

高铁酸钾对几种常见鱼类病原菌的杀菌效果测定

刘乾甫^{1,2} 汪建国¹ 李明³ 凌飞^{1,2} 龚小宁¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 武汉工业学院饲料科学系, 武汉 430023)

摘要: 试验测定了高铁酸钾 (K_2FeO_4) 溶液对 8 种常见鱼类病原菌的 MIC (最小抑菌浓度, minimal inhibitory concentration, MIC) 和 MBC (最低杀菌浓度, minimal bactericidal concentration, MBC), 并研究了不同浓度的 K_2FeO_4 溶液对几种病原菌的杀灭效果。结果显示, K_2FeO_4 对温和气单胞菌 (*Aeromonas sobria*)、河弧菌 (*Vibrio fluvialis*)、弧菌 I 组淡水亚组弧菌 (*Vibrio* group I freshwater subgroup) 的抑制效果良好; 当各试验菌液浓度约为 10^5 cfu/mL 时, 施以 K_2FeO_4 溶液作用 1h 后, 对以上两种弧菌亦表现出最优的杀灭效果; 基于以上试验结果, 选取这两种最为敏感的病原菌测定其长势随消毒剂浓度和时间的变化情况。研究对于使用 K_2FeO_4 浸泡消毒鱼体或全池泼洒消毒池塘时具有指导意义, 并为使用 K_2FeO_4 防治鱼类弧菌病研究工作的展开打下基础。

关键词: 高铁酸钾; (鱼类) 病原菌; MIC; MBC; 杀菌效果

中图分类号: S942 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207 (2009) 05-0818-08

高铁 () 酸钾 (K_2FeO_4) 是 20 世纪 70 年代以来开发的新型多功能化学合剂。高铁酸钾是一种暗紫色、有金属光泽的粉末状晶体, 化学式为 K_2FeO_4 , 具有很强的氧化性, 它的氧化能力强于臭氧 (O_3)、二氧化氯 (ClO_2)、高锰酸钾 ($KMnO_4$) 等, 而且其还原产物为 $Fe()$ 化合物, 具有絮凝助凝作用, 目前被广泛用作氧化剂^[1-3]、杀菌^[4] / 消毒剂^[5-7]、絮凝剂^[8] 和水处理剂^[9-11]。

鱼类细菌性疾病是目前危害渔业生产最严重的一类疾病, 已占整个鱼类疾病的 40%—50%, 因此对鱼类细菌性疾病的研究与防治一直是鱼病学主要研究领域之一。细菌性疾病可分为两种情况: 一是急性细菌性传染病, 此型发病急, 病程短, 死亡率高, 而且多以败血症出现, 有的已呈暴发性趋势; 另一种是慢性溃烂病, 此型流行范围不广, 多以慢性出现, 一般不会造成大批养殖鱼类的死亡, 但由于体表溃烂、损伤, 鱼的商品经济价值也大大降低。为避免不必要的损失, 保证养殖鱼类的品质和产量, 在水产养殖生产过程中, 常用化学消毒剂对池水进行杀菌消毒以达到防治水产动物病害的目的。然而, 向池水泼洒化学消毒剂会打破池水微生物群落结构, 影响生物间的平衡关系, 直接或间接地对水产养殖动物

产生不利影响^[12, 13]; 有些化学消毒剂在消毒作用过程中的分解产物具有致突变致癌效应^[14, 15], 可对水生动物及人体健康产生严重危害。在重视无公害水产品生产的新形势下, 采用新的高效低毒低残留药剂来防治病害或改善养殖水体生态环境已越来越受到广泛的重视。

结合 K_2FeO_4 具有强氧化、杀菌、消毒、絮凝、去污除臭等优点, 本文探讨了高铁酸钾应用于防治鱼类细菌性疾病的可行性。试验选取常见的 8 种鱼类病原菌, 研究高铁酸钾对它们的 MIC (最小抑菌浓度, minimal inhibitory concentration, MIC)、MBC (最低杀菌浓度, minimal bactericidal concentration, MBC) 以及不同浓度的高铁酸钾溶液对各试验菌的杀灭效果。并选取敏感性好、易于被杀灭的试验菌, 测定其细菌数目随高铁酸钾溶液浓度和时间变化的生长趋势, 为进一步使用高铁酸钾防治这类细菌性疾病的用药时间和剂量打下研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料 试验菌: CR79-1-1 (*Aeromonas sobria*, 温和气单胞菌)、SC90-2-4 (*Yersinia ruckeri*, 鲁克氏耶尔森菌)、XS91-4-1 (*Aeromonas hydrophila*, 嗜水气单

收稿日期: 2008-08-01; 修订日期: 2009-03-12

基金项目: 国家支撑计划项目 (2007BAD37B03); 湖北省科技攻关计划 (2007AA203A01); 973 计划项目 (2009CB118700) 资助

