

LED 可见光与有机酸的协同抗菌性能

俞建峰^{1,2}, 夏晓露^{1,2}, 陈健^{1,2}, 张楚唯^{1,2}, 荣家伟^{1,2}

(1. 江南大学 机械工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江苏省食品先进制造装备技术重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为探索新型食品保鲜技术, 研究了 LED 可见光与有机酸的协同抗菌效果, 以期为食品工业提供新的保鲜贮藏方法。作者研究了 LED 可见光波长、有机酸种类、温度 3 个因素对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌抗菌效果影响。结果表明: 在不同的温度和菌种试验条件下, LED 蓝光和乳酸分别有较好的抗菌效果。这两者相结合, 可获得更好的抗菌效果。LED 蓝光与质量分数为 1 g/kg 乳酸相结合, 在 12 °C 条件下, 可使初始浓度为 6 lg(CFU/mL) 的大肠杆菌完全灭活, 也能使枯草芽孢杆菌的活菌数减小 (3.88±0.17) lg(CFU/mL); 在 25 °C 下, 与对照组相比, 能够使大肠杆菌和枯草芽孢杆菌活菌数分别减小 (4.99±0.07) lg(CFU/mL)、(3.12±0.09) lg(CFU/mL)。

关键词: LED 可见光; 有机酸; 大肠杆菌; 枯草芽孢杆菌; 协同作用

中图分类号: TS 201.3 文章编号: 1673-1689(2020)05-0082-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.05.012

Synergistic Antibacterial Activity of LED Visible Light and Organic Acids

YU Jianfeng^{1,2}, XIA Xiaolu^{1,2}, CHEN Jian^{1,2}, ZHANG Chuwei^{1,2}, RONG Jiawei^{1,2}

(1. School of Mechanical Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Advanced Food Manufacturing Equipment & Technology, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to explore the new technology of food preservation, the synergistic antibacterial effect of LED visible light and organic acids were studied, and a novel storage method for the food industry was provided. The antibacterial effects of LED visible light wavelength, the type of organic acids, temperature on the *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* were investigated. The results showed that LED blue light had better antibacterial effect compared to green light and red light, while lactic acid had better antibacterial effect compared to citric acid and malic acid in different test conditions. The combination of the LED blue light and citric acid could achieve better antibacterial effects. With the combination of LED blue light and 1 g / kg lactic acid at 12 °C, *Escherichia coli* at an initial concentration of 6 lg (CFU/mL) could be completely inactivated, and the number of *Bacillus subtilis* could be decreased by (3.88±0.17) lg(CFU/mL); At 25 °C, compared with the blank

收稿日期: 2018-04-14

基金项目: 国家食品科学与工程一流学科建设项目 (JUFSTR20180205); 江苏省食品先进制造装备技术重点实验室自主研究课题 (FMZ201807); 2017 年江苏省研究生实践创新计划项目 (SJCX17_0484); 2017 年江苏省大学生创新创业训练计划项目 (2017126Z)

作者简介: 俞建峰(1974—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品加工装备方面的研究。E-mail: robotmcu@126.com

control group, the number of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* could be decreased by (4.99±0.07) lg(CFU/mL), (3.12±0.09) lg(CFU/mL), respectively.

Keywords: LED visible light, organic acid, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, synergistic effect

在食品工业生产中,生鲜水果、蔬菜、鱼类和肉类的保存十分重要。一方面是因为这些食物是人们日常饮食的重要组成部分,其需求量巨大;另一方面是其含有大量的营养元素和水分,因而容易受到微生物的污染^[1-2]。在目前市场上的生鲜食品最常用的保存方式是冷藏或者冷冻,该方式能够降低微生物的细胞活性、抑制其生长速率,但并不能够达到杀死微生物^[3]。此外,一些嗜冷菌在冷藏或冷冻的低温下仍然可以生长,最终导致食品被污染,严重威胁公众安全^[4]。因此,应采用新型抗菌技术与冷藏相结合,有效控制生鲜食品上的食源性微生物,同时保证其营养和品质不被破坏。

