

微酸性电解水对污染轮胎表面的模拟消毒优化

臧一天, 李星烁, 李保明, 曹 薇*

(中国农业大学水利与土木工程学院, 农业部农业结构与环境工程重点实验室, 北京 100083)

摘 要: 为降低鸡场肠病原体疫病传播风险和兽药残留, 通过响应面中和设计法, 该试验评估了微酸性电解水 (pH 值 5.85~6.53) 对大肠杆菌和沙门氏菌混合污染轮胎的消毒效果, 并探讨了清洗时间, 消毒时间及有效氯浓度 3 个因素对微酸性电解水消毒效果的影响及相互作用规律, 同时建立二次多项回归模型, 并对消毒工艺进行优化。结果表明, 3 个因素皆对消毒效果有显著影响 ($p < 0.0001$), 且各因素影响大小为有效氯浓度 > 消毒时间 > 清洗时间; 模型决定系数和调整决定系数分别为 0.984 和 0.969, 验证试验中, 试验值与预测值的相关系数为 0.97; 消毒时间 5 min、清洗时间 4 min、有效氯浓度 140 mg/L 时, 可以达到 $1.38 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ 的杀菌数。该研究为微酸性电解水消毒提供了参考, 并证明了微酸性电解水在畜牧业的应用潜力。

关键词: 轮胎; 优化; 模型; 电解水; 消毒; 鸡场; 响应面

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2015.20.028

中图分类号: S8

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2015)-20-0199-06

臧一天, 李星烁, 李保明, 曹 薇. 微酸性电解水对污染轮胎表面的模拟消毒优化[J]. 农业工程学报, 2015, 31(20):

199—204. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2015.20.028 http://www.tcsae.org

Zang Yitian, Li Xingshuo, Li Baoming, Cao Wei. Simulation of disinfection optimization of vehicle tire surface using slightly acidic electrolyzed water[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2015, 31(20): 199—204. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2015.20.028 http://www.tcsae.org

0 引 言

目前, 消毒是生物安全措施的三大部分之一, 也是消除病原微生物以防止疫病传入畜禽场的主要措施, 而对畜禽场外人员及车辆的消毒则是消毒措施的重要组成部分^[1]。

研究报道, 车辆是引起沙门氏菌及大肠杆菌等疫病传播的重要风险因素^[1-2]。经调查, 许多鸡场前道路因运输鸡只的车辆经过, 会不同程度布有鸡只遗漏的鸡粪, 羽毛等污染物, 使其他进入该场区的车辆轮胎极易粘取这些污染物而携带有沙门氏菌, 大肠杆菌等病原体, 若携带病原体的车辆轮胎在进入场区时未消毒或消毒不彻底, 便会将鸡粪, 羽毛等污染物或病原体携带入场, 并同时将其遗漏在所经过的场区内道路上, 从而使该场区内道路上行走的人员或车辆接触并传播。因此, 对进入场区的车辆, 特别是带有鸡粪的车辆轮胎的消毒是降低疫病传播风险的必要措施。然而, 由于化学消毒剂和药物滥用, 不仅对人和动物造成强烈刺激性, 且会导致耐药病原微生物大量产生而使消毒效果降低^[3-4]; 因此, 研究和开发健康, 高效且无药物残留的消毒剂以对车辆轮

胎消毒是十分有必要的。

微酸性电解水 (slightly acidic electrolyzed water, SAEW) 是一种对各类细菌、真菌和病毒具有瞬时、高效杀菌作用的廉价消毒剂, 因其通过对稀食盐和/或稀盐酸溶液进行电解得到, 制备过程中无化学物质添加, 且 pH 值 (5.0~6.5) 近似中性, 杀菌后可还原成普通水, 因此 SAEW 对环境和人体无害, 且对钢铁、塑料类设施腐蚀性小^[5-8]; 已作为一种安全绿色环保型消毒剂应用于畜禽养殖消毒中, 以杀灭病原微生物^[9-10]。目前, 虽已有很多针对车辆轮胎及微酸性电解水在畜禽养殖领域的研究, 如 Amass 等^[11]研究对比了利用卫可消毒剂的一种轮胎消毒系统在不同季节对运猪车辆轮胎中细菌的杀灭作用, Hao 等^[12]曾利用微酸性电解水对猪舍中各设备表面及墙面、地面的抑菌效果进行研究, Cao 等^[13]利用微酸性电解水对鸡蛋表面沙门氏菌进行消毒效果评估研究, 郑伟超等^[14]利用微酸性电解水对鸡舍内空气消毒研究等, 然而迄今为止, 尚无微酸性电解水对车辆轮胎消毒效果的研究; 另外鲜有在鸡粪等有机污染物干扰下, 对影响微酸性电解水消毒效果的各因素之间交互作用的研究。鉴于此, 本文通过模拟试验研究了微酸性电解水在鸡粪液干扰下对轮胎表面的消毒效果, 并通过响应面法构建消毒模型, 同时研究清洗时间, 处理时间及有效氯浓度对污染轮胎表面消毒效果的影响规律以及三因素之间的相互作用关系。

