

# 二氧化氯对几种食源性致病菌杀灭效果的试验观察

傅鹏<sup>1,2</sup> 许雅棋<sup>1</sup> 邓金花<sup>1,2\*</sup>

1. 广东环凯生物技术有限公司 广东韶关 512029

2. 广东环凯微生物科技有限公司 广东广州 510663

**摘要** 为试验二氧化氯消毒液对几种来源于肉制品的食源性致病菌的杀灭作用,采用悬液定量杀菌试验的方法进行评价。结果表明,在有机干扰物存在时,浓度为24mg/L的二氧化氯作用5min,对单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌和沙门氏菌的杀灭对数值均大于5.00。不存在有机干扰物的情况下,浓度为24mg/L的二氧化氯作用10min,对蜡样芽孢杆菌芽孢的杀灭对数值仍小于5.00。相比于其他3种细胞繁殖体,单核细胞增生李斯特氏菌表现出更强的二氧化氯耐受性。芽孢比细菌繁殖体的抵抗力更强。

**关键词** 二氧化氯 食源性致病菌 单核细胞增生李斯特氏菌

## Experimental observation on the killing effect of chlorine dioxide on several kinds of food-borne pathogenic bacteria

FU Peng XU Yaqi DENG Jinhua

**Abstract** To observe the killing effect of chlorine dioxide on several kinds of food-borne pathogenic bacteria isolated from meat products, the suspension quantitative sterilization experiment was adopted to evaluate. The results showed that when organic interfering substance existed, and chlorine dioxide at a concentration of 24mg/L acted as 5 min, and the log killing values for *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella* were all greater than 5.00. When organic interfering substance did not exist, and chlorine dioxide at a concentration of 24mg/L acted as 10 min, and the log killing values for *Bacillus cereus* spores was lesser than 5.00. Compared with the other three kinds of cell propagules, *Listeria monocytogenes* showed stronger tolerance to chlorine dioxide. Spores were more resistant than bacterial propagules.

**Key words** chlorine dioxide; food-borne pathogens; *Listeria monocytogenes*

生肉是人类肠道致病菌包括沙门氏菌(*Salmonella*)、弯曲杆菌(*Campylobacter*)、小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)、产毒性大肠杆菌(*Escherichia coli*) O157:H7以及单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)等的重要载体<sup>[1]</sup>,其他一些食源性致病菌,如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)和蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)也存在于一些

生肉制品中。这些微生物不仅在我国市售产品的抽检中被发现<sup>[2]</sup>,也在进口产品的微生物污染调查中被检出<sup>[3]</sup>,它们主要是在屠宰、分割、加工、运输和零售过程中污染的,如果在随后的储存、解冻、加工或烹饪等处理过程中处置不当,则会引起食源性疾病而威胁身体健康;在国内国际贸易中,也会由此导致经济损失。

二氧化氯是一种广谱高效的强氧化型杀菌剂,被广泛用于食品加工的环境、器具等的消毒,观察二氧化氯对这些食源性致病菌的杀灭效果具有现实

收稿日期:2021-03-25

基金项目:食品微生物安全高效控制技术产品产业化(广东省省级科技计划项目 200729096270283)

作者简介:傅鹏(1982-),男,硕士,工程师,研究方向为食品生产过程的微生物污染与控制, E-mail: zgfp82@126.com

\* 通讯作者:邓金花(1971-),女,学士,教授级高工,研究方向为化学消毒剂的研究开发, E-mail: hkdjh@126.com

意义,可对屠宰厂或肉制品加工厂的消毒提供指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验菌株

采用广东省微生物研究所从全国市场采样分离得到并经过鉴定、保存的菌株。具体为:小 肠结肠炎耶尔森氏菌(FSCC 234150;冻鸡翅)、沙 门氏菌(FSCC 21501418;鸡肉)、金黄色葡萄球 菌(FSCC 22301357;鸡肉)、单核细胞增生李 斯特氏菌(FSCC 17802589;冻鸡翅)、蜡样芽 孢杆菌(FSCC 11502697;猪肉)。

试验菌株制备成相应的菌悬液或芽孢悬液 备用。

### 1.2 消毒剂

试验采用二氧化氯消毒液(广东环凯微生物科 技有限公司生产)按产品说明书活化后,用无菌标 准硬水稀释成试验浓度的1.25倍浓度,采用二氧化 氯比色计(S-307,广东环凯微生物科技有限公司) 测定浓度(浓度范围控制在 $\pm 1\text{mg/L}$ )。