可见光发光二极管(LED)技术由于其具备良好的抗菌作用,在食品加工行业备受关注,且有望成为新型食品保鲜技术。Srimagal^[5]等研究了蓝色发光二极管(LED)光照处理对于牛奶中大肠杆菌的灭活影响,结果表明经LED蓝光照射处理后的牛奶,与未接受蓝光照射的牛奶相比,其物理性质没有显著变化,但保质期延长了两倍。Karen^[6]等研究了在高盐度环境和强酸环境下,405 nm发光二极管(LED)对于大肠杆菌和单核细胞李斯特菌的灭活影响,结果表明高质量分数盐环境(15% NaCl)能够显著增强大肠杆菌和单核细胞李斯特菌对于405 nm LED的敏感性。在强酸环境(pH 3)下,使所有大肠杆菌和单核细胞李斯特菌完全灭活所需的光照射量仅为对照组(pH 7)的50%。Vinayak^[7]等研究了在不同的辐照强度和温度下,460 nm发光二极管(LED)对于鲜切菠萝片表面沙门氏菌的灭活影响,结果表明温度对于沙门氏菌的光照灭活影响显著,而辐照强度的变化对其影响不大。但不同波长的LED可见光与不同质量浓度有机酸相结合,对于大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的灭活影响尚未见报道。作者研究了3种波长的LED光源(红光、绿光、蓝光)在不同温度下对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的灭活影响;柠檬酸、乳酸、苹果酸3种有机酸在不同温度下对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的灭活影响以及蓝光与有机酸相结合,在不同温度下对于大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的灭活影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)菌株:江南大学生物工程学院微生物实验室提供;柠檬酸、乳酸:分析纯,国药集团化学试剂有限公司产品;苹果酸:生物试剂,国药集团化学试剂有限公司产品;营养肉汤培养基:蛋白胨10 g,牛肉浸出粉3 g,氯化钠5 g,pH 7.2,溶于1 000 mL去离子水中,121 ℃高压蒸汽灭菌15 min,备用;平板计数琼脂培养基:葡萄糖1 g,琼脂15 g,胰蛋白胨5 g,酵母浸出粉2.5 g,pH 7.2,溶于1 000 mL去离子水中,121 ℃高压蒸汽灭菌15 min,备用;精密电子分析天平:AR1140型,奥豪斯国际贸易(上海)有限公司产品;恒温鼓风烘干干燥箱:DHG-9076A型,上海精宏实验设备有限公司产品;超净工作台:SJ-CJ-2FD型,苏州苏洁净化设备有限公司产品;手提式压力蒸汽灭菌锅:XFS-280型,浙江新丰医疗器械有限公司产品;恒温生化培养箱:SPX-200型,上海跃进医疗器械有限公司产品;红光LED灯:TDR-9型,深圳市我的照明灯饰有限公司产品;绿光LED灯:TDG-9型,深圳市我的照明灯饰有限公司产品;蓝光LED灯:TDB-9型,深圳市我的照明灯饰有限公司产品;光生物辐射安全评价系统:WT210型,杭州浙大三色仪器有限公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种活化及菌液制备 在超净工作台中,将实验室保藏的菌种采用平板划线法接种到琼脂培养基上,37 ℃静置培养24~48 h,取生命力旺盛的单菌落接种于营养肉汤培养基中,大肠杆菌37 ℃振荡培养8~12 h,枯草芽孢杆菌37 ℃振荡培养12~24 h。将活化后的菌液用无菌去离子水稀释,使悬菌液的浓度达到10⁷ CFU/mL,备用^[8-9]。

1.2.2 LED光源与光照系统 红光(630 nm)、绿光(525 nm)、蓝光(455 nm)3种波长的LED光源,功率均为9 W,光照直径90 mm,经光生物辐射安全评价系统测得光源的相对光谱功率密度分布图见图1。

LED光源固定于灯架上,置于恒温生化培养箱中,由恒温生化培养箱中的内接电源供电,含有悬菌液的培养皿($D=60\text{ mm}$)放置在光源的下方 55 mm 距离处,光照系统的截面示意图见图2。

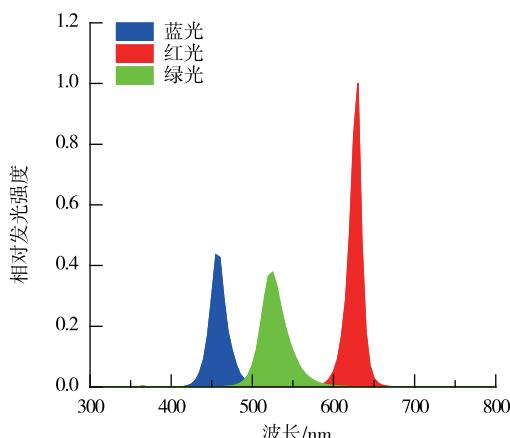
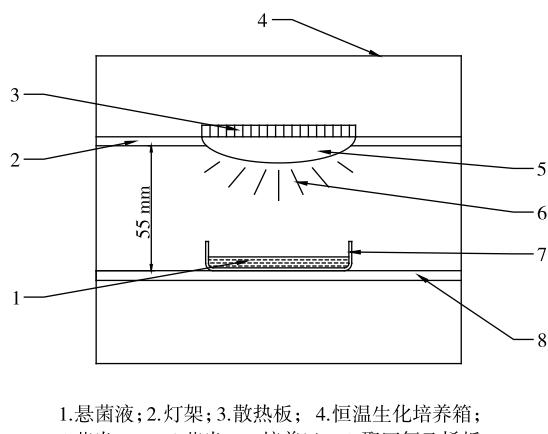