1 材料与方法

1.1 材料及设备

沙门氏菌 (CVCC 2184) 及大肠杆菌 (ATCC 25922)

收稿日期: 2015-07-27 修订日期: 2015-09-17

基金项目: 现代农用工业技术研究专项基金 (CARS-41)

作者简介: 臧一天, 男 (汉族), 山东泰安人, 博士, 主要从事设施养殖环境监测与控制方向研究。北京 中国农业大学水利与土木工程学院, 100083。Email: zangyitian1@126.com。

*通信作者: 曹 薇, 女 (汉族), 北京人, 博士, 博士研究生导师, 主要从事设施养殖环境监测与控制方向研究。北京 中国农业大学水利与土木工程学院, 100083。Email: caowei@cau.edu.cn

分别购自于中国兽医微生物菌种保藏管理中心和中国医学微生物保藏管理中心,胰酪胨大豆肉汤培养基及灭菌中和剂(质量分数为 0.5% 的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$),购买于自北京陆桥技术有限公司,轮胎(规格 450-16)取自农业三轮汽车(ATX3000),来自北汽福田汽车股份有限公司,鸡粪取自鸡舍。pH 计、ORP(氧化还原电位 oxidation-reduction potential)计及有效氯测定仪皆购买自日本笠原理化学工业株式会社,其中 pH 计及 ORP 计的型号为 HM-30R,有效氯测定仪型号为 RC-2Z。手动多工能喷雾器(2 000 mL)买自北京美廉美购物中心,厂家为台州市黄岩超越塑料制品厂。高压灭菌锅来自上海博讯实业有限公司,型号为 YXQ-LS-18SI。微酸性电解水机由北京洲际公司生产。

1.2 方法

1.2.1 细菌活化培养

将冷冻干燥的大肠杆菌及沙门氏菌分别接种到胰酪胨大豆肉汤培养基,于 37℃ 恒温培养 24 h 后活化,随后离心机在 4℃、4 000 转时,离心 15 min 并弃上清,将细菌沉淀用 0.1% 的蛋白胨水清洗 2 次,随后分别取等量的两种菌悬液进行混合并摇匀,重新制成 10 mL 含菌数约为 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL 的混合菌悬液。

1.2.2 污染

称取 30 g 干鸡粪,并加入 500 mL 灭菌去离子水制成质量分数为 6% 浓度的鸡粪液,随后放入高压灭菌锅中进行灭菌后备用。取 5 mL 灭菌后鸡粪液并加入到等量混合菌悬液中混匀制成含鸡粪液质量分数为 3%^[15],含菌数约 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL 的鸡粪污染液备用。将轮胎清洗干净,并用剪刀剪成 5 cm×5 cm 大小的方块,随后高压灭菌,放于生化安全柜中自然晾干备用。移液枪移取 0.1 mL 污染液($10^8 \sim 10^9$ cfu/mL)滴在 5 cm×5 cm 的高压灭菌后的轮胎方块中央,随后用涂布棒在生化安全柜内将其均匀涂抹。

1.2.3 微酸性电解水的制备

使用微酸性电解水机,并通入质量分数为 10% 的 NaCl 溶液,一定时间电解后,分别得到所需有效氯浓度的微酸性电解水(pH 值 6.13~6.25, ORP 974~989 mV),所有微酸性电解水皆现产现用,并与每次试验前对 SAEW 的 pH 值、ORP 值及有效氯浓度进行测量。最后,将电解水放入手动多功能喷雾器(2 000 mL)中备用。

1.2.4 消毒处理

首先用灭菌中和剂浸润过的灭菌棉签在染菌后晾干的方块轮胎上采样,每区块横竖往返各 8 次;随后将采样棉签折断,并置于装有 2 mL 中和剂的 EP(eppendorf)管内,作为消毒前对照。随后用灭菌自来水进行不同时间的清洗处理,再采用不同有效氯浓度(available chlorine concentration, ACC)的 SAEW 进行不同时间喷洒(手动多功能喷雾器)消毒处理,并按上述采样方法进行采样。最后,将消毒前后的样本进行充分的震荡洗脱,并取洗脱液进行活菌计数培养^[16]。

