

过硫酸氢钾复合盐粉对水产病原菌的杀灭效果

孙文博¹, 章志强¹, 李庆¹, 曹杨洋¹, 张高峰², 杨辉^{1*}

(1.扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009; 2.江苏永荣生物科技有限公司, 江苏 连云港 222062)

细菌性疾病一直是制约水产养殖业发展的重要因素^[1], 不仅导致水产动物大量死亡, 还会引发病毒性疾病暴发, 对水产养殖业造成巨大威胁^[2]。控制水产养殖环境中病原菌的数量, 对于水产动物疫病防控至关重要。目前, 水产动物病害防控的关键技术体系包括病原检测、微生态制剂施用、水产消毒剂、中草药和抗生素的应用^[3]。其中, 化学类消毒剂可以抑制或杀灭水体中的病原微生物, 降低水体中病原菌的丰度, 在阻止细菌性疾病的传播和暴发方面, 发挥着重要作用^[4]。由于成本较低且效果显著, 化学类消毒剂目前在水产养殖中得到广泛应用。水产养殖中化学类消毒剂的使用缺乏科学指导, 滥用消毒剂会给养殖水环境带来危机。因此, 研发环境友好型的水产养殖消毒剂, 并科学指导其应用, 对于水产养殖业的发展, 具有重要意义。

过硫酸氢钾复合盐粉($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot \text{KHSO}_4$, 简称 PMS), 是一种由单过硫酸氢钾(KHSO_5 , PMPS)、硫酸氢钾(KHSO_4)和硫酸钾(K_2SO_4)为主, 辅以表面活性剂、无机酸和有机酸等组合而成的一种新型的过氧化物类消毒剂。PMS 能够溶于水, 分解产物为无害的无机盐, 并在水体中产生高活性的自由基和活性氧等物质, 通过氧化作用有效杀灭各种病原微生物, 具有广谱的杀菌作用、高安全性和环境友好等优点^[5]。PMS 还能降解养殖水体中的氨氮, 提高溶解氧水平, 促进污泥颗粒的分解, 从

而改善水质和底质^[6-7]。目前 PMS 已广泛应用于水产养殖、畜牧业、污水处理和医疗环境消毒等领域。然而关于 PMS 对水产养殖相关病原细菌的杀灭效果尚不明确, 而且不同生产厂家的产品质量也存在差异, 使得选择高质量产品变得困难。现选取水产养殖中常见的 8 种病原细菌为试验菌株, 分析 PMS 在不同浓度下的杀菌动力学参数, 同时比较了某国产品牌和某进口品牌生产商生产 PMS 的杀菌效果, 为实际生产中的合理使用及后续研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 时间与地点

2023 年 4—7 月。试验地位于江苏省扬州大学动物科学与技术学院水产养殖实验室。

1.2 材料

某国产品牌(A 产品)和某进口品牌(B 产品)生产商生产的 PMS (以下简称 A-PMS、B-PMS) 均为 50% 粉剂 (含有 50% 的 PMS)。8 种病原细菌为维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*) (ATCC 35622)、嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) (BNCC186123)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) (BNCC133264)、河流弧菌(*Vibrio fluvialis*) (BNCC337051)、溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) (ATCC33787)、副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) (BNCC138541)、鳃弧菌 (*Vibrio anguillarum*) (BNCC354817) 和杀鱼爱德华

资助项目:江苏省农业自主创新[CX(21)3159]

作者简介:孙文博(2002—),男,本科,研究方向为水生动物病害检测与防治。E-mail:victor1900@163.com

* 通信作者:杨辉 E-mail:huiyang@yzu.edu.cn

氏菌(*Edwardsiella piscicida*) (CCTCC208068),均为商品化的标准菌株。其中维氏气单胞菌、嗜水气单胞菌、大肠埃希氏菌、河流弧菌、杀鱼爱德华氏菌、溶藻弧菌和鳃弧菌使用 LB 液体培养基进行培养,副溶血弧菌使用 2216E 培养基进行培养。