作者简介: 刘乾甫 (1982—), 男, 湖北省枣阳市人; 博士研究生; 主要从事鱼病学研究。E-mail: liuqianfulq@yahoo.com.cn

通讯作者: 汪建国, 研究员, 博士生导师, E-mail: wangjg@ihb.ac.cn

胞菌)、WY91-24-3 (*Vibrio fluvialis*, 河弧菌)、ST78-3-3 (*Aeromonas punctata* subsp. *punctata*, 点状产气单胞菌点状亚种)、56-12-10 (*Pseudomonas fluorescent*, 荧光假单胞菌)、SGL85-4-2 (*Vibrio* group I freshwater subgroup, 弧菌 I 组淡水亚组弧菌)、58-20-9 (*Aeromonas punctata* f. *intedtinialis*, 肠型点状产气单胞菌)。以上细菌都是来自本实验室分离鉴定出的鱼类病原菌种。主要试剂:高铁酸钾,土褐色块状或粉末状固体,购自陕西省西安天顺精细化工厂。NaCl,分析纯。

1.2 方法

1.2.1 高铁酸钾纯度的测定 根据 phen 分光光度法^[16]测定购回的 K_2FeO_4 的纯度。方法:(1)配制高铁酸钾溶液,高速离心,吸取上清液,再次离心,如此多次,以去除杂质;(2)还原 FeO_4^{2-} ,并以标准 Fe^{2+} 溶液对 FeO_4^{2-} 进行标定;(3)分光光度法直接测定 K_2FeO_4 溶液 OD 值,建立回归方程;(4)经转化计算求得原样中高铁酸钾的纯度。

1.2.2 试验菌的准备 平皿划线法接种细菌到平皿培养基中倒置于恒温培养箱培养 18h (培养温度 30 ± 0.2),挑取单克隆菌株接种到试管中培养 28h,用无菌水封存备用。每次试验前重新接种试验菌。

1.2.3 细菌数目的估测和稀释倍数的确定 充分洗涤菌苔,混匀,倒入灭过菌的干净试管中,跟已知颗粒数的 $BaSO_4$ 比浊法对照,大致确定细菌数目的数量级,用无菌水逐级稀释菌液,使之数目达到目标范围。

1.2.4 试验菌药物敏感性的测定^[17] 向 96 孔板中每孔加入无菌水 80 μ L,配制 39.4 mg/L 的高铁酸钾溶液,滤膜过滤,用微量移液器吸取 80 μ L 打入第一孔,反复吸打几次,再吸取 80 μ L 打入第二孔,如此直至第十孔,使每排由左至右经逐级稀释后高铁酸钾浓度依次为 19.2、9.6、4.8、2.4、1.2、0.6、0.3、0.15、0.075、0.0375 mg/L;向孔板中加入 10^4 — 10^5 个/mL 的稀释菌液 10 μ L,第 11 孔只加菌液作对照,第 12 孔不加菌液和药液,作空白对照。每排做一种试验菌。加完菌后将孔板置于微量振荡器上稍许振荡;待药菌作用 1h 后,向每孔加入 10 μ L 浓缩的无菌营养肉汤培养基 (18%),再将孔板置于微量振荡器上振荡稍许;最后将孔板置入 (30 ± 0.3) 的培养箱中培养,观察细菌生长情况 (一般培养 8—16h 后,对照光亮可见孔内有无细菌)。

当第 11 孔长出细菌时看对应的前面孔,浓度最

低的且肉眼未见有细菌的浓度即为本试验浓度下 K_2FeO_4 对该细菌的最小抑菌浓度 (Minimal inhibitory concentration, MIC)。继续将孔板放置于培养箱中培养 12h 左右,未见有或仅有极少量细菌生长的最低浓度即为本实验浓度下 K_2FeO_4 对该细菌最低杀菌浓度 (minimal bactericidal concentration, MBC)。

1.2.5 不同浓度高铁酸钾对几种病害菌的杀菌效果 试验测定当高铁酸钾浓度为 1.2、2.4、7.2、12 mg/L 时,对几种试验菌作用 1h 后的杀菌效果。具体方法为:充分洗涤菌苔,比浊法确定细菌大致数目,逐级稀释 10^5 cfu/mL 左右的浓度;配制 39.4 mg/L 浓度的 K_2FeO_4 溶液滤膜过滤,并分别稀释成 1.2、2.4、7.2、12 mg/L 的溶液,各取 900 μ L 分装入不同的离心管中;向不同浓度下的药液中分别加入以上稀释的菌液 100 μ L,作用 1h 后,再稀释涂板计数。每一稀释度下涂 3 个平板。同时吸取未加药的菌液涂 3 个平板,作对照组。将涂过的平板倒置于恒温培养箱 (温度 30 ± 0.3) 中培养 20h 观察计数。同样方法,测定 1.2、2.4、7.2、12 mg/L 的 K_2FeO_4 消毒液对其他几种试验菌的杀菌效果。每个试验都重复 4 次。

1.2.6 两种病原菌随时间和消毒剂浓度的变化的生长趋势研究 本试验以以上试验得到的两种对 K_2FeO_4 敏感性良好且易于被杀灭的病原菌为试验菌,测定加入不同浓度的消毒液后,病原菌随时间变化的生长趋势。具体方法为:在 1.5 mL EP 管中逐级稀释试验菌液,使达到浓度约为 10^5 cfu/mL,向其中加入 1.2、2.4、7.2 和 12 mg/L 浓度的高铁酸钾消毒液,并于 2、8、24、32h 后取微量菌液 (0.1 mL) 涂板计数。其中在 2h 取液后,加入适量灭过菌的无琼脂培养基,以保证细菌正常繁殖所必需的营养条件。