1.2.5 单因素试验

根据文献^[16],确定消毒时间,清洗时间及有效氯这 3 种因素,并分别研究不同消毒时间,清洗时间及有效氯

浓度下,微酸性电解水对轮胎表面的杀毒效果。

1.2.6 响应面试验设计及验证性试验

通过单因素试验确定消毒时间等因素的最佳水平范围,根据响应面设计方法中的 central composite design (CCD) 法利用 Design Expert8.0.5 软件,选择清洗时间(2~4 min),消毒时间(3~7 min),有效氯浓度(80~140 mg/L)三因素,设计三因素三水平试验;随后计算微酸性电解水对细菌的杀灭对数值,建立模型;为验证模型成立,利用 Dong 等试验方法,在试验区间内随机另外取 8 个点(不参与模型构建)^[17-18],进行实际获取数值与预测值的($y=x$)的相关性检验;在判断模型成立后,利用软件分析模型并获取最佳消毒参数,所有数据平行测定 3 次,取平均值。

2 结果及分析

2.1 单因素实验结果及分析

2.1.1 不同消毒时间对轮胎的模拟消毒效果

图 1 为不同消毒时间、清洗时间及有效氯浓度对轮胎的模拟消毒效果,如图 1a 所示,在质量分数为 3% 的鸡粪液干扰下,经自来水清洗 3 min 后,微酸性电解水(ACC 110 mg/L)在不同消毒时间(1, 3, 5, 7 和 9 min)时对沙门氏菌和大肠杆菌混合菌的杀灭对数值分别为:(0.10 ± 0.05), (0.63 ± 0.03), (1.57 ± 0.02), (1.58 ± 0.05), (1.61 ± 0.03)。从影响趋势来看,杀灭对数值随消毒时间的增加而增加,且在 1~5 min 之间,增长趋势明显,在 5 min 之后,增长趋势变缓。且由图可知,这组数据之间差异显著($p < 0.05$),说明消毒时间对消毒效果影响显著,且考虑最少时间与最佳效果,取消毒时间 3~7 min 为最佳水平范围。

2.1.2 不同清洗时间对轮胎的模拟消毒效果

图 1b 表示经不同自来水清洗时间(1、2、3、4 和 5 min)后,微酸性电解水(ACC 110 mg/L)在消毒时间 5 min 时的消毒效果。如图 1b 所示,在 3% 的鸡粪液作为有机干扰下,经过清洗消毒后,对沙门氏菌和大肠杆菌混合菌的杀灭对数值分别为:(0.13 ± 0.02), (0.53 ± 0.01), (1.32 ± 0.07), (1.38 ± 0.05), (1.41 ± 0.03)。从影响趋势来看,杀灭对数值随着清洗时间的增加而增加,且在 1~3 min 之间时,增长趋势明显,在 3 min 之后,增长趋势变缓。且由图可知,清洗时间对消毒效果影响显著;考虑最少时间与最佳效果,取清洗时间 2~4 min 为最佳水平范围。

2.1.3 不同有效氯浓度对轮胎的模拟消毒效果

如图 1c 所示,在质量分数为 3% 的鸡粪液干扰下,经自来水清洗 3 min,且不同有效氯浓度(50、80、110、140 和 170 mg/L)的微酸性电解水消毒 5 min 后,对沙门氏菌和大肠杆菌混合菌的杀灭对数值分别为:(0.13 ± 0.04), (0.43 ± 0.01), (1.16 ± 0.057), (1.21 ± 0.05), (1.36 ± 0.12)。从影响趋势来看,杀灭对数值随着有效氯浓度的增加而增加,且在 50~110 mg/L 之间时,增长趋势明显,在 110 mg/L 之后,增长趋势变缓。这说明有效氯浓度对消毒效果影响显著;考虑能耗最低与最佳效果,取有效氯浓度 80~140 mg/L 为最佳水平范围。

