



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.006

www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/201802143.pdf

臭氧水浓度衰减及其杀菌作用

鲁建云¹, 李苗苗¹, 高丽华¹, 潘伊枝¹, 向亚平¹, 黄进华¹, 蒋先镇²

(中南大学湘雅三医院 1.皮肤科; 2.泌尿外科, 长沙 410013)

[摘要] **目的:** 检测在不同温度下产生的臭氧水的初始浓度以及室温(25 ℃)下臭氧水浓度的衰减规律, 同时观察不同浓度臭氧水对各种常见病原微生物的杀灭效果。**方法:** 采用HZ-2601B臭氧水疗仪制备不同温度的臭氧水, 用在线检测法检测臭氧水浓度, 平板培养法观察不同浓度臭氧水的杀菌效果。**结果:** 水温为20, 25, 30, 35及40 ℃时臭氧水疗仪产生的臭氧水的初始浓度分别为4.38, 4.26, 3.12, 2.76及1.31 mg/L; 0~10 min臭氧水浓度衰减速度较快; 当臭氧水初始温度为25和30 ℃时, 30 min后浓度分别为1.06和0.37 mg/L。平板试验结果显示浓度为1.0 mg/L臭氧水作用1 min对铜绿假单胞菌的杀灭率为99%, 对其他常见菌的杀灭率为100%。浓度为0.3 mg/L臭氧水作用1 min对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、耐药金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及白色念珠菌的杀灭率分别为100%, 100%, 100%, 95%和92%。**结论:** HZ-2601B型臭氧水疗仪所生成的臭氧水初始浓度随温度升高而降低; 水温在20~30 ℃的臭氧水对常见病原菌具有较好的杀菌效果。

[关键词] 臭氧水; 浓度衰减; 杀菌

Attenuation rules and germicidal efficacy of ozonated water

LU Jianyun¹, LI Miaomiao¹, GAO Lihua¹, PAN Yizhi¹, XIANG Yaping¹, HUANG Jinhua¹, JIANG Xianzhen²

(1. Department of Dermatology; 2 Department of Urology, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

ABSTRACT

Objective: To determine initial concentrations of ozonated water under different temperatures, attenuation rules of ozonated water under the room temperature (25 ℃), and to inspect the effects of ozonated water under different concentrations on common microorganisms.

Methods: The online test method and the plate cultivation method were employed to check the concentrations and killing rates on common microorganisms of ozonated water produced by HZ-2601 B Ozone Water Generating Instrument.

收稿日期(Date of reception): 2017-02-25

第一作者(First author): 鲁建云, Email: xiaoyun3@csu.edu.cn

通信作者(Corresponding author): 蒋先镇, Email: xhxyjxz@126.com

基金项目(Foundation item): 湖南省中医药管理局项目(201520); 湖南省发展与改革委员会科研基金(湘发改[2014]658号); 中南大学湘雅三医院“新湘雅人才工程”(20170309); 中南大学中央高校基本科研业务费专项资金(2016zzts574)。This work was supported by the Program of Administration of Traditional Chinese Medicine of Hunan Province (201520), the Project of Development and Reform Commission of Hunan Province ([2014]658), the New Xiangya Talent Projects of the Third Xiangya Hospital of Central South University (20170309), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities of Central South University (2016zzts574), China.

Results: The initial concentrations of ozonated water at 20, 25, 30, 35, and 40 °C were 4.38, 4.26, 3.12, 2.76, and 1.31 mg/L, respectively. The ozonated water was rapidly attenuated at first 10 min. The concentration of ozonated water still remained at 1.06 mg/L and 0.37 mg/L at 25 and 30 °C after 30 min. The average killing rates for *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* in 1.0 mg/L ozonated water for 1 min were 99%, 100%, 100%, 100%, and 100%, respectively. The average killing rates of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans* in 0.3 mg/L ozonated water for 1 min were 100%, 100%, 100%, 95%, and 92%, respectively.

Conclusion: The initial concentrations of ozonated water produced by HZ-2601 B Ozone Water Generating Instrument decrease with the increase of temperature. Ozonated water under 20–30 °C has good sterilization effect on common microorganisms.