2 结果

2.1 高铁酸钾的纯度

由 phen 分光光度法得到的 OD 值与 C_{Fe}^{2+} 的函数关系式为: $A = 0.005 + 12241.071 C_{Fe}^{2+}$ (相关系数 $R = 0.9985$),根据浓度转换得到高铁酸钾纯度为 29.75%。

2.2 高铁酸钾对试验菌的 MIC 和 MBC

通过微量稀释法测得的结果 MIC (表 1) 和 MBC (表 2)。由试验得到结果: K_2FeO_4 对常见的 8 种鱼类病原菌: CR79-1-1、SC90-2-4、XS91-4-1、WY91-24-3、ST78-3-3、56-12-10、SGL85-4-2、58-20-9 的 MIC 分别为 1.2、4.8、4.8、1.2、2.4、2.4、1.2、2.4 mg/L; MBC 分别为 19.2、19.2、9.6、9.6、19.2、19.2、9.6、>19.2 mg/L。

表 1 微量稀释法测定的细菌的 MIC 结果

Tab. 1 The MICs results of the bacteria determined by micro-dilution procedures

菌 号 No.	浓度 长 势 Results Concentration (mg/L)											
		19.2	9.6	4.8	2.4	1.2	0.6	0.3	0.15	0.075	0.0375	0
空白												
CR79-1-1		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
SC90-2-4		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
XS91-4-1		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
WY91-24-3		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ST78-3-3		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
56-12-10		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
SGL85-4-2		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
58-20-9		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

注：- 表示孔内没有细菌；+ 表示长有细菌
Note: - expressed the hole does not have the bacteria; + expressed that hole has the bacteria

表 2 微量稀释法测定的细菌的 MBC 结果

Tab. 2 The MBCs results of the bacteria determined by micro-dilution procedures

菌 号 No.	浓度 长 势 Results Concentration (mg/L)											
		19.2	9.6	4.8	2.4	1.2	0.6	0.3	0.15	0.075	0.0375	0
空白												
CR79-1-1		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SC90-2-4		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
XS91-4-1		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
WY91-24-3		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ST78-3-3		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
56-12-10		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SGL85-4-2		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58-20-9		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注：- 表示孔内没有细菌；+ 表示长有细菌
Note: - expressed the hole does not have the bacteria; + expressed that hole has the bacteria

2.3 不同浓度的高铁酸钾对几种试验菌的杀菌效果

本实验多次重复,采用涂平板计数的方式分别测定了不同浓度的 K_2FeO_4 溶液对常见的 8 种鱼类病原菌: CR79-1-1、SC90-2-4、XS91-4-1、WY91-24-3、ST78-3-3、56-12-10、SGL85-4-2、58-20-9 的杀菌效果(表 3)。

2.4 高铁酸钾对 8 种试验菌的杀菌效果比较

高铁酸钾对 8 种试验菌的杀菌效果比较(图 1)。高铁酸钾对两种弧菌类试验病原菌 WY91-24-3、SGL85-4-2 有很好的杀灭效果,在较低浓度 2.4

mg/L、7.2 mg/L 下达到很高的杀菌率,分别为 94.21%、100% 和 95.45%、100%;对 XS91-4-1、CR79-1-1、56-12-10、ST78-3-3 的杀灭效果次之;对 SC90-2-4、58-20-9 杀灭效果最差。

2.5 试验菌 WY91-24-3、SGL85-4-2 随消毒剂浓度和时间变化的生长趋势

当试验菌 WY91-24-3、SGL85-4-2 菌液浓度约为 10^5 cfu/mL 时,1.2、2.4、7.2 和 12 mg/L 浓度的高铁酸钾消毒液作用 2h、8h、24h、32h 后随消毒剂浓度和时间变化的生长趋势(表 4、图 2 和图 3)。

表 3 不同浓度的高铁酸钾对 8 种试验菌的杀菌效果

Tab. 3 The gemicidal efficacy of different concentrations potassium ferrates solution against eight kinds of pathogens