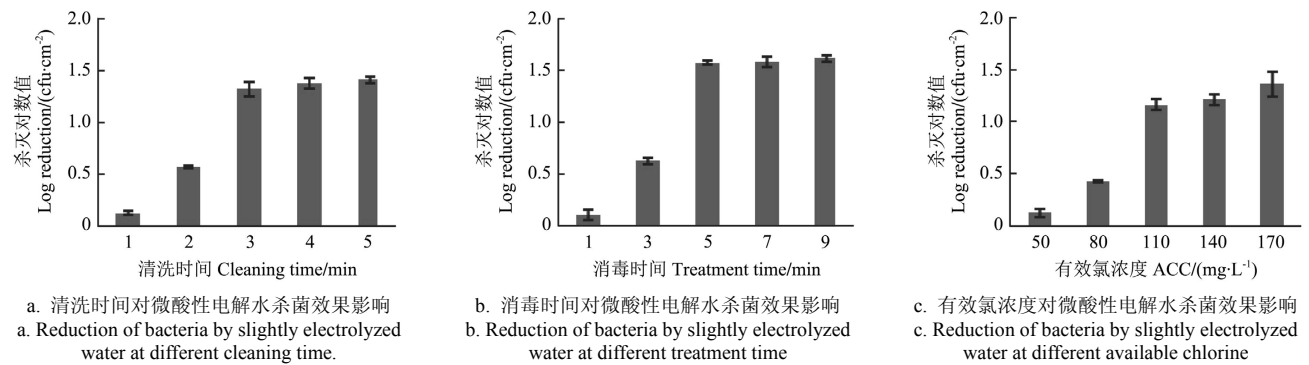


图 1 消毒时间、清洗时间及有效氯浓度对微酸性电解水的单因素试验结果

Fig.1 Results of single factor experiments of slightly electrolyzed water at different treatment time, cleaning time and available chlorine concentration

2.2 响应面试验

2.2.1 CCD 试验设计

根据单因素实验结果，以杀灭混合细菌对数值为响应值，确定消毒时间、清洗时间及有效氯浓度的最佳水平及编码，见表 1；随后采用 Design. Expert.8.0.5 软件进行试验设计，试验设计方案与结果见表 2，其中包括 3 个重复试验。

表 1 试验因子水平及编码

Table 1 Code and level of variables used for central composite design			
水平 Levels	消毒时间 Treatment time x_1 /min	清洗时间 Cleaning time x_2 /min	有效氯浓度 ACC x_3 /(mg·L ⁻¹)
-1.68	1.64	1.32	60
-1	3.00	2.00	80
0	5.00	3.00	110
1	7.00	4.00	140
1.68	8.36	4.68	160

表 2 响应面试验设计方案及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface methodology					
实验组 Trial	消毒时间 Treatment time x_1 /min	清洗时间 Cleaning time x_2 /min	有效氯浓度 ACC x_3 /(mg·L ⁻¹)	实际值 Actual value/ (log ₁₀ cfu·cm ⁻²)	预测值 Predicted value/ (log ₁₀ cfu·cm ⁻²)
1	5.00	3.00	110	1.06±0.076	1.06
2	3.00	2.00	140	0.73±0.134	0.75
3	1.64	3.00	110	0.30±0.023	0.30
4	7.00	4.00	140	1.41±0.036	1.46
5	5.00	3.00	60	0.52±0.056	0.51
6	5.00	3.00	110	1.03±0.071	1.06
7	5.00	1.32	110	0.59±0.084	0.60
8	5.00	3.00	110	1.10±0.041	1.06
9	5.00	4.68	110	1.07±0.151	1.03
10	5.00	3.00	160	1.30±0.241	1.28
11	5.00	3.00	110	0.94±0.027	1.06
12	3.00	4.00	80	0.25±0.039	0.28
13	5.00	3.00	110	1.13±0.047	1.06
14	7.00	4.00	80	0.99±0.206	0.98
15	5.00	3.00	110	1.10±0.078	1.06
16	3.00	4.00	140	0.92±0.037	0.90
17	7.00	2.00	80	0.60±0.019	0.62
18	7.00	2.00	140	0.94±0.109	0.92
19	3.00	2.00	80	0.35±0.093	0.31
20	8.36	3.00	110	1.06±0.026	1.04

注：ACC 为有效氯浓度。
Note: ACC is available chlorine concentration.

