓度的二氧化氯分别与 59kHz 超声波协同作用不同时间对枯草芽孢杆菌杀灭效果

Fig.6 Disinfection effect comparison of chloride dioxide with various concentrations combined with 59 kHz of ultrasonic treatment on *Bacillus subtilis*

由图 4~6 可知, 在二氧化氯和超声波协同作用下灭菌, 二氧化氯相同的浓度下, 随着处理时间的增加, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀菌

量逐渐增大。在处理时间相同的条件下, 随着二氧化氯浓度的增大, 对三个菌种的杀菌量也逐渐增大。对 3 种菌, 二氧化氯浓度分别为 0、30、40、50、60mg/L 时处理时间 10min 与 1、5min 相比, 均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。对大肠杆菌, 处理时间 10min 与 5min 相比, 不存在显著性差异 ($P > 0.05$); 对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌, 除去对照组, 其他浓度下, 处理时间 10min 与 5min 相比, 均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。相同的处理时间下, 不同浓度的二氧化氯消毒液与 59kHz 超声波协同作用与对照组相比, 对 3 种菌的杀菌效果均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。二氧化氯与超声波协同作用下, 二氧化氯浓度为 40、50、60mg/L, 处理时间分别为 1、5、10min, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀菌量均 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$; 二氧化氯浓度为 60mg/L, 处理时间为 1min, 对枯草芽孢杆菌的杀菌量为 $(3.27 \pm 0.01)(\lg(\text{CFU/ml}))$, 二氧化氯浓度为 50、60mg/L, 处理时间分别为 5、10min, 对枯草芽孢杆菌的杀菌量均 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$ 。

二氧化氯单独作用, 处理时间为 10min, 二氧化氯浓度为 60mg/L, 对 3 种菌的杀菌量均 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$; 二氧化氯浓度为 50mg/L, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀菌量分别为 (4.27 ± 0.01) 、 (3.63 ± 0.07) 、 $(3.29 \pm 0.05)(\lg(\text{CFU/ml}))$ 。二氧化氯浓度为 50mg/L 与 59kHz 超声波协同作用, 处理时间 10min, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀菌量分别为 (5.67 ± 0.04) 、 (4.43 ± 0.02) 、 $(4.13 \pm 0.03)(\lg(\text{CFU/ml}))$; 与二氧化氯单独作用相比较有显著性差异 ($P > 0.05$)。

3 结论

超声波具有辅助杀菌作用, 实验结果表明, 处理时间 10min, 二氧化氯浓度为 50mg/L, 二氧化氯与超声波协同作用与二氧化氯单独作用相比, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的杀菌量分别由 (4.27 ± 0.01) 、 (3.63 ± 0.07) 、 $(3.29 \pm 0.05)(\lg(\text{CFU/ml}))$ 提高到 (5.67 ± 0.04) 、 (4.43 ± 0.02) 、 $(4.13 \pm 0.03)(\lg(\text{CFU/ml}))$ 。

在 59kHz 超声波协同作用条件下, 二氧化氯浓度为 50mg/L, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的杀菌量 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$, 处理时间由原来的 10min 缩短为 5min。二氧化氯浓度为 60、50mg/L, 处理时间 5、10min, 对枯草芽孢杆菌的杀菌量均 $> 4.00(\lg(\text{CFU/ml}))$ 。

无论是二氧化氯单独作用还是与超声波协同作用, 对 3 种菌的杀灭能力由强到弱为大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌。超声波处理对鸡蛋内部品质的影响还有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] PADRON M. Egg dipping in hydrogen peroxide solution to eliminate

- Salmonella typhimurium* from eggshell membranes[J]. Avian Dis, 1995, 39(3): 627-630.
- [2] 李晴云, 杜华锐, 蒋小松, 等. 鸡蛋微生物测定与分析[J]. 四川畜牧兽医, 2003, 30(5): 22-23.
- [3] LEE S Y, GRAY P M, DOUGHERTY R H, et al. The use of chlorine dioxide to control *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in aqueous suspension and on apples[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 92: 121-127.
- [4] LEE S Y, DANCER G I, CHANGA S S, et al. Efficacy of chlorine dioxide gas against *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores on apple surfaces[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 108: 364-368.
- [5] HAN Y, LINTON R H, NIELSEN S S, et al. A comparison of methods for recovery of chlorine dioxide-injured *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*[J]. Food Microbiology, 2002, 19: 201-210.
- [6] DU J, HAN Y, LINTON R H. Efficacy of chlorine dioxide gas in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on apple surfaces[J]. Food Microbiology, 2003, 20(12): 583-591.
- [7] BOUCHER R M G. Ultrasonics, a tool to improve biocidal efficacy of sterilants or disinfectands in hospital and dental practice[J]. Can J Pharm Sci, 1979, 14(1): 1-12.
- [8] AHMED F I K, RUSSELL C. Synergism between ultrasonic waves and hydrogen peroxide in the killing of microorganisms[J]. J Appl Bact, 1975, 39(1): 31-40.
- [9] SIERRA G, BOUCHER R M G. Ultrasonic synergistic effects in liquid-phase chemical sterilization[J]. Applied Microbiology, 1971, 22(2): 160-164.
- [10] 郁世芳, 肖慧兵, 俞静芳, 等. 超声波与消毒剂协同杀菌作用的实验研究[J]. 中国消毒学杂志, 1991, 8(2): 100-102.