菌号 Bacterial No.	浓度 Concentration (mg/L)	对照组平均细菌数 Average bacterial number of control group (cfu/mL)	药菌作用 1h后平均菌落数 Average colony number after the drug-bacteria affected 1h (cfu/mL)	杀菌率 Bactericidal coefficient(%)
CR79-1-1	0.6	1.41 ×10 ⁵	8.3 ×10 ⁴	41.13
	1.2	1.41 ×10 ⁵	2.7 ×10 ⁴	80.85
	2.4	1.41 ×10 ⁵	6.5 ×10 ³	95.39
	7.2	1.41 ×10 ⁵	5 ×10 ²	99.65
	12	1.41 ×10 ⁵	0	100
SC90-2-4	0.6	N	N	N
	1.2	9.15 ×10 ⁴	6.8 ×10 ⁴	25.68
	2.4	9.15 ×10 ⁴	3.9 ×10 ⁴	57.38
	7.2	9.15 ×10 ⁴	5.04 ×10 ³	94.49
	12	9.15 ×10 ⁴	0	100
XS91-4-1	0.6	N	N	N
	1.2	1.26 ×10 ⁵	6.5 ×10 ⁴	48.41
	2.4	1.26 ×10 ⁵	3.4 ×10 ⁴	73.02
	7.2	1.26 ×10 ⁵	5 ×10 ²	99.60
	12	1.26 ×10 ⁵	0	100
W Y91-24-3	0.6	1.21 ×10 ⁵	8.4 ×10 ⁴	30.58
	1.2	1.21 ×10 ⁵	1.1 ×10 ⁴	90.90
	2.4	1.21 ×10 ⁵	7 ×10 ³	94.21
	7.2	1.21 ×10 ⁵	0	100
	12	1.21 ×10 ⁵	0	100
ST78-3-3	0.6	4.10 ×10 ⁵	3.15 ×10 ⁵	23.17
	1.2	4.10 ×10 ⁵	1.67 ×10 ⁵	59.27
	2.4	4.10 ×10 ⁵	5.75 ×10 ⁴	85.98
	7.2	4.10 ×10 ⁵	5 ×10 ³	98.78
	12	4.10 ×10 ⁵	0	100
56-12-10	0.6	1.32 ×10 ⁵	8.9 ×10 ⁴	32.58
	1.2	1.32 ×10 ⁵	4.1 ×10 ⁴	68.94
	2.4	1.32 ×10 ⁵	1.4 ×10 ⁴	89.39
	7.2	1.32 ×10 ⁵	2.0 ×10 ³	98.48
	12	1.32 ×10 ⁵	0	100
SGL85-4-2	0.6	1.21 ×10 ⁵	8.7 ×10 ⁴	28.10
	1.2	1.21 ×10 ⁵	1.0 ×10 ⁴	91.74
	2.4	1.21 ×10 ⁵	5.5 ×10 ³	95.45
	7.2	1.21 ×10 ⁵	0	100
	12	1.21 ×10 ⁵	0	100
58-20-9	0.6	4.01 ×10 ⁵	2.38 ×10 ⁵	40.65
	1.2	4.01 ×10 ⁵	1.99 ×10 ⁵	50.37
	2.4	4.01 ×10 ⁵	1.14 ×10 ⁵	71.57
	7.2	4.01 ×10 ⁵	5.05 ×10 ⁴	87.41
	12	4.01 ×10 ⁵	0	100

注: N表示未作处理

Note: N expressed that had not been processed

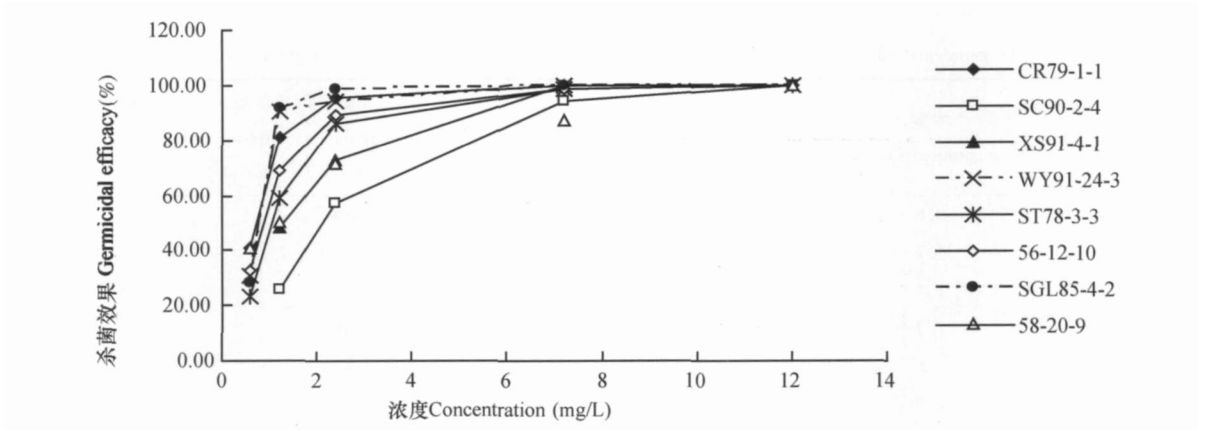


图 1 高铁酸钾对 8 种试验菌的杀菌效果比较图

Fig. 1 Comparison of the germicidal efficacy of potassium ferrates solution against eight kinds pathogens

表 4 不同浓度的高铁酸钾消毒液对 WY91-24-3、SGL85-4-2 的杀菌效果及随时间变化表

Tab. 4 Growth trends of WY91-24-3 and SGL85-4-2 under different concentrations of potassium ferrate and time