2.2.2 模型建立及方差分析

利用 Design. Expert.8.0.5 软件对表 2 中 20 组数据进行多元回归拟合，得到回归方程为：

$$R=1.06+0.22x_1+0.13x_2+0.23x_3+0.097x_1x_2+0.034x_1x_3+0.046x_2x_3-0.14x_1^2-0.085x_2^2-0.057x_3^2$$
 (1)

式中： R 为细菌杀灭 Log 值，log₁₀ cfu/cm²； x_1 为消毒时间，min； x_2 为清洗时间，min； x_3 为有效氯浓度，mg/L。对模型式（1）进行方程分析和显著性检验，结果见表 3。

表 3 模型方差分析结果

Table 3 Variance analysis for regression model					
类型 Type	平方和 Sum of Squares	自由度 Degree of freedom	均方 Meansquare	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	2.06	9	0.23	68.52	<0.0001
消毒时间 Treatment time x_1	0.65	1	0.65	194.53	<0.0001
清洗时间 Cleaning time x_2	0.22	1	0.22	66.64	<0.0001
有效氯浓度 available chlorine concentration x_3	0.72	1	0.72	214.86	<0.0001
x_1x_2	0.076	1	0.076	22.69	0.0008
x_1x_3	9.406×10^{-3}	1	9.406×10^{-3}	2.81	0.1247
x_2x_3	0.017	1	0.017	5.11	0.0474
x_1^2	0.27	1	0.27	81.88	<0.0001
x_2^2	0.10	1	0.10	31.10	0.0002
x_3^2	0.047	1	0.047	14.14	0.0037
残差 Residual	0.033	10	3.348×10^{-3}		
失拟项 Loss of quasi item	9.681×10^{-3}	5	1.936×10^{-3}	0.41	0.8270
随机误差 Random error	0.024	5	4.761×10^{-3}		
总残差 Total residual	2.10	19			

由表 3 模型方程分析结果可知，线性回归极其显著（ $p<0.01$ ），而失拟项则不显著（ $p=0.827$ ），说明回归模型与实际情况拟合良好，另外，决定系数 R^2 和调整决定系数 R^2 分别为 0.984 和 0.969，这表明模型的拟合程度良好，且试验值与预测值非常接近，综合来看，该模型可以为微酸性电解水对轮胎的混合杀菌进行预测。从表 3 还可以看出， x_1 、 x_2 、 x_3 、 x_1^2 、 x_2^2 、 x_3^2 、 x_1x_2 对响应值的影响都极其显著（ $p<0.0001$ ）， x_2x_3 对响应面的影响也显著（ $p<0.05$ ）。说明消毒时间、清洗时间及有效氯浓

度都是影响微酸性电解水杀菌的重要影响因素, 且各因素影响大小为有效氯浓度>消毒时间>清洗时间。这与 Park 等^[19]人的研究结果相同; 目前, 已有很多研究证明, 有效氯浓度是影响微酸性电解水杀菌作用的重要因素, 且杀菌作用随有效氯浓度的增加而增强; Quan 等^[20]也试验证明有效氯浓度是所有影响微酸性电解水杀菌作用因素中的首要影响因素。

2.2.3 模型验证试验

为验证已建立模型的准确性, 随机选取了 8 个实验组 (见表 4) 进行验证试验, 结果证明试验值和预测值之间具有极其显著的一致性 ($p<0.0001$), 且相关系数 R^2 ($y=x$) 为 0.97, 接近于 1, 这表明该模型得到的试验值与预测值基本相符合, 模型成立; 模型可以用于预测微酸性电解水对轮胎表面的杀菌效果, 并可以估测微酸性电解水对轮胎消毒的最佳消毒工艺。

表 4 验证试验设计及结果

Table 4 Design and results of validation experimental

消毒时间 Treatment time x_1/min	清洗时间 Cleaning time x_2/min	有效氯浓度 ACC $x_3/(\text{mg L}^{-1})$	实际值 Actual value/ $(\log_{10} \text{cfu} \cdot \text{cm}^{-2})$	预测值 Predicted value/ $(\log_{10} \text{cfu} \cdot \text{cm}^{-2})$
3.00	3.70	80	0.29±0.018	0.33
3.00	4.00	90	0.41±0.059	0.43
3.00	2.00	105	0.59±0.165	0.55
3.52	3.68	140	0.87±0.147	1.04
4.40	3.85	140	0.99±0.251	1.23
4.12	3.55	140	1.31±0.098	1.17
3.00	3.62	119	0.63±0.023	0.77
3.00	3.85	127	0.69±0.128	0.82

注: ACC 为有效氯浓度。

Note: ACC is available chlorine concentration.

