

# 二氧化氯對植物細菌性軟腐病與基腐病 原細菌之殺菌評估

姚國山<sup>1,\*</sup>、曾國欽<sup>2</sup>

<sup>1</sup>明道管理學院 精緻農業學系，彰化

<sup>2</sup>國立中興大學 植物病理學系，台中

## 摘要

二氧化氯被美國環境保護署 (EPA) 及美國食品藥物管理局 (USFDA) 確認可作為自來水、污水處理、食品加工水及環境保護等消毒之用。本研究主要探討二氧化氯溶液對茭白細菌性基腐病菌(*Enterobacter cloacae* SM1)與彩色海芋 軟腐病菌(*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1)等植物病原細菌之殺菌效果。實驗利用 150 ppm, 15 ppm, 1.5 ppm 等不同濃度之二氧化氯溶液分別對 *E. cloacae* SM1, *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 等不同植物病原細菌進行處理，並以 2, 3, 5-triphenyl- tetrazolium chloride (TTC) 為活菌生長之指示劑，經 4 小時培養後，在波長 545 nm 下測其吸收值，實驗結果顯示 150 ppm 濃度之二氧化氯溶液對 *E. cloacae* SM1 及 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株具有顯著之殺菌效果，在 15 ppm 濃度下對 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌率仍高達 95.7%，但對 *E. cloacae* SM1 菌株之殺菌率則只有 55.2%。另外，當二氧化氯溶液在 15 ppm 時，其 pH 值 (6~8) 改變，對 *E. cloacae* SM1 或 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌率並無顯著之改變。

**關鍵字：**二氧化氯、氯化三苯基四唑，茭白細菌性基腐病菌、彩色海芋軟腐病菌

---

\*通訊作者. Tel. : 04-8876660 轉 1100

E-mail address : ksyao@mdu.edu.tw

## 壹、前言

二氧化氯是一種無色、無味、無腐蝕性、無毒性、穩定性強、不易分解、不揮發的透明水溶液，也是一種理想的化學消毒殺菌劑，被世界衛生組織(WHO)和美國糧農組織(FAO)向全世界推薦的AI級高效安全消毒劑與食品添加劑，並被歐美國家推崇為第四代消毒劑。二氧化氯是一種水溶性強氧化劑，而不是氯化劑，因而沒有氯化劑的毒副作用[1]。二氧化氯消毒劑具有高效、低毒、快速、廣譜的殺菌能力，能有效殺死枯草芽孢桿菌、金黃色葡萄球菌、大腸桿菌以及真菌和藻類，它的殺菌能力是氯制劑的 5~10 倍，殺菌效果時間長，約為氯的 10 倍。美國環境保護署(EPA)認為二氧化氯是替代氯消毒劑的第一選擇 [2-4]。

二氧化氯的強氧化性和殺滅細菌的能力，使得二氧化氯在廢水處理中的研究越來越多，應用也越來越普遍，國外有部分學者將其利用於農業環境中灌溉水的殺菌處理，發現二氧化氯溶液對灌溉水中的植物病原真菌如 *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp. 等亦具有顯著的殺菌作用[5-7]，但對於灌溉水中之植物病原細菌之殺菌效果，仍有待進一步深入的探討，故本研究主要探討二氧化氯溶液對 *Enterobacter cloacae* SM1, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 等農業生態環境中常見的植物病原細菌之殺菌效果，以期作為植物病害防治之參考，並減少農藥殘毒對生態環境的危害。

## 貳、實驗設備與方法

### 一、實驗設備

(一) 微生物培養室(高溫高壓滅菌釜、無菌工作台、恆溫培養箱(MODEL CRI-60)、pH 測定儀(SUNTEX MICRMO SPECTRONIC SP-2200))、光度分析儀(GENESYS 20 SPECTROPHOTOMETER)。

(二) 二氧化氯製備機(注溢生化科技公司提供)。

### 二、實驗方法

(一) 二氧化氯溶液之製備與濃度之定量  
利用電解濃食鹽水方法進行電解產生二氧化氯氣體，收集二氧化氯溶液後，供為本試驗之用。並參考 NIEA W422.51C 之碘定量滴定法進行二氧化氯溶液濃度之定量。