菌号 Bacterium No.	浓度 Density (mg/L)	时间 Time (h)				
		0	2	8	24	32
WY91-24-3	1.2	336000	137000	310000	610000	1157000
	2.4	336000	10000	30000	113000	853000
	7.2	336000	0	630	4270	11600
	12	336000	0	0	0	2000
SGL85-4-2	1.2	223000	76700	120000	393000	2593000
	2.4	223000	6700	26700	163000	1458000
	7.2	223000	0	0	60000	350000
	12	223000	0	0	2000	20000

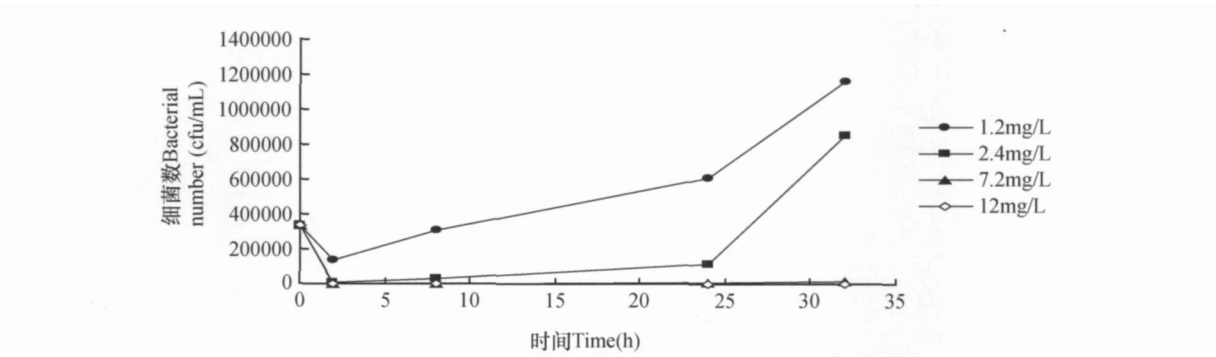


图 2 WY91-24-3 随消毒剂浓度和时间变化的生长趋势

Fig. 2 Growth trends of WY91-24-3 under different concentrations of disinfectant and time

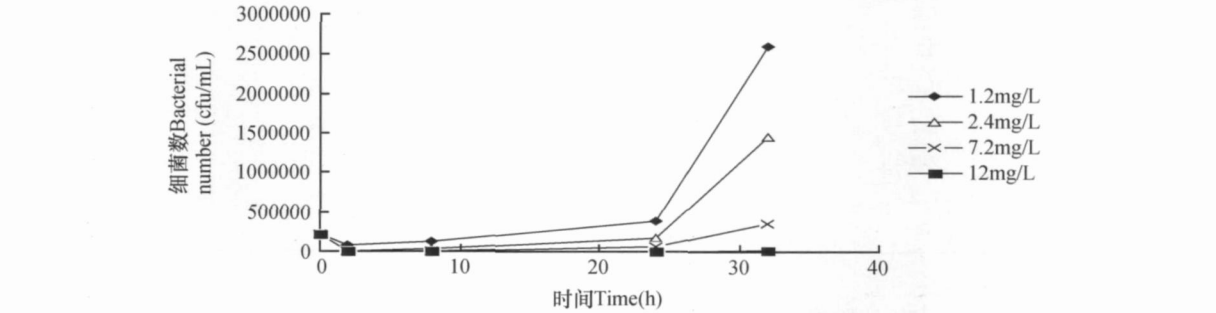


图 3 SGL85-4-2 随消毒剂浓度和时间变化的生长趋势

Fig. 3 Growth trends of SGL85-4-2 under different concentrations of disinfectant and time

3 讨论

3.1 高铁酸钾的研究现状

消毒剂、杀菌剂被广泛应用于医学、食品、养殖等行业中。对高铁酸钾(盐)的研究已经持续多年,直到最近才得以商业化的大量使用。就其成本来算,单一使用高铁酸钾就收到兼具氧化、絮凝、杀菌/消毒等方面的良好效果,比分别使用氧化剂、絮凝剂、消毒剂处理水体中污染物要低廉且方便得多。随着对高铁酸钾各种功用的研究工作的展开,大量试验结果表明高铁酸钾在氧化、去污去黏^[18,19]、脱色^[20]、除虫除臭、絮凝除藻^[21]等方面效果良好。目前还有人单独研究了它在杀菌方面的功用,阐明其对细菌的杀灭机理可能是通过其强烈的氧化作用,破坏细菌的某些结构(如细胞壁、细胞膜等)以及细胞结构中的一些功能性物质(如酶等),从而抑制和阻碍了蛋白质和核酸的合成,使菌体生长和繁殖受阻,起到杀死菌体的作用^[22-24]。对于其杀菌效果,很多人以大肠杆菌做了各方面的研究:Min, *et al.*^[25]测得当 pH=7.2 时,1.40 mg/L 的消毒液作用 5 min 就能将 30% 的大肠杆菌杀灭;当浓度增加到 6.25 mg/L 时作用相同时间杀菌率就能达到 70% 以上。Waite^[26]还测得 pH=8.0, T=27 时,10 mg/L 的高铁酸钾的溶液对大肠杆菌的杀菌率能达到 99.9%。加腾健司^[27]所作的研究还发现高铁酸钾的杀菌效果与消毒液浓度、药菌作用时间以及溶液的 pH 值都有很大关系,在一定范围内,杀菌效果与消毒液浓度、药菌作用时间成正相关,与 pH 值的高低成反相关。这些研究为将高铁酸钾作为杀菌剂使用奠定了基础。