KEY WORDS

ozonated water; concentration attenuation; sterilization

臭氧发现于19世纪中期,是由3个氧原子组成的不稳定气体,微量浓度时有一种清新的气味,在水中溶解度大,易分解^[1-2]。由于臭氧具有高效、广谱杀菌作用,在医学多个领域中被广泛应用^[3-4]。本课题组从2009年开始尝试应用臭氧水治疗皮肤黏膜疾患,并创新研发大流量的臭氧水生成设备用于皮肤病的清创、湿敷和洗浴,发现臭氧水疗有助于缓解特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)患者病情,可能与臭氧水疗减少皮损处的细菌定植有关^[5-6]。但该设备所生成的臭氧水在常温环境下不同温度的初始浓度以及衰减规律尚不清楚。因此,本课题组利用在线检测法测定不同水温臭氧水的初始浓度及在室温下不同温度臭氧水浓度随时间衰减的规律,同时研究其对常见病原菌株的杀菌作用,为医用臭氧在临床的应用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

臭氧水疗仪为湘雅三医院皮肤科专利技术转化产品,湖南海贻医疗科技有限公司生产(型号: HZ-2601B),湘食药监械(准)字2013第2260074号(更)(注册产品标准号: YZB/湘0015-2013)。在线余氯测定仪为韩国M-Cubic公司生产(型号: CL96)。菌种由湘雅三医院检验科微生物实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 不同温度下的臭氧水初始浓度的检测及其衰减规律

1.2.1.1 实验方案

检测水温分别为20, 25, 30, 35及40 °C臭氧水

的初始浓度并分别测定室温(25 °C)下以上不同温度的臭氧水在分别静置5, 10, 20, 及30 min后的臭氧水浓度。

1.2.1.2 实验方法

在线检测法:按照说明书安装仪器,将吸水管放置于HZ-2601B臭氧水疗仪制备的不同温度臭氧水中,然后记录显示仪的读数,单位为mg/L。

1.2.2 悬液定量杀菌试验

制备菌液:将菌种于营养琼脂培养基斜面培养18~24 h,无菌挑取新鲜培养物,混悬于无菌生理盐水,麦氏比浊法调整菌悬液含菌量(染菌量 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ CFU/mL)。取1.0 mL菌液与4.0 mL臭氧水原液混合(阴性对照为无菌生理盐水)。振荡摇匀后,作用1 min,分别取0.5 mL混合液至含4.5 mL中和剂(10 g/L硫代硫酸钠的磷酸盐缓冲液)的试管中,10 min后,吸取1.0 mL样品,均匀平铺在琼脂平板上,置于37 °C培育箱中,24 h后观察菌落数目,计数生理盐水对照组菌落数(A)和实验组单块平板菌落数(B),杀菌率= $B/A \times 100\%$,试验重复3次,取平均值。

2 结果

2.1 不同温度下臭氧水的浓度变化

在常温(25 °C)常压下,水温分别为20, 25, 30, 35及40 °C臭氧水的初始浓度分别为4.38, 4.26, 3.12, 2.76及1.31 mg/L, 0~10 min臭氧水浓度衰减较快,初始温度为40 °C时10 min后臭氧水浓度0.18 mg/L, 25和30 °C的臭氧水静置30 min后浓度分别为1.06和0.37 mg/L(图1)。

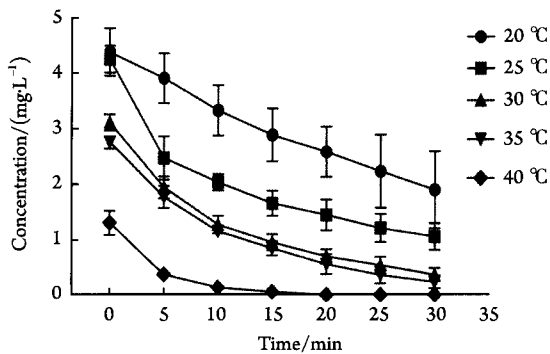


图 1 不同温度臭氧水的初始浓度及衰减曲线
Figure 1 Initial concentrations and decay curves of ozonated water under different temperatures

表 1 不同浓度臭氧水对常见菌株的杀菌效果

Table 1 Sterilizing effects of ozonated water under different concentrations on common strains