1.3 试验方法

1.3.1 细菌培养及抑菌试验

各菌株经 LB 平板或 2216E 琼脂培养基活化后,挑选单克隆菌株,接种于 200 mL 相应液体培养基中,并将其放置于恒温摇床(28 ℃/37 ℃,180 r/min)中连续培养 24 h 以上,6 000 r/min 离心 5 min,收集菌体,并用无菌 PBS 磷酸盐缓冲液洗涤 2~3 次,做成菌悬液待用。将 50%A-PMS 粉剂溶解于无菌水中,并分别配置成 1,10,50,100 和 200 mg/L 的浓度。将配置好的 PMS 溶液取 10 μL,分别加入 1 mL 稀释后的 8 种菌液中,稀释 100 倍,使得 PMS 的终浓度分别为 0,0.01,0.10,0.50,1.00 和 2.00 mg/L。对细菌悬液计数,并进行稀释,确保菌悬液中细菌菌落数少于 2×10⁴ cfu/mL,以避免菌落数太多致无法准确计数。将不同浓度的 PMS 与菌液摇匀后,室温下静置处理,并分别在 0.5,1.0,1.5 和 2.0 h 时,取 100 μL 混合液涂布在 LB 或 2216E 营养琼脂平板上,倒置放于 28 ℃恒温培养箱培养 24 h。培养结束后对平板上的菌落进行计数。

1.3.2 A-PMS、B-PMS 杀菌效果比对试验

将 A-PMS、B-PMS 粉剂稀释至终浓度为 0.5,

1.0,10.0 和 50.0 mg/L。所选用的菌株与培养处理的方法同 1.2,但仅在处理 2 h 时进行涂板计数,计算其杀菌效率。

1.3.3 PMS 对降低鲫感染维氏气单胞菌的死亡率试验

为了进一步验证 PMS 对养殖水体病原细菌的杀灭作用,分析 PMS 对通过人工浸泡感染维氏气单胞菌鲫死亡率的影响。选择的鲫体质量为(0.52±0.18) g,体长(3.44±0.37) cm。试验鱼暂养在 5 L 的透明亚克力水槽中,连续曝气,控温在 25 ℃,每个水槽中暂养 30 尾鲫,共 6 个水槽。感染试验分为 2 组,分别为对照组和试验组,每组 3 个重复。试验组和对照组的养殖水体中均添加过夜培养的维氏气单胞菌,浸泡感染的细菌浓度控制在 10⁶~10⁷ cfu/mL。试验组每天往水体中添加 A-PMS 至 2 mg/L,试验持续 5 d,统计鲫的累计死亡率。

1.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0 软件作图,试验数据以“平均值±标准差”表示,采用 *t* 检验和单因素方差分析组间数据的差异性,试验组与对照组 *P*<0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 PMS 对不同病原菌的杀灭效果

PMS 对 8 种不同病原菌的杀灭效果见表 1。由表 1 可见,PMS 对常见菌的杀菌效果不具有特异性。在相同处理时间下,PMS 的浓度越高,菌落数量

表 1 不同浓度的 PMS 2 h 内对各细菌的杀菌率 %

细菌	$\rho(\text{PMS})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$				
	0.01	0.10	0.50	1.00	2.00
维氏气单胞菌(<i>A. veronii</i>)	29.7±4.1	55.8±3.2	98.5±0.3	98.9±0.1	100.00
嗜水气单胞菌(<i>A. hydrophila</i>)	2.5±1.3	26.1±2.4	62.8±1.6	79.9±0.9	100.00
大肠杆菌(<i>E. coli</i>)	43.2±4.2	51.5±3.7	89.6±1.1	90.2±0.7	100.00
河流弧菌(<i>V. fluvialis</i>)	39.3±4.3	55.3±3.1	74.1±1.2	92.1±0.4	100.00
溶藻弧菌(<i>V. alginolyticus</i>)	50.4±4.5	57.8±3.6	73.6±1.3	93.1±0.2	100.00
杀鱼爱德华菌(<i>E. piscicida</i>)	55.6±3.8	61.5±3.2	85.2±0.7	90.1±0.5	100.00
副溶血弧菌(<i>V. parahaemolyticus</i>)	43.9±3.8	71.3±2.6	80.4±0.8	94.2±0.6	100.00
鳃弧菌(<i>V. anguillarum</i>)	48.4±4.8	80.1±1.6	86.6±0.9	94.2±0.6	100.00