3.2 鱼类病原菌对高铁酸钾的药物敏感性及其杀灭效果

不同的细菌、病毒对不同的药剂敏感,达到同一效果所要求的用药剂量、作用时间也不尽相同。关于细菌对高铁酸钾的药物敏感性及其杀菌效果,张秀丽等^[28]以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌黑色变种芽孢、白色念珠菌作为试验菌。结果表明,大肠杆菌对高铁酸钾最敏感,杀灭效果也最好,作用 5 min,平均杀菌率就可达 100%,而枯草杆菌黑色变种芽孢对高铁酸钾的敏感性最差,达到同样效果则必须增加消毒液浓度和延长作用时间。试验中,达到同样效果,最敏感的是最不敏感的细菌所要求剂量的 20 倍,作用时间也会延长 4—5 倍。

在鱼类病原菌中也是如此,本实验以 8 种常见

鱼类病害菌为试验材料,由微量稀释法测得的 8 种病原菌对 K_2FeO_4 的敏感性试验结果可以看出:两种弧菌对 K_2FeO_4 较为敏感,测得的 MIC、MBC 也较低,分别为 1.2、9.6 mg/L;当各试验菌菌落数约为 10^5 cfu/mL, K_2FeO_4 消毒液的浓度为 1.2、2.4、7.2、12 mg/L 时,对以上 8 种试验菌作用 1 h 后杀菌效果也差别很大。2.4 mg/L 的消毒液对 CR79-1-1、WY91-24-3、SGL85-4-2 就能达到 95% 以上的杀菌率;在低于或等于 7.2 mg/L 浓度时,更能将 WY91-24-3、SGL85-4-2 杀灭完全;而杀菌时间相同,对 XS91-4-1、ST78-3-3、56-12-10 则需要 7.2 mg/L 的消毒液才能达到 95% 以上的杀菌率;对 SC90-2-4、58-20-9 的杀灭效果要差一些。

对于两种弧菌类的 MIC、MBC 和杀菌效果测定,可以看出,弧菌类对高铁酸钾敏感,也较易被杀灭。本试验中测定的 1.2、2.4、7.2、12 mg/L 浓度的高铁酸钾消毒液对 WY91-24-3、SGL85-4-2 的杀菌效果及随时间变化图(表 4、图 2、图 3)可以看出低浓度(1.2、2.4 mg/L)的消毒液只能在短时间内起到抑制作用,待一定时间后,细菌数即能很快恢复到原来的水平,高浓度(7.2、12 mg/L)的消毒液对于细菌才有很好的杀灭作用。

因此,在使用高铁酸钾杀灭病原菌时,为达到理想的效果,必须考虑适当加大用药剂量或缩短再次施药的间隔时间。

3.3 高铁酸钾(盐)在水产业中的研究应用前景展望

当前,由弧菌属病原菌引起的鱼类疾病是在世界各地养殖鱼、虾、贝类等水产类动物中普遍流行、危害最大的细菌性疾病^[29],本文的研究结果对于使用高铁酸钾(盐)防治弧菌病具有指导意义,但是在实际用药中要考虑到多种因素,诸如:一天里最佳的施药时间;天气情况对用药浓度和药效的影响;水体中的藻类、微生物、有机物等对高铁酸钾杀菌效果的正/反作用;而在鱼类各生长时段最佳施药剂量的确定以及对于活体感染试验防治效果还有待更进一步的细致研究。

鱼类病害、渔业水质是影响养殖鱼类产量和质量的重要因素,目前高铁酸钾在水处理方面的应用研究较为成熟,这对使用高铁酸钾改善养殖水体具有借鉴和指导意义。就已得到的研究成果来看,高铁酸钾不失为一种最理想的水处理剂、杀菌剂和消毒剂。本文根据这一特性研究的高铁酸钾对鱼类病原菌的杀灭效果测定,也切实证明使用高铁酸钾对

水体中病原菌的清除,对于鱼类细菌性疾病的预防是可行的。它对鱼类病原菌和水中浮游生物很强的杀灭作用又为之被用作渔用消毒剂杀菌剂和水质改良剂奠定了基础。

然而,高铁酸钾开发为一种新的水产用渔药剂,需要做的工作很多,如对高铁酸钾的制备技术、保存技术的完善和药效及生物安全性、生态监测等方面的评定工作,可能需要几个部门和行业、一大批工作者的共同努力。

参考文献:

- [1] Shama V K, Smith J O, Milleo F J. Ferrate (VI) oxidation of hydrogen sulfide [J]. *Environ Sci Technol*, 1997, **31**: 2486—2491
- [2] Shama V K, Bloom J T, Joshi V N. Oxidation of ammonia by ferrate (VI) [J]. *Environ Sci Health*, 1998, **33**: 635—650
- [3] Shama V K, Rivera W, Smith J O, et al. Ferrate (VI) oxidation of aqueous cyanide [J]. *Environ Sci Technol*, 1998, **32**: 2608—2613
- [4] Mumann R K, Robinson P R. Experiments utilizing FeO_4^{2-} for purifying water [J]. *Water Res*, 1974, **8**: 543—547
- [5] Gilbert M B, Waite T D, Hare C. Analytical notes on investigation of the applicability of ferrate ion for disinfection [J]. *Am Water Works Assoc*, 1976, **68**: 495—497
- [6] Schink T, Waite T D. Inactivation of $\phi 2$ virus with ferrate (VI) [J]. *Water Res*, 1980, **14**: 1705—1717
- [7] Kazama F. Viral inactivation by potassium ferrate [J]. *Water Sci Technol*, 1995, **31** (5-6): 165—168
- [8] Jiang J Q, Lloyd B, Grigore L. Preparation and evaluation of potassium ferrate as an oxidant and coagulant for potable water treatment [J]. *Environ Eng Sci*, 2001, **18**: 323—331
- [9] Waite T. Feasibility of wastewater treatment with ferrate [J]. *Environ Eng ASCE*, 1979, **105**: 1023—1034
- [10] Waite T D, Gilbert M. Oxidative destruction of phenol and other organic water residuals by ferrate (VI) [J]. *Water Pollut Control Fed*, 1978, **50**: 543—551
- [11] Shama V K, O'Brien B, Smith J O. Removal of cyanide in rinse water by ferrate (VI) [J]. *Abstr Pap Am Chem Soc*, 1997, **213**: 238
- [12] Ai X H, Zhou J G, Mao A M. Effects of chlorine dioxide preparation on plankton and hydration [J]. *Freshwater Fisheries*, 1999, **29** (2): 11—14 [艾晓辉,周剑光,毛爱民. 二氧化氯制剂对水化成分及浮游生物的影响. 淡水渔业, 1999, **29** (2): 11—14]
- [13] Huang X Q, Li C L, Liu C W, et al. Two chemical disinfectants on the growth and metabolism of *Nannochloris oculata* [J]. *Marine Sciences*, 2002, **26** (7): 67—70 [黄翔鹤,李长玲,刘楚吾. 虾池两种常用消毒剂对微绿球藻生长与代谢的影响. 海洋科学, 2002, **26** (7): 67—70]
- [14] Booman G A, Dellarco V, Dunnick J K, et al. Drinking water disinfection byproducts: review and approach to toxicity evaluation [J]. *Environ Health Perspect*, 1999, **107** (Suppl 1): 207—217
- [15] Richardson S D. Water analysis: emerging contaminants and current issues [J]. *Anal Chem*, 2003, **75**: 2831—2857
- [16] Jia H D, Yang X L, Yang Y, et al. Direct spectrophotometric determination of ferrate (VI) compound in solution [J]. *Analytical Chemistry*, 1999, **27** (5): 617 [贾汉东,杨新玲,杨勇,等. 高铁酸盐的直接分光光度法测定. 分析化学, 1999, **27** (5): 617]
- [17] Li A H. Studies on drug resistance plasmid of fish bacterial pathogens and antibacterial activity of some drugs [D]. Thesis for Doctor of Science. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 1998 [李爱华. 我国鱼类病原菌、耐药质粒及几种药物抗菌作用的研究. 博士学位论文. 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 1998]
- [18] Wang B H, Kong F G, Zhang T K, et al. Removal of PAM from the sewage in oilfield by ferrate [J]. *Industrial Water Treatment*, 2004, **24** (1): 21—23 [王宝辉,孔凡贵,张铁锴,等. 高铁酸钾氧化法去除油田污水中聚丙烯酰胺的研究. 工业水处理, 2004, **24** (1): 21—23]
- [19] Chen Y, Wu H J, Kong F G, et al. A study of potassium ferrate for treatment of Polymer-containing wastewater from oilfield [J]. *Industrial Water & Wastewater*, 2004, **35** (2): 29—32 [陈颖,吴红军,孔凡贵,等. 高铁酸钾处理含聚合物油田污水的研究. 工业用水与废水, 2004, **35** (2): 29—32]
- [20] Gao Y M, Wang H R, Jia H D. On the decoloration of organic dyes with potassium ferrate carried by active clay [J]. *Henan Textile College Journal*, 2005, **17** (1): 7—8, 11 [高玉梅,王海荣,贾汉东. 黏土负载高铁酸钾对水体中有机染料的脱色作用. 河南纺织高等专科学校学报, 2005, **17** (1): 7—8, 11]
- [21] Ma J, Liu W, Sheng L, et al. Effect of acid on algae removal by pre-oxidation with potassium ferrate () [J]. *China Water & Wastewater*, 2000, **16** (9): 5—8 [马军,刘伟,盛力,等. 腐殖酸对高铁酸钾预氧化除藻效果的影响. 中国给水排水, 2000, **16** (9): 5—8]
- [22] Lu Z. Oil field water treatment technology [M]. Beijing: Oil Industry Press 1990, 224—225 [陆柱. 油田水处理技术. 北京:石油工业出版社. 1990, 224—225]
- [23] Kazama F. Inactivation of coliphage Q β by potassium ferrate [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1994, **118**: 345—350
- [24] Kazama F. Viral inactivation by potassium ferrate [J]. *Water Sci Technol*, 1995, **31**: 165—168
- [25] Min C, Yunho L, Wonyong C, et al. Study on Fe(VI) species as a disinfectant: Quantitative evaluation and modeling for inactivating *Escherichia coli* [J]. *Water Research*, 2006, **40**: 3580—3586
- [26] Waite T D. Feasibility of wastewater treatment with ferrate [J]. *Environ Engng Div*, 1979, **105**: 1023—1026
- [27] Jia T. Studies on gemicidal efficacy of potassium ferrate solution () [J]. *Water Treatment Technology*, 1984, **5** (1): 9—15 [加腾健司. 高铁酸钾的杀菌研究 (). 水处理技术 (日),

