

微酸性电解水对黄瓜的消毒效果及安全性评价

丁年平*, 夏枫耿, 赵培静, 张增峰, 张显勇

(广州市微生物研究所, 广州工业微生物检测中心, 广州 510663)

摘要: **目的** 评价微酸性电解水对黄瓜的消毒效果及安全性能。**方法** 以黄瓜为载体, 以大肠杆菌及黄瓜表面的自然菌为指标菌, 探究微酸性电解水的消毒效果, 并通过一次性皮肤刺激试验及急性经口毒性试验, 评价其安全性能。**结果** 1%大豆卵磷脂、1%硫代硫酸钠、3%吐温 80 的复配使用能有效中和有效氯浓度为 50 mg/L、pH 值为 6.5 的微酸性电解水; 微酸性电解水对黄瓜表面的自然菌及添加的大肠杆菌的杀菌效果显著, 30次消毒试验后的平均杀灭对数值分别达到 2.18 和 3.08; 微酸性电解水小鼠急性经口毒性评价属实际无毒级别, 家兔皮肤刺激强度属无刺激。**结论** 微酸性电解水对黄瓜表面的消毒效果显著, 且安全、绿色、环保, 是一种比较理想的食物消毒剂。

关键词: 食品污染; 微酸性电解水; 消毒效果; 安全性能

Disinfection effect and safety evaluation of slightly acidic electrolyzed water on cucumber

DING Nian-Ping*, XIA Feng-Geng, ZHAO Pei-Jing, ZHANG Zeng-Feng, ZHANG Xian-Yong

(Guangzhou Industry Microbe Test Center, Guangzhou Institute of Microbiology, Guangzhou 510663, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the disinfection effect and safety performance of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) on cucumber. **Methods** The cucumber was chosen as sample, while *Escherichia coli* and natural bacteria were chosen as the indicator bacteria. The disinfection effect of slightly acidic electrolyzed water was analyzed and the safety performance was evaluated by the skin irritation test and oral toxicity test. **Results** The combination of 1% soybean lecithin, 1% sodium thiosulfate, 3% Twain 80 could effectively neutralize the SAEW whose effective chlorine concentration was 50 mg/L and pH value was 6.5. The disinfection effect of SAEW on natural bacteria and *Escherichia coli* was remarkable, the killing log value reached 2.18 and 3.08, respectively. The result of acute toxicity evaluation was actual non-toxic substance, and the skin irritation intensity was no stimulation. **Conclusion** The SAEW has good efficacy in killing bacteria on cucumber, and it is an ideal food disinfectant which is safe, green and environmentally friendly.

KEY WORDS: food contamination; slightly acidic electrolyzed water; disinfection effect; safety performance

1 引言

近年来, 随着经济的发展和人们生活水平的不断提高, 食品安全问题成为人们关注的热点, 其中, 食品污染

尤其是微生物污染对食品安全的影响较大^[1-3]。微生物污染包括细菌性污染和病毒、真菌及其毒素的污染, 而细菌性污染是涉及面最广、影响最大、问题最多的一种污染, 如大肠杆菌、沙门氏菌、副溶血性弧菌、志贺菌、葡萄球菌

*通讯作者: 丁年平, 硕士, 工程师, 主要研究方向为微生物检测及方法研究。E-mail: 290369400@qq.com

*Corresponding author: DING Nian-Ping, Master, Engineer, Guangzhou Industry Microbe Test Center, Guangzhou Institute of Microbiology, Guangzhou 510663, China. Email: 290369400@qq.com