(二) 供試植物病原細菌菌株之培養與製備

供試之茭白細菌性基腐病菌(*E. cloacae* SM1)與彩色海芋軟腐病菌(*E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1)等植物病原細菌所有菌株，由國立中興大學植物細菌病害研究室提供，並由本研究室繼代培養保存，培養於 25 ml LB 培養基(Luria-Bertani medium, 含有 1%胰蛋白胍、0.5%酵母膏及 1%氯化鈉, pH 7.0), 在 32°C 培養箱中培養 24 小時，取細菌培養液 5ml，以 3000 rpm 離心 10 分鐘，並以無菌水水洗 2 次後，再以 5 ml 無菌水及 saline 分別懸浮，供為下列殺菌效果試驗之用。

(三) 殺菌效果之測試

取上述二氧化氯溶液進行不同濃度、pH 值及不同植物病原細菌菌株(*E. cloacae* SM1, *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1)

等處理 10 分鐘，加入中和劑(0.5%硫代硫酸鈉)，並參照 Gabrielson *et al.* (2002)之方法 加入 0.01% 之 2, 3, 5-triphenyl-tetrazolium chloride (TTC)作為活菌生長之指示劑[8,9]，置於 32°C 培養箱中經 4 小時培養後，在波長 545 nm 下測其吸收值，以評估分析其殺菌效果。抑菌率(%) =  $[1 - \frac{OD(t)}{OD(i)}] \times 100\%$ ，OD(i)：對照組(只含細菌株) 經 4 小時培養後之吸收值，OD(t)實驗組經 4 小時培養後之吸收值。

## 參、結果與討論

### 一、不同二氧化氯溶液濃度對病原細菌殺菌效果之影響

分別利用含有 150、15、1.5 ppm (mg/L) 等三種不同濃度之二氧化氯溶液，對環境中之 *E. cloacae* SM1，*E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 等植物病原細菌進行殺菌效果之評估，實驗結果如圖一所示，二氧化氯溶液濃度在 150 ppm 時對 *E. cloacae* SM1 及 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 等二種植物病原細菌皆具有顯著之殺菌效果。但當濃度降為 15 及 1.5 ppm 時，對 *E. cloacae* SM1 菌株之殺菌率則分別降為 55.2% 及 0.3%；而對 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌率則分別為 95.7% 及 26.8%。實驗結果顯示二氧化氯溶液濃度在 15 ppm 時對 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌效果較 *E. cloacae* SM1 菌株為佳。此結果與 Ibanez *et al.* (2003) 所報告指出 *Enterobacter cloacae* 對紫外線 A(UV-A) 較具抗性之現象

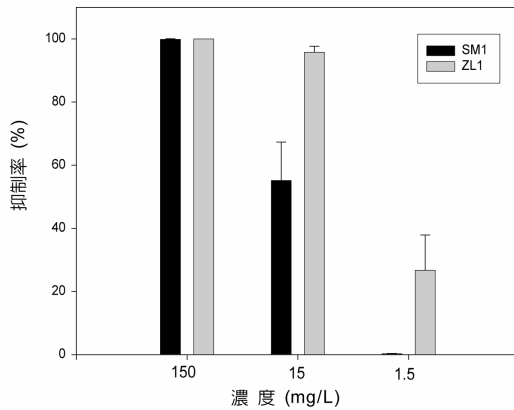
相似[10]，由實驗結果得知即 *E. cloacae* SM1 菌株對二氧化氯溶液之忍受性較 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株為高。其主要原因可能是其細胞壁構造成分有關。

### 二、不同 pH 值對二氧化氯殺菌效果之影響

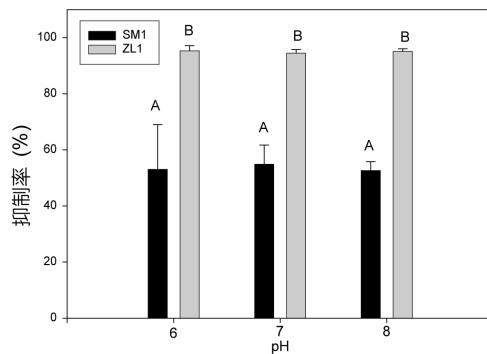
為瞭解二氧化氯溶液在不同 pH 值下對植物病原細菌(*E. cloacae* SM1，*E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1) 生長之影響，利用 0.1 M 磷酸緩衝液 pH 6.0、pH 7.0 及 pH 8.0 等作為濃度 15 ppm 之二氧化氯系列稀釋及殺菌處理之緩衝溶液，結果如圖二所示，當二氧化氯溶液濃度在 15 ppm 時其 pH 值改變(6~8)，對 *E. cloacae* SM1 或 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌率並無顯著之改變。此種現象與 Huang *et al.* (1997) 先前所報告二氧化氯溶液在不同酸鹼值的環境下，對大腸桿菌與金黃色葡萄球菌等二種微生物的殺菌效率結果相似[11]