- 1984, 5(1): 9—15]
- [28] Zhang X L, Liao X G, Jia H D, *et al*. Experimental observation on gemicidal efficacy of stable potassium ferrate solution [J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2000, 10(2): 174—175 [张秀丽, 廖兴广, 贾汉东, 等. 稳定高铁酸钾溶液杀菌效力的研究. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(2): 174—175]
- [29] Wu H B, Pan J P. Virulence mechanisms of pathogenic *Vibrio* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(4): 422—426 [吴后波, 潘金培. 病原弧菌的致病机理. 水生生物学报, 2003, 27(4): 422—426]

THE GEMICIDAL EFFICACY OF POTASSIUM FERRATE (K_2FeO_4) AGAINST SEVERAL FISH-PATHOGENIC BACTERIA

LIU Qian-Fu^{1,2}, WANG Jian-Guo¹, LIMing³, LING Fei^{1,2} and GONG Xiao-Ning¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; 3. Feed Science Department, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023)

Abstract: It has been well documented that potassium ferrate is a strong and environmental friendly oxidant. Under the acidic conditions, the redox potential of ferrate () ions is higher than that of molecular ozone. The product of the ferrate () oxidation reactions is considered to be the ferric hydroxide, which is a useful coagulant and can enhance the water remediation performance. Additionally, others disinfectant chemicals including chlorine and ozone, which are powerful and successful to combat the harmful micro-organism-causing problems, but such disinfectants have been confirmed to be of health concern. So, as a healthy potential alternative, potassium ferrate has been widely used in the fields of drinking water and wastewater treatment; however, there is no available report of its application to aquaculture. The purpose of this study is to investigate whether potassium ferrate can be used as an aquacultural disinfectant. Prior to this study, the concentration of potassium ferrate was determined by spectrophotometry. The equation of concentrations of Fe^{2+} against OD values was obtained: $OD = 0.005 + 12241.071 C_{Fe^{2+}}^2$ ($r = 0.9985$), and then through transformation, the purity of potassium ferrate was 29.75%. In this study, eight kinds of fish-pathogenic bacteria were selected (*Aeromonas sobria*, *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis*, *Aeromonas punctata* subsp. *punctata*, *Pseudomonas fluorescent*, *Vibrio* group I freshwater subgroup, *Aeromonas punctata* f. *intestinalis*), the MIC (minimal inhibitory concentration, MIC) and MBC (minimal bactericidal concentration, MBC) of potassium ferrate against them were obtained, and the effect of potassium ferrate solution in different concentrations to sterilize these test germs were mensurated. The results showed that potassium ferrate had a better effect on inhibiting *Aeromonas sobria*, *Vibrio fluvialis*, and *Vibrio* group I freshwater subgroup, and their MIC values were 1.2 mg/L. At the same time, the MBC values of these eight kinds of fish-pathogenic bacteria were obtained, they were 9.6 mg/L, 19.2 mg/L, 9.6 mg/L, 9.6 mg/L, 19.2 mg/L, 19.2 mg/L, 9.6 mg/L, > 19.2 mg/L, respectively. When the test pathogens density was regulated approximately to 10^5 cfu/mL, the gemicidal efficacy of potassium ferrate solution in different concentrations against the pathogens was determined after an hour. Exhilaratingly, the vibrio were sterilized completely by potassium ferrates solution in lower concentrations than others. When the concentration of potassium ferrate solution were adjusted to 2.4 mg/L and 7.2 mg/L, their bactericidal coefficients were 94.21%, 100% and 95.45%, 100%, respectively. Based on the above results, the growth trends of these two kinds of vibrio were constructed. The figure showed that with higher concentration of potassium ferrate solution, the quantity of *Vibrio fluvialis* and *Vibrio* group I freshwater subgroup were larger. It was clear that potassium ferrate could be used as an aquatic disinfectant for both bath treatment of fish and splash treatment of the whole pond, as well as potassium ferrate can be used to prevent the fish vibriosis. However, the mechanism of potassium ferrate sterilizing germs remains unknown, and need to make further investigation.

Key words: Potassium ferrate; Fish-pathogenic bacteria; MIC; MBC; Gemicidal efficacy