引起的食品污染等,会导致食品变质,甚至产生毒素引发食物中毒,严重危害人类健康。

食品消毒是减少微生物污染的重要手段,消毒方法包括辐射、热力、压力、臭氧、消毒水等,其中,紫外辐射、高温高压和臭氧消毒技术比较成熟,但在设备清洗、维护、操作等方面有一定限制,而使用消毒水操作简单、方便,应用范围广^[4]。酸性电解水(acidic electrolyzed water, AEW)是近年来由日本开发的一种新的消毒水,通过电解含有氯离子的原水所得阳极出水。酸性电解水具有高氧化还原电位和低 pH 值,同时含有一定量的有效氯和活性氧等,具有很强杀菌作用的功能,且具有广谱、强效、快速、安全、对环境无污染等优点,因此在食品行业中得到广泛应用,如对食品加工设备、蔬菜、水果、肉类、水产品等的杀菌等^[5-9]。酸性电解水分为强酸性电解水(pH<2.7)和弱酸性电解水(pH5~6.5),目前国内的研究主要集中在强酸性电解水对食品的消毒及果蔬的保鲜上,由于微酸性电解水相对于强酸性电解水来说更温和,关于其消毒效果尤其是对果蔬表面的消毒效果的研究较少,其安全性方面的研究也鲜有报道^[10-12],因此亟需完善其对食品的消毒效果及安全性能的研究。

本研究以黄瓜为代表样,以大肠杆菌、自然菌为指标菌,研究弱酸性电解水的消毒效果,并通过一次性皮肤刺激试验及口服毒性试验,研究其安全性能,为微酸性电解水在食品消毒领域的发展提供数据支撑。

2 材料与方 法

2.1 仪器、材料与试剂

EWP-003C 型微酸性电解水发生器(有效氯浓度为 50 mg/L, pH 6.5)。

菌种:大肠杆菌 8099(广东省种质资源库)。

大豆卵磷脂(广东环凯微生物科技有限公司);硫代硫酸钠(分析纯,西陇科学股份有限公司);吐温 80(分析纯,天津大茂化学试剂厂);磷酸氢二钠、磷酸氢二钾(化学纯,广州化学试剂厂);普通营养琼脂培养基、伊红美蓝培养基(北京陆桥技术有限责任公司)。

实验动物:

1)20 只 SPF 级昆明种小鼠(10 只雌性和 10 只雄性),体重 18.0~20.0 g;实验动物和饲料购自广东省医学试验动物中心。

2)4 只普通级新西兰白色家兔(2 只雌性和 2 只雄性),由广州中医药大学(大学城)实验动物中心提供(实验动物生产许可证编号:SCXK(粤)2013-0020)。实验动物体重 2.1~2.4 kg。

2.2 实验方法

2.2.1 中和剂鉴定

依据《消毒技术规范》(2002 年版)2.1.1.5 中和剂鉴定

试验方法进行试验^[12],选取含菌量为 $1 \times 10^3 \sim 3 \times 10^3$ CFU/mL 的菌悬液进行中和剂初选实验,选取菌含量为 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ CFU/mL 的菌悬液进行中和剂鉴定试验。

2.2.2 瓜果蔬菜消毒实验

(1)大肠杆菌消毒效果测试

将黄瓜清洗干净后,在表面划出 25 cm² 大小的区域,用 100 μL 菌悬液均匀涂抹,自然晾干后,将黄瓜放入微酸性电解水中浸泡 5 min 后,取出用棉拭涂抹法进行采样,剪断拭子棉花端,置于 5 mL 中和剂中进行活菌培养计数作为实验组,阳性对照染菌后用无菌水代替酸性电解水浸泡 5 min,取样、用伊红美蓝选择性培养基进行培养、计数同实验组操作。实验重复 30 次。

(2)自然菌消毒效果测试

将黄瓜同一区域表面划出 2 个 25 cm² 大小的区域 A 和 B,其中 A 为阳性对照组,用棉拭涂抹法进行采样,剪断拭子棉花端,置 5 mL PBS 稀释液中洗脱后,进行活菌培养计数(使用营养琼脂培养基);B 为实验组,放入微酸性电解水中浸泡 5 min 后,用棉拭涂抹法进行采样,剪断拭子棉花端,将其置于 5 mL 中和剂中进行活菌培养计数(使用营养琼脂培养基)。

消毒效果用杀灭对数值表示,计算公式如下:

杀灭对数值=Lg 阳性对照样菌落数-Lg 试验样菌落数

2.2.3 安全性评价

(1)急性经口毒性试验

称取新鲜制备的微酸性氧化电解水 5000 mg,加蒸馏水至 20 mL,充分混匀,按此比例配制成供试液。按 0.2 mL/10 g 体重的量经口灌胃给予供试液,灌胃前动物禁食 4 h,自由饮水。灌胃后给予正常饮食。实验观察 14 d,每天记录中毒症状及死亡情况,计算半数致死量(median lethal dose),简称 LD₅₀(lethal dose, 50%)

(2)一次完整皮肤刺激试验

选 4 只健康成年新西兰兔,试验前 24 h 将实验动物背部脊柱两侧毛剃掉,不损伤皮肤。去毛范围约 3 cm×3 cm。次日将新鲜制备的微酸性电解水 0.5 mL 直接涂在一侧去毛皮肤上,用同等大小的 2 层纱布敷贴在皮肤上,另一侧作为空白对照,作用 4 h,去除纱布后 1、24、48 h 观察皮肤局部反应并进行评分。

3 结果与分析

3.1 中和剂鉴定结果

以大肠杆菌为细菌代表菌,通过中和剂鉴定实验测定了 1%大豆卵磷脂、1%硫代硫酸钠、3%吐温 80 对微酸性电解水的中和效果,结果见表 1。由结果可知,第 2 组菌落数比第 1 组菌落数高出 5 个以上;3、4、5 组菌落数在 $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$ CFU/mL 之间,且 3 次重复试验组间菌落数误差率较小,分别为 3.02%、1.93%、3.29%;参照《消毒技

术规范》(2002年版)2.1.1.5的评价规定^[12], 1%大豆卵磷脂、1%硫代硫酸钠、3%吐温-80能有效中和有效氯浓度为50 mg/L的微酸性电解水。

在微生物消毒实验中,中和剂的作用是终止消毒剂的杀菌作用,以便能准确获得消毒剂在一定时间内的杀菌结果。常用的中和剂包括硫代硫酸钠、吐温-80、大豆卵磷脂、甘氨酸、巯基醋酸钠等。在实际的使用中,常将几种中和剂复配使用以达到最佳中和效果,其中,硫代硫酸钠、吐温-80、大豆卵磷脂为复合消毒剂常用的中和剂,对含氯(碘)消毒剂、过氧乙酸、过氧化氢、季胺盐、酚等均有较好的中和效果^[14,15]。

表1 中和剂鉴定试验结果
Table 1 Results of neutralizer identification test

组别	组别说明	大肠杆菌菌落数(CFU/mL)		
		试验1	试验2	试验3
1	消毒剂+菌悬液	< 10	< 10	< 10
2	(消毒剂+菌悬液)+中和剂	2.80×10 ²	2.70×10 ²	2.60×10 ²
3	中和剂+菌悬液	2.18×10 ⁷	2.24×10 ⁷	2.12×10 ⁷
4	(消毒剂+中和剂)+菌悬液	2.32×10 ⁷	2.37×10 ⁷	2.28×10 ⁷
5	稀释液+菌悬液	2.35×10 ⁷	2.30×10 ⁷	2.29×10 ⁷
6	稀释液+中和剂+培养基	< 1	< 1	< 1
3、4、5组组间差异(%)		3.02	1.93	3.29

注: 组间菌落数误差率 = $\frac{(\text{三组间菌落平均数} - \text{各组菌落平均数}) \text{的绝对值之和}}{3 \times \text{三组间菌落平均数}} \times 100\%$ 。

3.2 对黄瓜的消毒效果

实验测试了新鲜制备的微酸性电解水对黄瓜表面自然菌及大肠杆菌的消毒效果,结果见表2。由表2可以看出,新鲜制备的微酸性电解水作用5 min,对大肠杆菌的30次消毒杀灭对数值平均值为3.08,且均大于3;对自然菌的30次消毒杀灭对数值均平均值为2.18,且均大于1;根据《消毒技术规范》(2002年版)2.1.2.9及2.1.2.10评价规定^[12],微酸性电解水对黄瓜表面的消毒效果显著。