### 1.3 试剂

#### 1.3.1 有机干扰物

牛血清白蛋白(上海源叶生物)3%;溶解后用微 孔滤膜,孔径为 $0.45\mu\text{m}$ ,过滤除菌,冰箱保存备用。

#### 1.3.2 标准硬水(硬度 $342\text{mg/L}$ )

氯化钙( $\text{CaCl}_2$ ) $0.034\text{g}$ ,氯化镁( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )  $0.139\text{g}$ ,蒸馏水加至 $1\,000\text{mL}$ 。分装后用高压灭菌锅 (HIRAYAMA,日本) $121^\circ\text{C}$ , $15\text{min}$ 灭菌备用。

#### 1.3.3 稀释液(胰蛋白胨生理盐水溶液,TPS)

胰蛋白胨(广东环凯) $1.0\text{g}$ ,氯化钠 $8.5\text{g}$ ;蒸馏 水加至 $1\,000\text{mL}$ ,分装后 $121^\circ\text{C}$ , $15\text{min}$ 高压灭菌 备用。

#### 1.3.4 中和剂

硫代硫酸钠 $0.2\%$ ,卵黄卵磷脂(广东环凯)  $0.3\%$ ;吐温80, $1.0\%$ 的PBS溶液(无水磷酸氢二钠  $2.83\text{g}$ 、磷酸二氢钾 $1.36\text{g}$ ,蒸馏水加至 $1\,000\text{mL}$ )。  $121^\circ\text{C}$ , $15\text{min}$ 高压灭菌备用。

其余未经说明的化学试剂均为广州化学试剂厂 产品。

## 1.4 中和剂鉴定

中和剂鉴定按照消毒技术规范<sup>[4]</sup>(卫生部卫生 法制与监督司,2002)中2.1.1.5的要求进行,以确 定所选的中和剂是否适用于拟进行的悬液定量杀菌 试验。

## 1.5 悬液定量杀菌试验

采用悬液定量杀菌试验评价二氧化氯对试验 菌株的杀灭效果,方法按照消毒技术规范<sup>[4]</sup>(卫生 部卫生法制与监督司,2002)中2.1.1.7.4的要求 进行。

## 2 结果与讨论

### 2.1 中和剂鉴定结果

以小肠结肠炎耶尔森氏菌为对象的中和剂鉴定 试验结果表明,中和剂、消毒剂 and 中和剂的中和产物 对试验菌没有抑菌作用,且中和剂能有效中和最高 杀菌试验浓度,中和剂和中和产物对试验菌和培养 基无影响。由此判定 $0.2\%$ 硫酸硫酸钠, $0.3\%$ 卵黄 卵磷脂和 $1.0\%$ 吐温80的PBS溶液,可以作为本试 验的中和剂使用。

### 2.2 对细菌繁殖体的悬液定量杀菌试验结果

二氧化氯对4种细菌繁殖体的杀灭效果如表1 所示。浓度为 $8\text{mg/L}$ 的二氧化氯作用 $1\text{min}$ 对4种 细菌繁殖体的作用效果均有限,悬液定量杀菌试验 的杀灭对数值均 $<3$ 。从试验的作用时间来看,在低 浓度下,延长时间并不能增加杀灭效果,杀灭对数值 在同一水平线上。

单核细胞增生李斯特氏菌似乎表现出比其他 3种细菌繁殖体更强的二氧化氯抵抗性。浓度为  $16\text{mg/L}$ 的二氧化氯对其杀灭对数值仍 $<4$ ,而对 其他3种细菌繁殖体的杀灭对数值均 $>5$ 。单核 细胞增生李斯特氏菌对消毒剂的耐受性较强<sup>[5,6]</sup>, 它对季铵盐类消毒剂的耐受性可能与其 外排泵相关<sup>[7]</sup>,但对二氧化氯的耐受性机制尚未 见有关报道。