2.2.4 响应面交互作用分析

从表 3 可以看出, 消毒时间及清洗时间之间的交互作用极其显著 ($p<0.0001$), 且清洗时间与有效氯浓度之间的交互作用也显著 ($p<0.05$) 影响微酸性电解水对轮胎表面的杀菌率。如图 2a 所示, 等高线呈椭圆形, 说明消毒时间和清洗时间的交互作用对轮胎表面的杀菌率影响大, 在固定有效氯浓度为 110 mg/L、清洗时间为某一固定值时, 杀菌率随着消毒时间的增加而显著增加, 但在增加到某一值时, 上升趋势变缓。在固定 ACC 为 110 mg/L、消毒时间为某一固定值时, 杀菌率随着清洗时间的增加而显著增加, 但在增加到某一值时, 其上升趋势亦趋于平缓。图 2b 的椭圆形等高线也说明了有效氯浓度与清洗时间交互作用的显著, 且在固定清洗时间为某一值时, 随着有效氯浓度的增加, 杀菌率呈显著上升趋势, 随后开始平缓。清洗时间与消毒时间及与有效氯浓度之间的交互作用都显著, 证明了在鸡粪等有机物干扰下, 清洗时间尤为重要; Oomori 等^[21]曾研究证明有机物是影响微酸性电解水杀菌的重要限制性因素, 微酸性电解水中起主要杀菌作用的有效氯形态为 HClO , 且有研究表明^[22], HClO 形态是 Cl^- 杀菌作用的 80 倍, 而有机物如鸡粪等的存在可以改变微酸性电解水中有有效氯的形态变化, 使 HClO 形态变少来限制有效氯浓度及消毒时间等因素对微酸性电解水消毒效果的影响^[8]; 清洗可以有效去除

轮胎表面的有机物, 减少有机物对有效氯形态变化的影响, 从而增加有效氯浓度及消毒时间的作用。另外, 由于轮胎是粗糙度较高的物体表面, 这不仅使轮胎极易受到污染, 还会使鸡粪等有机物在轮胎受污染过程中, 不仅仅附着在轮胎最表层, 而且有可能会进入并污染轮胎表面较深层, 这使清洗和消毒变得较有难度^[23], 使杀菌率并不会随着清洗时间和消毒时间的增加而一直显著性增加, 这可能也是单因素试验中杀菌率趋势最后变平缓的原因。

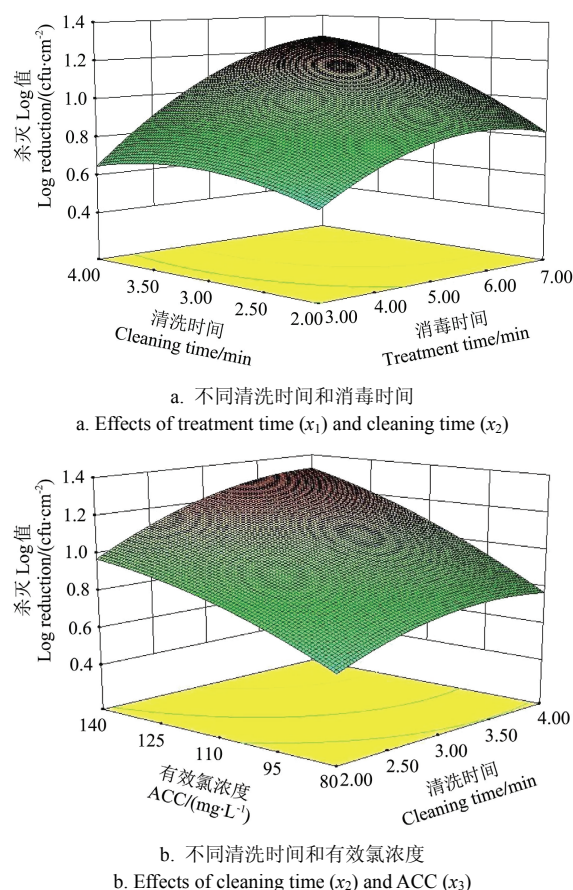


图 2 消毒时间、清洗时间及有效氯浓度对微酸性电解水的响应面图

Fig.2 Response surface plots describing effects of treatment time(x_1), cleaning time (x_2) and ACC (x_3)

2.2.5 最佳杀菌工艺的确定

利用 Design. Expert.8.0.5 软件分析得到最佳响应值对应的因素条件为: 在清洗时间 4 min, 消毒时间 5 min, 有效氯浓度 140 mg/L 时, 可以杀灭 $1.38 \log_{10} \text{cfu}/\text{cm}^2$ 的细菌数, 且杀菌率为 92.9%。

3 结论

该试验为模拟优化试验, 为建立模型, 该试验中将轮胎修剪成为 $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ 大小的方块进行消毒, 而实际中的轮胎表面较大, 因此应考虑实际情况中, 同样消毒参数及喷雾下, 其消毒后每平方厘米轮胎带菌量的均匀性应劣于模拟试验, 因此, 在实际消毒中, 应考虑采用覆盖范围较大的喷头进行喷雾消毒, 以提高消毒效果的均匀性。