越少,杀菌率越高。在 2 mg/L 的浓度下,处理时间超过 1.5 h,杀菌率基本可以达到 100%。

2.2 A-PMS、B-PMS 杀菌效果对比

A-PMS、B-PMS 对 8 种不同病原菌的杀灭效果见表 2。由表 2 可见,在高浓度(5.0 mg/L)下,这 2 种产品对所选的 8 种常见病原菌都表现出良好

的杀菌活性,几乎能完全杀灭该浓度下的病原菌。在低浓度(0.5 和 1.0 mg/L)下,A-PMS 对维氏气单胞菌(*A. veronii*)、嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)、大肠杆菌(*E. coli*)、河流弧菌(*V. fluvialis*)、溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)、杀鱼爱德华菌(*E. piscicida*)和副溶血弧菌(*V. parahaemolyticus*)表现出

表 2 不同浓度的 2 种品牌产品对细菌的杀菌率 %

细菌	PMS	$\rho(\text{PMS})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$			
		0.5	1.0	5.0	10.0
维氏气单胞菌(<i>A.veronii</i>)	A	26.1±3.8	99.6±0.5	100.0	100.0
	B	27.4±3.6	40.8±3.5	100.0	100.0
嗜水气单胞菌(<i>A.hydrophila</i>)	A	4.8±4.7	78.8±3.2	99.5±0.3	100.0
	B	3.6±4.8	42.6±3.5	98.2±0.4	100.0
大肠杆菌(<i>E.coli</i>)	A	21.3±3.5	89.3±1.3	100.0	100.0
	B	10.3±4.1	31.8±4.3	100.0	100.0
河流弧菌(<i>V.fluvialis</i>)	A	25.0±3.3	88.7±1.4	100.0	100.0
	B	5.3±2.1	52.8±2.5	100.0	100.0
溶藻弧菌(<i>V.alginolyticus</i>)	A	50.9±3.6	89.2±3.5	100.0	100.0
	B	36.1±4.2	43.6±3.8	100.0	100.0
杀鱼爱德华菌(<i>E.piscicida</i>)	A	3.9±1.5	88.9±3.6	100.0	100.0
	B	5.7±1.7	29.2±2.8	100.0	100.0
副溶血弧菌(<i>V.parahaemolyticus</i>)	A	61.7±2.5	91.2±2.1	100.0	100.0
	B	65.8±3.3	83.5±2.9	100.0	100.0
鳃弧菌(<i>V.anguillarum</i>)	A	66.4±3.2	91.7±2.1	100.0	100.0
	B	64.3±3.2	88.5±1.8	100.0	100.0

更高效的杀菌活性。这一结果间接证明了不同厂家生产的 PMS 产品之间的差异性,A-PMS 则展现出更好的杀菌效果。

2.3 PMS 对鲫感染维氏气单胞菌的累计存活率

采用累计生存曲线,统计了 A-PMS 对鲫感染维氏气单胞菌的累计存活率,结果见图 1。由图 1 可见,对照组鲫感染细菌后的存活率,显著降低,经过 5 d,累计存活率仅为 43%;而试验组在水体中使用 2 mg/L 的 A-PMS 进行消杀,5 d 后的累计存活率为 76%。由累计存活率曲线可见,使用 A-PMS 处理养殖水体后,能够显著提高鲫感染维氏气单胞菌的累计存活率。