浓度为 $24\text{mg/L}$ 的二氧化氯对4种细菌繁殖体 的杀灭对数值均 $>5$ (杀灭率 $100\%$ )。

表1 二氧化氯对4种细菌繁殖体的悬液定量杀菌试验结果

| 试验菌             | 作用浓度<br>/mg · L <sup>-1</sup> | 作用时间/min |      |      | 阳性对照菌<br>数对数值 |
|-----------------|-------------------------------|----------|------|------|---------------|
|                 |                               | 1        | 3    | 5    |               |
| 单核细胞增生<br>李斯特氏菌 | 8                             | 0.25     | 0.27 | 0.36 | 7.84          |
|                 | 16                            | 2.81     | 3.12 | 3.38 |               |
|                 | 24                            | 7.84     | 7.84 | 7.84 |               |
| 金黄色<br>葡萄球菌     | 8                             | 1.21     | 1.24 | 1.32 | 7.13          |
|                 | 16                            | 5.00     | 7.13 | 7.13 |               |
|                 | 24                            | 7.13     | 7.13 | 7.13 |               |
| 小肠结肠炎<br>耶尔森氏菌  | 8                             | 2.20     | 2.33 | 2.37 | 7.56          |
|                 | 16                            | 7.56     | 7.56 | 7.56 |               |
|                 | 24                            | 7.56     | 7.56 | 7.56 |               |
| 沙门氏菌            | 8                             | 1.60     | 1.79 | 1.98 | 7.32          |
|                 | 16                            | 7.32     | 7.32 | 7.32 |               |
|                 | 24                            | 7.32     | 7.32 | 7.32 |               |

### 2.3 对芽孢的悬液定量杀菌试验结果

二氧化氯对蜡样芽孢杆菌芽孢悬液的杀灭效果如表2所示。从表2中可以看出,芽孢表现出对消毒剂更强的抵抗力,在没有有机干扰物存在的条件下,所有实验浓度和作用时间条件下,杀灭对数值均<5。

随着作用时间的延长,同一试验浓度对芽孢的杀灭对数值明显变大(不同的数量级),这与表1在低浓度情况下的数据有所不同。这可能是由于添加有机干扰物后,二氧化氯优先与干扰物反应。

表2 二氧化氯对蜡样芽孢杆菌芽孢悬液的悬液定量杀菌试验结果

| 作用浓度<br>/mg · L <sup>-1</sup> | 作用时间/min |      |      | 阳性对照<br>菌数对数值 |
|-------------------------------|----------|------|------|---------------|
|                               | 1        | 5    | 10   |               |
| 8                             | 0.58     | 2.35 | 3.48 | 6.32          |
| 16                            | 1.22     | 3.35 | 3.87 |               |
| 24                            | 1.48     | 4.29 | 4.66 |               |

注:蜡样芽孢杆菌芽孢的悬液定量杀菌试验用无菌水替代有机干扰物。

## 3 结论

试验表明,二氧化氯对小肠结肠炎耶尔森氏菌、

沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、蜡样芽孢杆菌等5种食源性致病菌,均具有较好的杀灭效果。对于肉制品屠宰、分割、加工等场所,在使用二氧化氯消毒前应进行彻底的清洗,以尽可能减少脂肪和蛋白质等有机物降低消毒剂的消毒效果。

单核细胞增生李斯特氏菌在本次试验中表现出不一样的对二氧化氯的耐受性。它广泛存在于自然界中,在4℃的环境中仍可生长繁殖,是冷藏食品威胁人类健康的主要病原菌之一。由于肉制品的李斯特氏菌污染而引起的食源性疾病时有发生。本次试验揭示,如果在食品加工环境中检出单核细胞增生李斯特氏菌,在使用二氧化氯消毒时,较其他目标菌,需相应提高消毒液浓度和延长作用时间,以保证杀灭效果。尤其是李斯特氏菌适合在湿冷的环境下生存,在这些环境中使用消毒剂更应注意控制较高的浓度。另外,李斯特氏菌对二氧化氯耐受性的作用机理也值得深入研究。

### 参考文献

- 1 刘秀梅,曹敏,毛雪丹主译. 食品加工过程的微生物控制原理与实践[M]. 北京:中国轻工业出版社,2017:83-89.
- 2 杨舒然,闫琳,裴晓燕,等. 我国市售冷冻肉糜制品中常见食源性致病菌污染状况研究[J]. 中国食品卫生杂志,2020(2):180-183.
- 3 赵丽娜,申进玲,宁雪,等. 2017~2019年我国进口食品食源性致病菌污染状况分析[J]. 食品安全质量检测学报,2020(9):2930-2935.
- 4 卫生部卫生法制与监督司. 消毒技术规范:第一分册[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2002.
- 5 徐冬昶,石磊,曾晓敏,等. 食品行业中常用消毒剂对食源性单核细胞增生李斯特菌的抑菌作用研究[J]. 中国抗生素杂志,2013(4):271-274.
- 6 阙绍辉,宋金武,吴清平,等. 食品工业常用4种消毒剂对单增李斯特菌杀灭效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2014(2):115-117.
- 7 姜晓冰,于涛,徐雅梦,等. 单核细胞增生李斯特菌对季铵盐类消毒剂耐药机制研究进展[J]. 食品科学,2016(23):273-279.