本研究利用响应面中心复合设计方法得到最佳杀菌参数消毒工艺为: 清洗时间 4 min, 消毒时间 5 min, 有效氯浓度 140 mg/L, 并可以达到 $1.38 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ 的杀菌数, 且杀菌率为 92.9%。

在响应面优化实验中发现, 消毒时间, 清洗时间及有效氯浓度是影响微酸性电解水对轮胎表面消毒的显著影响因素, 且影响大小为: 有效氯浓度 > 消毒时间 > 清洗时间。但清洗时间对于微酸性电解水在有机物存在下的消毒十分重要, 它和有效氯浓度及消毒时间之间都存在显著交互作用, 可以提高消毒时间及有效氯浓度对微酸性电解水的影响。

[参 考 文 献]

- [1] Burns T E, Guerin M T, Kelton D, et al. On-farm study of human contact networks to document potential pathways for avian influenza transmission between commercial poultry farms in Ontario, Canada[J]. *Transbound and Emerging Disease*, 2011, 58: 510—518.
- [2] Böhm R. Disinfection and hygiene in the veterinary field and disinfection of animal houses and transport vehicles[J]. *International Biodeterioration Biodegradation*, 1998, 41: 217—224.
- [3] Lewis S, McIndoe A K. Cleaning, disinfection and sterilization of equipment[J]. *Anaesth Intens Care Med*, 2004, 5: 360—363.
- [4] Gräslund S, Bengtsson B E. Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment—a review[J]. *Science of Total Environment*, 2001, 280: 93—131.
- [5] Hricova D, Stephan R, Zweifel C. Electrolyzed water and its application in the food industry[J]. *Journal of Food Protection*, 2008, 71: 1934—1947.
- [6] Huang Yuru, Hung Yencon, Hsu Shunyao, et al. Application of electrolyzed water in the food industry[J]. *Food Control*, 2008, 19: 329—345.
- [7] Hao Xiaoxia, Li Baoming, Wang Caoyuan, et al. Application of slightly acidic electrolyzed water for inactivating microbes in a layer breeding house[J]. *Poultry Science*, 2013, 92: 2560—2566.
- [8] Tagawa M, Yamaguchi T, Yokosuka O, et al. Inactivation of hepatitis virus by electrolyzed acid water[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, 46: 363—368.
- [9] Hao Xiaoxia, Cao Wei, Li Baoming, et al. Slightly acidic electrolyzed water for reducing airborne microorganisms in a layer breeding house[J]. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 2013, 64: 494—500.
- [10] Zheng Weicao, Li Baoming, Cao Wei, et al. Application of neutral electrolyzed water spray for reducing dust levels in a layer breeding house. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 2012, 62 (11): 1329—1334.
- [11] Amass S F, Schneider J L. Evaluation of the efficacy of a truck-mounted tire sanitizer system during winter weather[J]. *Journal of Swine Health Production*, 2006, 14(2): 101—104.
- [12] Hao Xiaoxia, Li Baoming, Zhang Qiang, et al. Disinfection effectiveness of slightly acidical electrolyzed water in swine barns[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 115: 703—710.
- [13] Cao Wei, Zhu Zhiwei, Shi Zhengxiang, et al. Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 130: 88—93.
- [14] 郑炜超, 李保明, 尚宇超, 等. 蛋种鸡场中性电解水带鸡喷雾消毒试验研究[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(9): 270—273.
- Zheng Weichao, Li Baoming, Shang Yuchao, et al. Experimental study on spraying disinfection with neutral electrolyzed water in a layer breeding farm[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2010, 26(9): 270—273. (in Chinese with English abstract)
- [15] Ellassaad F E, Stewart L E, Carr L E, et al. Decontamination of poultry transport cages[J]. *Transactions of ASAE*, 1995, 38(4): 1213—1220.
- [16] 邴珊, 臧一天, 常维山. 微酸性电解水对污染鸡笼的模拟消毒试验[J]. *中国兽药*, 2015, 49(6): 58—61.
- Bing Shan, Zang Yitian, Chang Weishan. Application of slightly acidic electrolyzed water for inactivating *Salmonella enteritidis* on the surface of the inoculated transport plastic chick cage[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2015, 49(6): 58—61. (in Chinese with English abstract)
- [17] Bover-Cid S, Belletti N, Garriga M, et al. Response surface methodology to investigate the effect of high pressure processing on *Salmonella* inactivation on dry-cured ham[J]. *Food Research International*, 2012, 45: 1111—1117.
- [18] Dong Qingli, Tu Kang, Guo Liyang, et al. Response surface model for prediction of growth parameters from spores of *Clostridium sporogenes* under different experimental conditions[J]. *Food Microbiology*, 2007, 24: 624—632.
- [19] Park E J, Alexander E, Taylor G A, et al. The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on green onions and tomatoes with differing organic demands[J]. *Food Microbiology*, 2009, 26: 386—390.
- [20] Quan Y, Choi K D, Chung D, et al. Evaluation of bactericidal activity of weakly acidic electrolyzed water (WAEW) against *Vibrio vulnificus* and *Vibriopara haemolyticus*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 136: 255—260.
- [21] Oomori T, Oka T, Inuta T. The efficiency of disinfection of acidic electrolyzed water in the presence of organic materials[J]. *Analytical Science*, 2000, 16: 365—369.
- [22] Anonymous. Principle of Formation of Electrolytic water[M]. Sakae, Toyooka, Aichi, Japan, Hoshizaki Electric Co.Ltd., 1997.
- [23] Ramesh N, Joseph S W, Carr L E, et al. Serial disinfection with heat and chlorine to reduce microorganism populations on poultry transport containers[J]. *Journal of Food Protection*, 2003, 66: 793—797.