图1 LED光源相对光谱功率密度分布图

Fig. 1 Distribution of relative spectral power density of LED light sources



1.悬菌液;2.灯架;3.散热板;4.恒温生化培养箱;
5.蓝光LED;6.蓝光;7.培养皿;8.聚四氟乙烯板。

图2 LED光照系统截面示意图

Fig. 2 Cross sectional diagram of the LED illumination system

1.2.3 不同波长的LED可见光抗菌试验 在超净工作台上,取预先制备浓度为 10^7 CFU/mL 的悬菌液 1 mL ,于 9 mL 的营养肉汤中,将这 10 mL 悬菌液盛放在无菌培养皿中,培养皿位于LED光源正下方 55 mm 处。整个组件放在恒温生化培养箱内,以确保能够调节试验温度($12\text{、}25\text{ }^\circ\text{C}$), $12\text{ }^\circ\text{C}$ 是模拟超市货架低温环境, $25\text{ }^\circ\text{C}$ 是模拟室温环境。在试验过程中,采用黑纸板覆盖培养箱的玻璃窗口,以最大化减少试验误差。实验组采用不同波长的LED光源(红光、绿光、蓝光),对照组去除LED光源,其他试验环境与实验组

相同。在试验过程中,每间隔1小时取样一次。

1.2.4 不同有机酸的抗菌试验 根据GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中的相关规定,本试验中乳酸、柠檬酸、苹果酸的最大添加量为 1 g/kg 。实验组取预先制备的浓度为 10^7 CFU/mL 的悬菌液 1 mL ,于 9 mL 的营养肉汤中,将这 10 mL 悬菌液盛放在无菌培养皿中,再分别添加乳酸、柠檬酸、苹果酸使其最终质量浓度均为 1 g/kg ,对照组加入等量的无菌去离子水。培养皿置于无光源的试验环境,分别在环境温度为 $12\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下,静置 8 h ,每间隔1小时取样一次。

1.2.5 LED蓝光与有机酸的协同抗菌试验 选择LED蓝光与3种有机酸进行协同抗菌试验。取预先制备的浓度为 10^7 CFU/mL 的悬菌液 1 mL ,于 9 mL 的营养肉汤中,将这 10 mL 悬菌液盛放在无菌培养皿中,再分别添加柠檬酸、乳酸、苹果酸使其最终质量分数均为 1 g/kg ,对照组加入等量的无菌去离子水。培养皿置于蓝光光源正下方 55 mm 处,分别在环境温度为 $12\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下光照处理 8 h ,每间隔1小时取样1次。

1.2.6 数据处理 每个取样点的活菌数量由平板计数法检测得到3次独立实验的实验数据,计算平均值。采用SAS 8.0进行数据统计与分析,计算平均值±标准偏差及显著性分析。以试验时间为横坐标,以 $\lg(\text{CFU/mL})$ 为纵坐标绘制时间—菌落总数曲线^[10]。

2 结果与分析

2.1 不同波长的LED可见光抗菌结果

由图3可知,在 $12\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌在对照组中,活菌数始终在初始值附近上下波动,变化不大,同时在接受LED光照处理后的变化趋势也基本一致。对于大肠杆菌,在使用LED红光、绿光、蓝光照射 8 h 后,与对照组相比,活菌数分别降低了 $(0.08\pm0.03)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.35\pm0.06)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.94\pm0.04)\lg(\text{CFU/mL})$ 。对于枯草芽孢杆菌,在使用LED红光、绿光、蓝光照射 8 h 后,与对照组相比,菌落数分别降低了 $(0.02\pm0.01)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.25\pm0.05)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.46\pm0.05)\lg(\text{CFU/mL})$ 。

由图4可观察到,在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 试验环境下,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的生长活性较旺盛,在对照组中试验 8 h 后,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的数量分别达到 $(8.15\pm0.11)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(7.06\pm0.04)\lg(\text{CFU/mL})$ 。