一般情况下,电解水中的氯以3种形式存在,Cl₂、次氯酸根(OCl⁻)和次氯酸分子(HClO),其中,HClO的杀菌效果最强,其杀菌能力是OCl⁻的80倍左右。在接近中性(5.0~6.5)的pH值范围内,微酸性电解水中的有效氯几乎完全以次氯酸分子(HClO)的形式存在,且Cl⁻浓度极低。因此,结合实验结果发现,微酸性电解水对黄瓜表面的自然菌和大肠杆菌均有较好的杀菌效果,是一种理想的食品消毒剂。

3.3 安全性评价

微酸性电解水的小鼠急性经口毒性试验表明,14 d观察期内,20只受试动物活动正常,毛色光泽度好,未见任何中毒体征和死亡。14 d后处死动物,对尸体进行解剖并肉眼观察各脏器情况,未见异常。微酸性电解水的小鼠急性经口毒性LD₅₀大于5000 mg/kg体重,根据《消毒技术规范》2002版的急性毒性评价规定^[13],属实际无毒级物质。

同时,对家兔的一次完整皮肤刺激试验结果表明,微酸性电解水对家兔的一次完整皮肤刺激反应得分为0,根据皮肤刺激强度分级标准,家兔对微酸性电解水无刺激性反应。

表2 微酸性电解水对黄瓜的消毒效果
Table 2 The disinfection effect of slightly acidic electrolyzed water on cucumber

大肠杆菌				自然菌			
序号	杀灭对数值	序号	杀灭对数值	序号	杀灭对数值	序号	杀灭对数值
1	3.1	16	3.14	1	2.35	16	1.99
2	3.05	17	3.08	2	2.26	17	2.43
3	3.14	18	3.05	3	2.15	18	2.01
4	3.08	19	3.16	4	2.10	19	2.00
5	3.06	20	3.03	5	2.27	20	2.43
6	3.11	21	3.1	6	2.05	21	2.47
7	3.04	22	3.05	7	2.46	22	2.18
8	3.12	23	3.12	8	2.39	23	2.00
9	3.04	24	3.15	9	2.33	24	2.07
10	3.08	25	3.13	10	2.04	25	2.06
11	3.07	26	3.04	11	2.25	26	2.29
12	3.01	27	3.06	12	1.93	27	2.19
13	3.07	28	3.04	13	2.08	28	2.39
14	3.12	29	3.12	14	2.13	29	2.20
15	3.09	30	3.08	15	1.97	30	2.02
平均值 3.08				平均值 2.18			

4 结论与讨论

食品的微生物污染是指食品在加工、运输、贮藏、销售过程中被微生物及其毒素污染。它一方面降低了食品的卫生质量,另一方面对食用者可造成不同程度的伤害,因此,食品在加工、运输、贮藏、销售过程中的消毒显得尤为重要。微酸性电解水是采用无离子交换膜电解方式电解稀盐酸或食盐水而得到的具有特殊理化性质的电解水, pH 值接近中性(5.0~6.5),消毒效果佳,且不易产生抗体,安全、绿色、环保,是食品领域中一种比较理想的消毒剂。

本研究以黄瓜为瓜果蔬菜的代表样,以自然菌和大肠杆菌为指标菌,针对消毒剂的中和剂、消毒效果、安全性能展开了实验。结果表明,1%大豆卵磷脂+1%硫代硫酸钠+3%吐温 80 能有效中和有效氯含量 50 mg/L、pH 6.5 的微酸性电解水。张竞立等^[11]验证了 0.1%硫代硫酸钠的胰蛋白酶生理盐水溶液能有效中和强酸性电解水。李虹霖等^[16]提出硫代硫酸钠主要用于过氧化物、含氯(碘、溴)消毒剂等残留物的去除,而吐温 80 和大豆卵磷脂为表面活性剂,与硫代硫酸钠复配使用中和效果更好,与本研究结果相近。