菌株	杀菌率/%					
	4.0 mg/L	2.0 mg/L	1.0 mg/L	0.3 mg/L	0.2 mg/L	0.1 mg/L
大肠杆菌	100	100	100	100	98	—
金黄色葡萄球菌	100	100	100	100	98	—
耐药金黄色葡萄球菌	100	100	100	100	—	—
铜绿假单胞菌	100	100	99	95	—	—
白色念珠菌	100	100	100	92	—	—

“—” 杀菌作用不明显。温度为 20~30 °C，结果为 3 次结果平均值

3 讨论

臭氧是一种具有强氧化性的活泼气体，通过氧化细菌内部葡萄糖氧化酶，直接作用于细菌蛋白质、DNA/RNA 等生命基础物质，破坏细菌细胞壁等多重作用机制杀灭细菌^[7-8]，且不产生耐药性^[9]。另外，臭氧的最终产物是氧气，不仅能够给局部组织提供氧气，改善微循环，促进创面愈合，并且无药物残留，安全无污染^[10-11]。目前臭氧疗法已广泛应用于细菌、真菌或病毒感染引起的各种感染性皮肤病、风湿病及腰椎间盘突出等多种医学领域^[12]。

由于臭氧在水中不稳定，易衰减挥发，其浓度衰减受多种因素影响，其中水温是影响臭氧溶解及稳定性的重要因素^[13]，因此，研究臭氧水疗仪在常温下不同水温生产的臭氧水的初始浓度，臭氧水浓度随时间衰减的规律，以及不同浓度的臭氧水对各种病原微生物的杀灭作用，对于临床合理有效地使用臭氧水治疗各种皮肤黏膜疾患具有实际指导意义^[14-15]。本研究使用在线检测法实时检测了不同水温 HZ-2601B 型臭氧水疗仪所产生的臭氧水的臭氧浓度及

2.2 臭氧水定量杀菌作用

在常温(25 °C)常压下，新制臭氧水作用 1 min 对标准菌株大肠杆菌(8099)、金黄色葡萄球菌(ATCC6538)、耐药金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌(9201)、白色念珠菌(ATCC10231)的杀灭率可达 100%；浓度为 1.0 mg/L 臭氧水作用 1 min 对铜绿假单胞菌的杀灭率为 99%，对其他常见菌的杀灭率为 100%。浓度为 0.3 mg/L 臭氧水作用 1 min 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、耐药金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及白色念珠菌的杀灭率分别为 100%，100%，100%，95% 和 92%。浓度为 0.2 mg/L 臭氧水作用 1 min 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的杀灭率均为 98%(表 1)。

其衰减规律，结果显示臭氧水的初始温度决定了臭氧水的浓度，初始温度越高，臭氧水的初始浓度越低，当初始温度达 40 °C 时臭氧水的初始浓度明显降低，静置 10 min 后浓度低于 1.0 mg/L。衰减后的臭氧水浓度将直接影响临床的治疗效果，因此，临床上应该根据患者身体状况、皮损特点等选择合适的臭氧水疗温度，温度越低臭氧水的有效浓度维持时间越长，如需选择较高温度臭氧水治疗，则需多次更换或补充臭氧水以维持足够的浓度。通过平板试验发现 1.0 mg/L 的臭氧水能快速杀灭金黄色葡萄球菌、耐药金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌等，结合常温下臭氧水的衰减规律，发现初始温度为 25~30 °C 的臭氧水静置 30 min 后仍有较好的杀菌作用，选择该温度范围的臭氧水有利于临床的有效治疗。

本研究首次准确地测定了 HZ-2601B 型臭氧水疗仪在不同温度下产生的臭氧水的初始浓度及在室温下其浓度的衰减规律，同时发现低浓度的臭氧水仍对常见病原微生物具有强效的杀灭作用，为临床应用提供了指导。由于本研究仅限于静置而非治疗状