就大肠杆菌而言,在接受LED红光、绿光、蓝光照射8 h后,与对照组相比,活菌数分别降低了(0.29 ± 0.06) $\lg(\text{CFU/mL})$ 、(1.14 ± 0.06) $\lg(\text{CFU/mL})$ 、(1.81 ± 0.07) $\lg(\text{CFU/mL})$ 。就枯草芽孢杆菌而言,在使用LED红光、绿光、蓝光光照处理8 h后,与对照组相比,菌落数分别降低了(0.09 ± 0.03) $\lg(\text{CFU/mL})$ 、(0.31 ± 0.05) $\lg(\text{CFU/mL})$ 、(0.72 ± 0.04) $\lg(\text{CFU/mL})$ 。

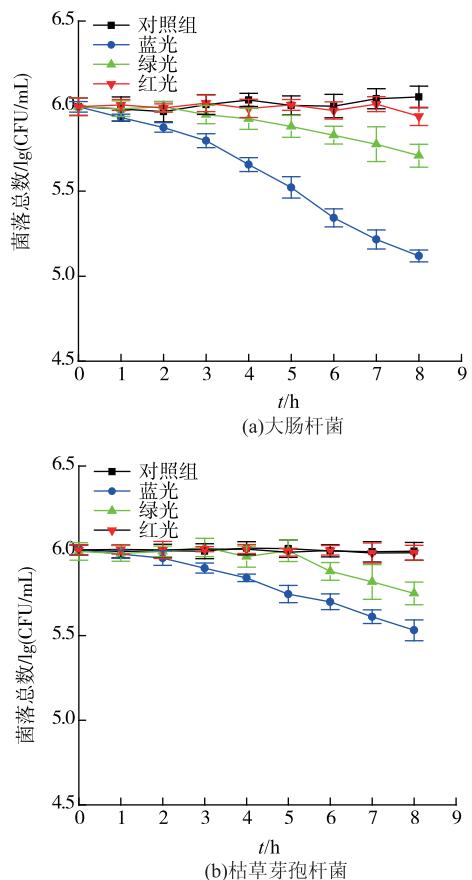


图 3 12 °C下不同波长LED可见光的抗菌效果
Fig. 3 Effects of visible light wavelength on antimicrobial activity at 12 °C

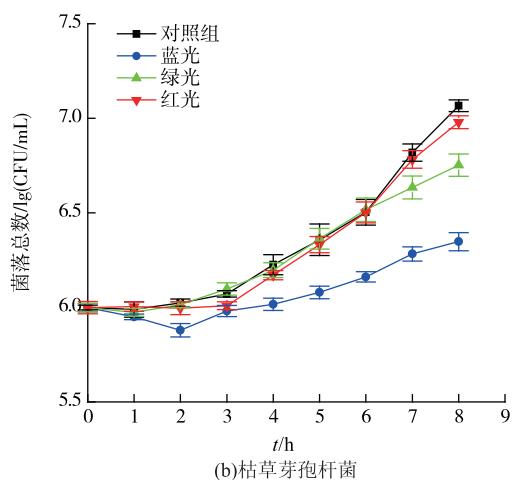
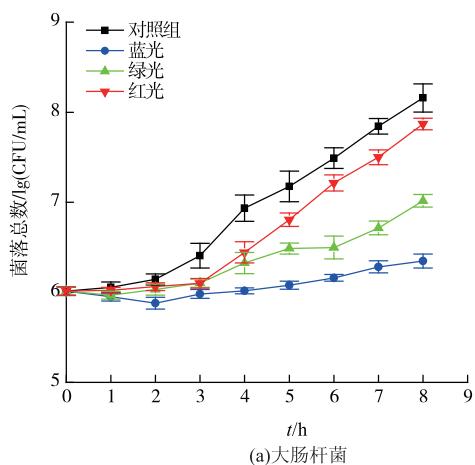


图 4 25 °C下不同波长LED可见光的抗菌效果

Fig. 4 Effects of visible light wavelength on antimicrobial activity at 25 °C

细菌细胞光动力灭活的机理是:细菌细胞内的光敏性物质,在接受特定光谱照射之后,即可产生活性氧(ROS)。这些活性氧能够引起细胞壁天然结构的快速破坏,同时能够与细胞中的重要成分如脂质、蛋白质和DNA发生反应,从而产生细胞毒性作用,导致细胞死亡^[11-12]。结合图3-4可得出:一方面是无论在何种温度环境下,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌对蓝光的敏感性最强,绿光次之,红光最弱。这可能的原因是细菌细胞内源性光敏物质主要吸收的是400~500 nm之间的可见光光谱,尤其是400~420 nm之间的区域更为显著^[13]。而本研究中蓝光的波长值为455 nm,最符合吸收条件,故细菌细胞对蓝光最为敏感。另一方面是在两种试验温度下,大肠杆菌(革兰氏阴性菌)对于LED光照处理的敏感性均大于枯草芽孢杆菌(革兰氏阳性菌),这可能是由于革兰氏阳性细菌的细胞壁较厚,由肽聚糖和磷壁酸形成脂多糖层,形成一个天然的保护屏障,可阻止细胞内蛋白质等物质的损失,因此细胞的光灭活反应也得到了削弱^[14-15]。苏冰梅、王婷^[16]等使用喹诺酮类与磺胺类药物对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌的联合毒性研究中也得到相似的结果。