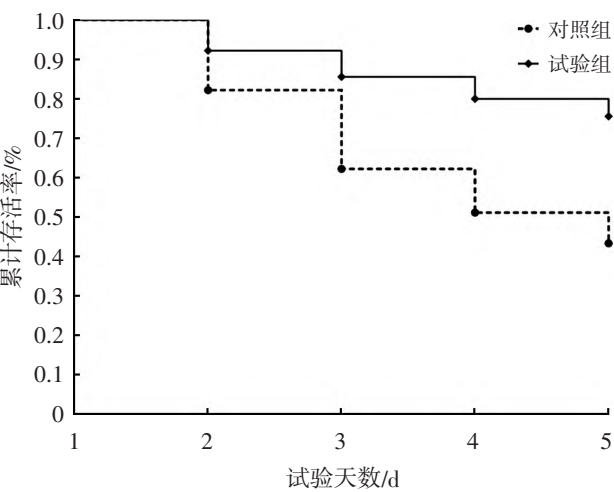


图 1 PMS 对鲫感染维氏气单胞菌累计存活率

3 讨论

3.1 PMS 在水产养殖中的强效杀菌机理及影响因素

PMS 具有强大且有效的非氯氧化能力,为应用广泛的畜禽和水产养殖的消毒剂 and 水质改良剂^[8-9]。作为化学类消毒剂,PMS 的杀菌原理主要是利用其强氧化性,在直接与菌体或酶蛋白中的氨基、羧基、巯基等发生反应的过程中损伤细菌细胞结构或抑制代谢功能,从而导致其死亡^[10]。研究指出,PMS 的消杀活性受养殖水体中有机物浓度、温度和 pH 值的影响^[11]。除了杀灭细菌外,PMS 还能氧化水体中的有机物,因此也会影响对病原细菌的消杀效果。因此,在评估 PMS 对病原菌的杀灭活性时,传统的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)的测定方法不适用,需要采用类似于本试验中分析 PMS 对不同细菌的杀菌动力学参数的方法^[12-13]。尽管本试验中 PMS 对不同病原菌的杀灭效率存在一定差异,但随着 PMS 浓度的增加和处理时间的延长,2 mg/L 的 PMS 处理 2 h,已经能够显著杀灭 10^4 cfu/mL 的病原细菌,表现出较强的杀菌效果。PMS 的杀菌效果与浓度、处理时间以及初始菌体数量显著相关,但其对不同细菌的杀灭特异性则不明显。有研究^[14]指出,10~60 mg/L 的 PMS,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌等不同病原微生物处理 5 min,其杀灭率均>99%。1 250 mg/L 的 PMS 对溶血性链球菌和多杀性巴氏杆菌作用 2.5 min,杀菌对数值>5^[15]。PMS 对黄颡鱼 2 种病原菌温和气单胞菌和弗氏柠檬酸杆菌的杀菌浓度分别在 31.25 和 125.00 mg/L^[16]。上述研究表明,PMS 能够显著杀灭病原菌,而杀菌效果差异,主要与 PMS 的来源和检测方法有关。而本试验中,排除了培养基中蛋白胨和酵母粉等有机物的干扰,直接展示了 PMS 对病原菌的杀灭效果,其结果更能准确反映 PMS 对水产病原菌的直接杀灭活性。本试验所选的 8 种病原菌均为水产常见致病菌,PMS 对其杀灭效果,为水产养殖病害防控提供了更有效的参考依据。

3.2 PMS 在水产养殖中的效果与安全性

目前市场上销售的 PMS 主要以过硫酸氢钾复合盐为主要成分,同时添加了络合剂、增效剂、稳定剂、表面活性剂、氯化钠、有机酸等辅料进行配制。

由于不同厂家的配方、生产工艺和原材料等因素的差异,生产出的 PMS 产生的效果各不相同,质量良莠不齐^[17]。在本试验中,2 种 PMS 产品在高浓度下对病原细菌的杀灭效果一致,但在低浓度下,A-PMS 表现出更高的杀菌效率,这也证实了市面上 PMS 产品效果的差异性。文献^[18]研究指出,1 kg 体质量小鼠,急性经口毒性半数致死量(LD_{50})>4 207 mg。在对黄颡鱼使用 PMS 毒性研究^[19]中,PMS 使用的安全浓度为 8.5 mg/L。PMS 对养殖动物的毒性研究相对较少。文献^[20]研究表明,水体中投加 PMS 消毒后,造成的遗传毒性显著低于次氯酸钠消毒,产生的卤代烃和卤代物生成较少,这也表明 PMS 用于消毒仍有一定的安全风险。而本试验中,PMS 显著提高了鲫感染维氏气单胞菌后的累计存活率,并未表现出明显的药物毒性,这说明 PMS 是一种有效的预防和治疗水产细菌性疾病的药物。