同时,微酸性电解水对黄瓜表面的自然菌以及接种的大肠杆菌的杀菌效果显著,杀灭对数值分别达到了 2 和 3 以上。于晓霞^[7]研究了强酸性电解水对鲜切果蔬的杀菌和保鲜效果,结果表明,有效氯含量为 12.61、30.38、50.54 mg/L 的强酸性电解水浸泡 10 min,对鲜切菠萝表面接种的致病菌杀灭对数值分别为 1.89、2.40、3.01。本研究采用的是 50 mg/L 有效浓度的微酸性电解水,作用 5 min 后,对大肠杆菌的杀灭对数值达到 3.08,与于晓霞研究中 50.54 mg/L 强酸性电解水作用 10 min,杀灭对数值为 3.01 相比,作用时间减少一半,即在相同有效氯浓度下,微酸性电解水比强酸性电解水的杀菌时间更短。

目前对于酸性电解水安全性能的研究较少,本研究对微酸性电解水的急性经口毒性和一次性皮肤刺激进行了评价。结果表明,微酸性电解水安全、无毒、无刺激。由于安全性能方面仅进行了急性口服毒性和一次性皮肤刺激两项常规试验,在以后的研究中,可开展其他食品类的现场消毒效果研究以及进一步完善安全性能评价,如致突变、慢性毒性试验等,为微酸性电解水的推广提供更完善的数据支撑。

参考文献

- [1] 朱共德. 食品安全与措施[J]. 轻工科技, 2017, 222(5): 125-126.
Zhu GD. Food safety and measures [J]. Light Ind Sci Technol, 2017, 222(5): 125-126.
- [2] 王艳, 汤建华, 马驰原. 食品安全与环境污染[J]. 科技经济导刊, 2017, 18: 142.
Wang Y, Tang JH, Ma CY. Food safety and environmental pollution [J]. Technol Econ Guid, 2017, 18: 142.
- [3] Huang YR, Hsieh HS, Lin SY, et al. Application of electrolyzed oxidizing water on the reduction of bacterial contamination for seafood [J]. Food Control, 2006, 17: 987-993.
- [4] 田麟. 酸性氧化电位水的制备优化与杀菌效果研究[D]. 上海: 同济大学, 2008.
Tian L. Study on generation optimization and sterilization effect of electrolyzed oxidizing water [D]. Shanghai: Tongji University, 2008.
- [5] 杜苏萍, 张昭寰, 姜阳, 等. 酸性电解水结合超高压技术对虾仁中副溶血性弧菌风险降低的研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(11): 146-148.
Du SP, Zhang ZH, Lou Y, et al. Risk reduction assessment of combined acidic electrolyzed water and high hydrostatic pressure effects on *Vibrio parahaemolyticus* in shelled shrimp [J]. Mod Food Sci Technol, 2016, 32(11): 146-148.
- [6] 乔永祥, 谢晶, 雷昊, 等. 酸性电解水联合气调包装对鲜切生菜品质的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(2): 111-115.
Qiao YX, Xie J, Lei H, et al. Effect of acidic electrolytic water combined with modified atmosphere packaging on the quality of fresh-cut lettuce [J]. Food Mach, 2017, 33(2): 111-115.
- [7] 于晓霞. 酸性电解水对鲜切果蔬杀菌和保鲜效果的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
Yu XX. Study on sterilization and preservation of fruits and vegetables using acidic electrolyzed oxidizing water [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015.
- [8] 赵艳玲. 微酸性电解水对消毒剂三种标准指示菌的杀菌性能试验[D]. 北京: 中国农业大学, 2012.
Zhao YL. Bactericidal efficiency of slightly acidic electrolyzed water on the three index bacteria [D]. Beijing: China Agricultural University, 2012.
- [9] 谢军, 孙晓红, 潘迎捷, 等. 酸性电解水及其在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 366-367.
Xie J, Sun XH, Pan YJ, et al. Acidic electrolyzed water and its application in the food industry [J]. Sci Technol Food Ind, 2010, 31(2): 366-367.
- [10] 支欢欢, 李小娟, 刘琦琦, 等. 微酸性电解水结合钙处理对采后桃果实组织结构及水分迁移的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 279-278.
Zhi HH, Li XJ, Liu QQ, et al. Effect of slightly acidic electrolyzed water in combination with Ca(NO₃)₂ on tissue structure and water mobility of peach fruit during storage [J]. Sci Technol Food Ind, 2017, 38(18): 279-278.
- [11] 张竞立, 石笛, 杨础华, 等. 酸性氧化电位水对生鲜食品消毒的试验观察[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(3): 524-525.
Zhang JL, Shi D, Yang CH, et al. Observation on germicidal efficacy of electrolyzed oxidizing water in fresh food [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(3): 524-525.
- [12] 胡朝晖, 吴彤娇, 李慧颖, 等. 微酸性电解水用于鲜切莲藕杀菌处理的实验研究[J]. 河北工业科技, 2016, 33(1): 40-41.
Hu ZH, Wu TJ, Li HY, et al. Experimental study on the disinfection of fresh-cut lotus root using slightly acidic electrolyzed water [J]. Hebei J Ind Sci Technol, 2016, 33(1): 40-41.
- [13] 消毒技术规范[S].
Disinfection technical specification [S].
- [14] 王余华, 赖发伟, 曾文明. 中和剂及中和产物对戊二醛消毒剂杀菌试验结果的影响研究[J]. 中国消毒学杂志, 2017, 34(1): 25-27.
Wang YH, Lai FW, Zeng WM. Study on the influence of neutralizer and