态, 臭氧浓度的衰减可能与伤口面积大小、疾病种类等多种因素有关, 因此, 治疗不同疾病状态时的臭氧水浓度变化值得进一步探讨。

利益冲突声明: 作者声称无任何利益冲突。

参考文献

- [1] Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review[J]. *J Nat Sci Biol Med*, 2011, 2(1): 66-70.
- [2] Bialoszewski D, Kowalewski M. The clinical efficacy of the local, deep insufflation of an oxygen-ozone mixture in the prevention and treatment of infections in the locomotor system[J]. *Ortop Traumatol Rehabil*, 2001, 3(4): 552-556.
- [3] Bialoszewski D, Bocian E, Bukowska B, et al. Antimicrobial activity of ozonated water[J]. *Med Sci Monit*, 2010, 16(9): MT71-75.
- [4] Doroszkiwicz W, Sikorska I, Jankowski S. Ozone as sensititizer of bacteria to the bactericidal action of complement[J]. *Acta Microbiol Pol*, 1993, 42(3/4): 315-319.
- [5] 张英博, 向亚平, 黄进华, 等. 联合臭氧水治疗特应性皮炎患者的疗效及白细胞介素4、神经生长因子检测[J]. *中华皮肤科杂志*, 2016, 49(10): 736-738.
ZHANG Yingbo, XIANG Yaping, HUANG Jinhua, et al. Combined ozone hydrotherapy for atopic dermatitis: evaluation of efficacy and detection of interleukin-4 and nerve growth factor levels in peripheral blood from patients before and after treatment[J]. *Chinese Journal of Dermatology*, 2016, 49(10): 736-738.
- [6] 毕志刚, 田美华, 林麟, 等. 湿疹与特应性皮炎皮损处细菌学的研究[J]. *中华皮肤科杂志*, 2004, 37(10): 595-597.
BI Zhigang, TIAN Meihua, LIN Lin, et al. Bacteriological study on the skin lesions of patients with eczema and atopic dermatitis[J]. *Chinese Journal of Dermatology*, 2004, 37(10): 595-597.
- [7] Paraskeva P, Graham NJ. Ozonation of municipal wastewater effluents[J]. *Water Environ Res*, 2002, 74(6): 569-581.
- [8] Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, et al. Ozone and ozonated oils in skin diseases: Review[J]. *Mediators Inflamm*, 2010, 2010: 610418.
- [9] 邱勤业, 余斌. 医用臭氧对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的杀灭作用[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(4): 929-930.
QIU Qinye, YU Bin. The study of medical ozone to sterilize *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2010, 30(4): 929-930.
- [10] 黄华军, 余斌, 林庆荣, 等. 臭氧水对感染性创面抗炎修复的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(3): 515.
HUANG Huajun, YU Bin, LIN Qingrong, et al. Effect of ozonated water on the inflammation and repair in infected wounds[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2010, 30(3): 515.
- [11] Baysan A, Lynch E. The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Ozone and root caries[J]. *Prim Dent Care*, 2006, 13(1): 37-41.
- [12] 徐亚军, 刘衡川, 谷素英, 等. 高浓度臭氧水稳定性及杀菌效果的试验观察[J]. *中国消毒学杂志*, 2007, 24(1): 8.
XU Yajun, LIU Hengchuan, GU Suying, et al. Experimental observation on stability and germicidal efficacy of high-concentration ozonated water[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2007, 24(1): 8.
- [13] 王华然, 王尚, 李昀桥, 等. 臭氧在水中的溶解特性及其影响因素研究[J]. *中国消毒学杂志*, 2009, 26(5): 481-483.
WANG Huaran, WANG Shang, LI Junqiao, et al. Study on dissolving characteristics and influential factors of ozone in water[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2009, 26(5): 481-483.
- [14] Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, et al. Ozone therapy in medicine and dentistry[J]. *J Contemp Dent Pract*, 2008, 9(4): 75-84.
- [15] Viebahn-Hänsler R, Fernandez OSL, Fahmy Z. Ozone in medicine: the low-dose ozone concept-guidelines and treatment strategies[J]. *Ozone: Science and Engineering*, 2012, 34(6): 408-424.

(本文编辑 陈丽文)

本文引用: 鲁建云, 李苗苗, 高丽华, 潘伊枝, 向亚平, 黄进华, 蒋先镇. 臭氧水浓度衰减及其杀菌作用[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2018, 43(2): 143-146. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.006

Cite this article as: LU Jianyun, LI Miaomiao, GAO Lihua, PAN Yizhi, XIANG Yaping, HUANG Jinhua, JIANG Xianzhen. Attenuation rules and germicidal efficacy of ozonated water[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2018, 43(2): 143-146. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.02.006