参考文献:

- [1] PRIDGEON J W, KLESIUS P H. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development[J]. CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources, 2013, 7(48): 1-16.
- [2] PÉREZ-SÁNCHEZ T, MORA-SÁNCHEZ B, BALCÁZAR J L. Biological approaches for disease control in aquaculture: Advantages, limitations and challenges[J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(11): 896-903.
- [3] 胡洋,张旭,王欢,等. 药用植物资源在水产动物疾病控制中的研究进展[J]. 中国生物工程杂志,2022,42(11):43-58.
- [4] 姚志刚. 水产药物消毒剂类的作用原理及使用注意事项[J]. 科学养鱼,2017,33(10):22-23.
- [5] 王兵,艾红学,李菠,等. 单过硫酸氢钾对常见水产养殖生物致病菌的抑制与杀灭效果[J]. 中国消毒学杂志,2008, 25(5):501-502.
- [6] 张星,姚吉伦,徐文思. 过硫酸氢钾在水处理中的应用研究进展[J]. 化学与生物工程,2018,35(2):8-14.
- [7] 赵海永. 水产养殖底泥的改良与过硫酸氢钾的相关研究[J]. 当代水产,2017,42(11):90-95.
- [8] 张福娥,王晓瑞,宋晓红,等. 一种过硫酸氢钾复合盐消毒相关性能观察[J]. 中国消毒学杂志,2017,34(1):34-35.
- [9] 林继仁. 过硫酸氢钾在水产养殖中的应用[J]. 科学养鱼, 2017,33(1):21-22.
- [10] 田伟,谭炳海,曾繁宝,等. 过硫酸氢钾复合粉的药物药理学,毒理学研究及其在猪场中的应用现状[J]. 猪业

(下转第 62 页)

品批发市场的建设与发展十分迅速。广东省应进一步加强在水产流通方面的基础设施建设,增强区域协调能力。休闲渔业作为渔业第三产业中的新兴产业,目前在广东省渔业经济产值中占比不高,但是近几年发展迅速;休闲渔业可以提供就业岗位,从而促进当地渔业经济发展;同时可以优化渔业产业结构,减轻传统渔业对环境的影响。

参考文献:

- [1] 靳亚亚,刘依阳,林捷敏. 海洋渔业产业结构演变与海洋渔业经济增长的关系研究[J]. 海洋开发与管理,2020,37(8):64-68.
- [2] 《南方日报》社. 省委、省政府印发关于贯彻落实《粤港澳大湾区发展规划纲要》的实施意见[N]. 南方日报,2019-07-05(A4).
- [3] 《中国水产》编辑部. 关于加快推进水产养殖业绿色发展的若干意见[J]. 中国水产,2019,62(3):7-10.
- [4] 于恒堃,李宗洙. 烟台市蓬莱区海洋渔业产业结构评价分析[J]. 中国渔业经济,2022,40(3):84-92.
- [5] 曾现云,高源. 辽宁省渔业产业结构分析与发展建议[J]. 海洋开发与管理,2022,39(2):72-76.
- [6] 刘斐,靳亚亚,高超. 我国渔业产业结构变动与渔业经济增长关系探究[J]. 中国渔业经济,2021,39(4):50-59.
- [7] 周洪霞,陈洁. 我国渔业产业结构现状分析[J]. 中国渔业经济,2017,35(5):25-31.
- [8] 王琼,刘强,杨伦庆. 海洋资源高水平保护高效率利用管理对策研究——以广东省为例[J]. 中国国土资源经济,2021,34(6):66-71,83.
- [9] 李双建,羊志洪. 广东省海洋经济发展的战略思考[J]. 中国渔业经济,2012,30(6):104-110.
- [10] 王刚,于德双,李醒,等. 渔港经济区产业发展研究——以广东省渔港经济区为例[J]. 中国渔业经济,2022,40(6):12-19.
- [11] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2022 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2022.5.
- [12] 殷伟,于会娟,仇荣山,等. 陆海统筹视域下的中国食物与营养安全[J]. 资源科学,2022,44(4):674-686.
- [13] 谢清玲,张文峰,曾涛. 广东省水产品冷链物流供需现状分析[J]. 物流工程与管理,2020,42(4):96-99.
- [14] 张汉月,罗乔军,张进疆,等. 广东省水产品加工产业现状及发展趋势[J]. 现代农业装备,2017,33(5):53-56.
- [15] 冯建伟,王春植,徐承旭. 中国休闲渔业发展监测报告发布[J]. 水产科技情报,2021,48(6):313.
- [16] 《中国水产》编辑部. 农业农村部印发《“十四五”全国渔业发展规划》[J]. 中国水产,2022,65(2):7-19.
- [17] 唐雪梅. 广东省休闲渔业发展研究[D]. 广州:广东海洋大学,2016.
- [18] 刘思峰. 灰色系统理论的产生、发展及前沿动态[J]. 浙江万里学院学报,2003,16(4):19-22.
- [19] 李凤琦,朱再显,曹建华. 基于灰色关联理论的农业经济结构分析——以南昌市为例[J]. 中国农学通报,2013,29(2):97-102.
- [20] 宋炜,韩昕辰,谢正丽,等. 我国深远海大型围栏养殖发展现状与展望[J]. 渔业科学进展,2022,43(6):111-120.
- [21] 梁铄,王金枝. 我国远洋捕捞业发展研究综述[J]. 产业与科技论坛,2017,16(6):20-21,106.

(收稿日期:2023-06-12)

(下转第 36 页)

- 科学,2020,37(3):3.
- [11] 李声平,董靖,杨移斌,等. 过硫酸氢钾复合粉对 4 种常见水产病原微生物的杀灭效果[J]. 南方水产科学,2023,19(4):1-10.
- [12] 张辰仓,张浩,刘思喜,等. 50%过硫酸氢钾对溶藻弧菌抑菌效果的研究[J]. 科学养鱼,2018,34(5):63-64.
- [13] 师梦超,周冰,杨绒娟,等. 一种环保型过硫酸氢钾复合盐泡腾片的研制及消毒效果评价[J]. 中国动物保健,2021,23(8):2.
- [14] 王娟,卞国志,袁建丰,等. 过硫酸氢钾复合盐对鸡新城疫病毒杀灭效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2018,35(8):563-565.
- [15] 谈智,孙巍,唐晨晨. 单过硫酸氢钾复合盐杀菌效果与影响因素研究[J]. 中国消毒学杂志,2017,34(1):5-8.
- [16] 武国兆,董心雨. 5 种消毒剂对黄颡鱼 2 种病原菌体外抑制效果的研究[J]. 中国水产,2020,63(10):94-97.
- [17] 武镔,乔玫,李虹. 一种单过硫酸氢钾复合盐消毒剂的相关性能观察[J]. 中国消毒学杂志,2018,35(12):946-948.
- [18] 阳艳林,于洪忠,徐辉. 过硫酸氢钾复合消毒剂杀菌效果观察[J]. 中国消毒学杂志,2008,25(2):150-152.
- [19] 段聪,李凯丹. 过硫酸氢钾对黄颡鱼急性毒性效应研究[J]. 农家科技,2017,33(7):51.
- [20] 敖秀玮,李豪杰,刘文君,等. 单过硫酸氢钾复合粉在饮用水消毒过程中的副产物生成特性及遗传毒性变化[J]. 环境科学,2016,37(11):4241-4246.

(收稿日期:2023-07-08)