## 肆、結論

- (1) 150 ppm 濃度之二氧化氯溶液對 *E. cloacae* SM1 及 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株具有顯著的殺菌效果，在 15 ppm 濃度下對 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌率仍高達 95.7%，但對 *E. cloacae* SM1 菌株之殺菌率則只有 55.2%。
- (2) 當二氧化氯溶液 pH 值(6~8) 改變，對 *E. cloacae* SM1 或 *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 菌株之殺菌率並無顯著之改變。



圖一、不同濃度之二氧化氯溶液對 *Enterobacter cloacae* SM1 及 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 的影響。Results are mean  $\pm$  SD.



圖二、不同 pH 值之二氧化氯溶液對 *Enterobacter cloacae* SM1 及 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 的影響。Results are mean  $\pm$  SD. Groups with the same letters are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

## 伍、參考文獻

- [1]朱文錦，河南水產，1999，2: 14.
- [2]E.M. Aieta, et al. J. AWWA 1986, 78: 62.
- [3]H. Junli, Y. Chao, X. Wang, Environ. Chem. 1994, 13: 466.
- [4]S.W. Karen, et al. J. AWWA 1987, 79: 107.
- [5]P. Armitage, Aust. Hortic. 1993, 10: 30.
- [6]M. Mebalds, A. van der Linden, M. Bankier, D. Breard, The Nursery Papers 1996, 5: 1.
- [7]M. Mebals, G. Hepworth, A. van der Linden, D. Beardsell, Disinfestation of plant pathogens in recycled water using UV radiation and chlorine dioxide, in: Recycling water in the Australian nursery and flower industries: Managing water quality and pathogen disinfestations. Final report for HRDC project 1995, No. NY320, p. 101.
- [8]J. Gabrielson, M. Hart, A. Jarelov, I. Kuhn, D. Mckenzie, R. Mollby, J. Microbio. Methods 2002, 50: 63.
- [9]J.H. Zhang, W.D. Su, G.L. Lu, Chin. J. Disinfect. 2003, 20: 278.
- [10]J.A. Ibanez, M.I. Litter, R.A. Pizarro, J. Photochem. Photobio. A: Chem. 2003, 157:81-85.
- [11]J. Huang, L. Wang, N. Ren, F. Ma, F. Juli, Wat. Res. 1997, 31: 607.

# Disinfection effect of chlorine dioxide on bacterial soft rot and basal rot disease

K.S. Yao<sup>1,\*</sup> and K.C. Tzeng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Post-Modern Agriculture, MingDao University, Taiwan

<sup>2</sup>Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taiwan

## Abstract

Chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) has been approved by the USEPA and USFDA for disinfection of drinking water, wastewater treatment, food processing water, and environment protection. In this work, the disinfection effects of ClO<sub>2</sub> solution on *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 and *Enterobacter cloacae* SM1 in water were evaluated under conditions including various concentrations (150, 15, and 1.5 ppm) of disinfectant and pH values from 6 to 8. Using 2,3,5- triphenyl - tetrazolium chloride (TTC) as a bacterial growth indicator, the bactericidal efficiency was examined by the absorbance of optical spectrum at 545 nm after incubation for 4 hrs. The results showed that the bacteria of *E. cloacae* SM1 and *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 were completely disinfected at ClO<sub>2</sub> concentration solution of 150 ppm, while the inhibition rate at 15 ppm against *E. carotovora* subsp. *carotovora* ZL1 and *E. cloacae* SM1 was 95.7% and 55.2%, respectively. Moreover, the inhibition rate of ClO<sub>2</sub> solution (15 ppm) was relatively constant by varying pH values from 6 to 8.

**Keywords :** Chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>), 2, 3, 5- triphenyl - tetrazolium chloride (TTC), *Enterobacter cloacae* SM1, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1