Simulation of disinfection optimization of vehicle tire surface using slightly acidic electrolyzed water

Zang Yitian, Li Xingshuo, Li Baoming, Cao Wei*

(Ministry of Agriculture, China Agricultural University, Key Laboratory of Structure and Environment in Agricultural Engineering, Beijing 100083, China)

Abstract: The process of transport has long been considered an important risk factor for pathogens entry into farms. Disinfection is a generally agreed concept to prevent the introduction of both endemic and epidemic infections, however, potentially toxic, corrosive or volatile problems have arisen because of the use of chemicals as disinfecting agents. Slightly acidic electrolyzed water (SAEW) is considered environmental friendly as it is generated from water and dilute salt solution and reverts to water after use. Also, it has the advantages of possessing broad-spectrum antimicrobial activity, reducing corrosion of surface and minimizing the potential of damage to human health. To reduce the risk of enteric pathogens transmission and leave little residue in animal farms, the disinfection effectiveness of SAEW with pH value of 5.85-6.53 for inactivating *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) mixture on the surface of vehicle tires was evaluated. The coupled effects of tap water washing time (from 2 to 4 min), SAEW treatment time (from 3 to 7 min) and available chlorine concentration (ACC) (from 80 to 140 mg/L) on the reduction of *E. coli* and *S. enteritidis* mixture on tires were investigated using a central composite design of the response surface (RS) methodology. The established RS model had a good fitting quantified by determination coefficient (R^2) of 0.984 and adjusted determination coefficient of 0.969 ($p>0.05$). The model was validated with additional random 8 conditions within the experimental domain. The predicted value showed a good agreement with the actual values, for the points of response values were very close to the line of 100% correlation. The results showed that the cleaning time, disinfection time and ACC significantly affected the pathogens reduction ($p<0.0001$), and their influences were ranked as ACC>disinfection time>cleaning time. The linear correlation coefficients, the quadratic term coefficients and the cross validation coefficients between cleaning time and disinfection time, cleaning time and ACC were significant ($p<0.05$). The other term coefficient between ACC and disinfection time was not significant. The more reduction of pathogens and the significant interactions between cleaning time and other factors were likely due to the livestock manure, which was a strong limiting factor for disinfection of SAEW. Several authors have stated that the organic soiling could change the formation of combined available chlorines to affect the disinfection effectiveness of SAEW. Therefore, if livestock manure could be more removed by more cleaning time along with more SAEW treatment time and higher ACC, a more effective disinfection would be obtained. Therefore, cleaning time is very important for SAEW disinfection when organic matters exist. The maximum reduction of $1.38 \log_{10}\text{cfu}/\text{cm}^2$ (92.9%) for *E. coli* and *S. enteritidis* mixture was obtained for the vehicle tire washed with tap water for 4 min followed by SAEW treatment for 5 min at an ACC of 140 mg/L. The established RS model could be used. The result proves the potential of the SAEW in disinfection of bacterial cells on tires and in promoting the implementation of disinfection measures to control and reduce the transmission risk of the disease.

Key words: tires; optimization; models; electrolyzed water; disinfection; poultry farm; response surface methodology