neutralization products on sterilization results of glutaraldehyde disinfectant [J]. Chin J Disinf, 2017, 34(1): 25-27.

(责任编辑: 王婷婷)

- [15] 章迎春, 陆永梅, 张雁, 等. 改进中和剂鉴定试验方法的研究[J]. 中国消毒学杂志, 2011, 28(3): 281-282.

Zhang YC, Lu YM, Zhang Y, *et al.* Research on the experimental method of improved neutralizer identification [J]. Chin J Disinf, 2011, 28(3): 281-282.

- [16] 李虹霖, 陈昭斌, 陈倩. 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯中和剂的刷选研究[J]. 中国消毒学杂志, 2017, 34(1): 21-24.

Li HL, Chen ZB, Chen Q. Study on neutralizer selection of iodopropynyl butylcarbamate [J]. Chin J Disinf, 2017, 34(1): 21-24.

作者简介



丁年平, 硕士, 工程师, 主要研究方向为微生物检测及方法研究。
E-mail: 290369400@qq.com

“食品中持久性有机污染物研究”专题征稿函

当前, 生态环境持续恶化问题已经引起国际社会的高度重视, 从全球范围内看, 环境污染问题的加剧, 给人类的身体健康带来了极大的威胁, 在此背景下, 各国政府针对环境污染对人类身体健康所带来的危害与影响问题加大了研究力度, 并以专门机构与部门的设置为进一步解决环境问题探寻出路。而持久性有机污染物(POPs)在农药中的运用, 使得农产品农药污染问题加剧, 并引起了社会的高度重视。

鉴于此, 本刊特组织“食品中持久性有机污染物研究”专题, 由湖北省疾病预防控制中心 闻胜 老师担任专题主编, 主要围绕持久性有机污染物的分析鉴定方法、化学与生物检测技术、迁移转化降解机制、累积机理和演化规律、生态毒理效应、生物标志物技术和风险评价方法、控制、消减与消除技术等或您认为本领域有意义的问题进行论述。本专题计划在 2018 年 5 月出版。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 专题主编闻胜教授及主编吴永宁研究员特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在 **2018 年 4 月 30 日** 前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部