2.2 不同有机酸的抗菌结果

从图5可以发现,12 °C下3种有机酸对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌均有抗菌效果。由图5(a)可知,乳酸在12 °C下对大肠杆菌的抗菌效果最强,在试验8 h后,与对照组相比,活菌数降低了(0.58 ± 0.05) $\lg(\text{CFU/mL})$ 。而柠檬酸和苹果酸的抗菌效果较弱,与

对照组相比,活菌数分别降低了 $(0.24\pm0.02)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.17\pm0.03)\lg(\text{CFU/mL})$ 。由图5(b)可知,在12℃下试验8 h后,乳酸、柠檬酸、苹果酸的实验组与对照组相比,枯草芽孢杆菌的减少量分别为 $(0.27\pm0.02)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.10\pm0.02)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.03\pm0.01)\lg(\text{CFU/mL})$ 。

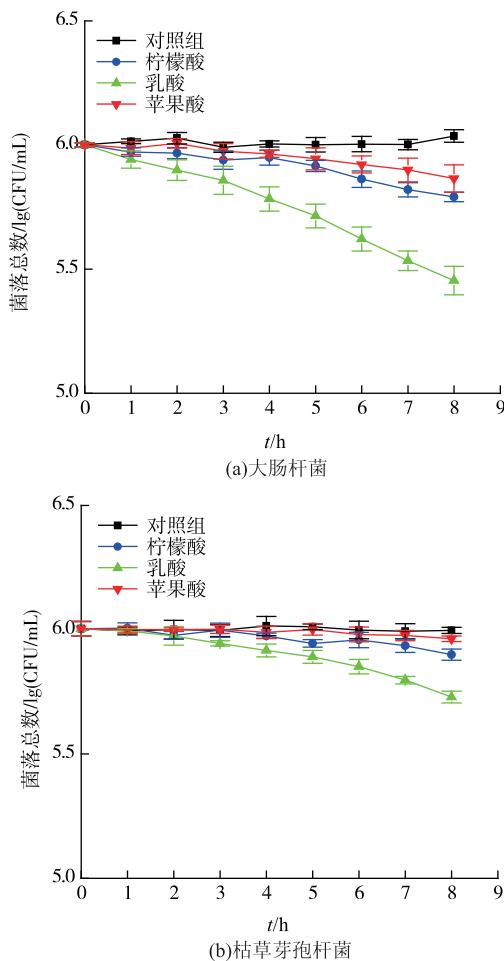


图 5 12 ℃下不同有机酸的抗菌效果

Fig. 5 Effect of different organic acids on antibacterial activity at 12 °C

由图6可知,25℃下大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的生长速率较快。而3种有机酸对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌分别有不同效果的抑制作用。与空白对照组相比,柠檬酸、乳酸、苹果酸使大肠杆菌的活菌数分别减少了 $(1.80\pm0.06)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(2.01\pm0.04)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(1.32\pm0.05)\lg(\text{CFU/mL})$,而使枯草芽孢杆菌减少的活菌数分别为 $(0.28\pm0.04)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.51\pm0.05)\lg(\text{CFU/mL})$ 、 $(0.16\pm0.03)\lg(\text{CFU/mL})$ 。

综合图5-6的试验结果得到,在两种试验温度下,3种有机酸对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌均有明显的抗菌效果。有机酸可解离成氢离子和酸根离子,随着氢离子的积累会使pH降低,而大肠杆菌和枯草芽孢杆菌适宜生存在中性环境下,故其正常的代谢活动遭到破坏,因此有机酸可产生抗菌效果^[17]。但有机酸的抗菌机理并不仅仅与氢离子的浓度有关,在本试验的3种有机酸中,乳酸的酸性较弱,但其抗菌效果最好。这可能是乳酸对于细胞膜的亲脂性最强,而苹果酸最弱。未解离的乳酸分子与细胞膜结合,引起细胞膜中的脂多糖的释放,损害了细胞膜的完整性,最终达到更好的抗菌效果^[18-19]。

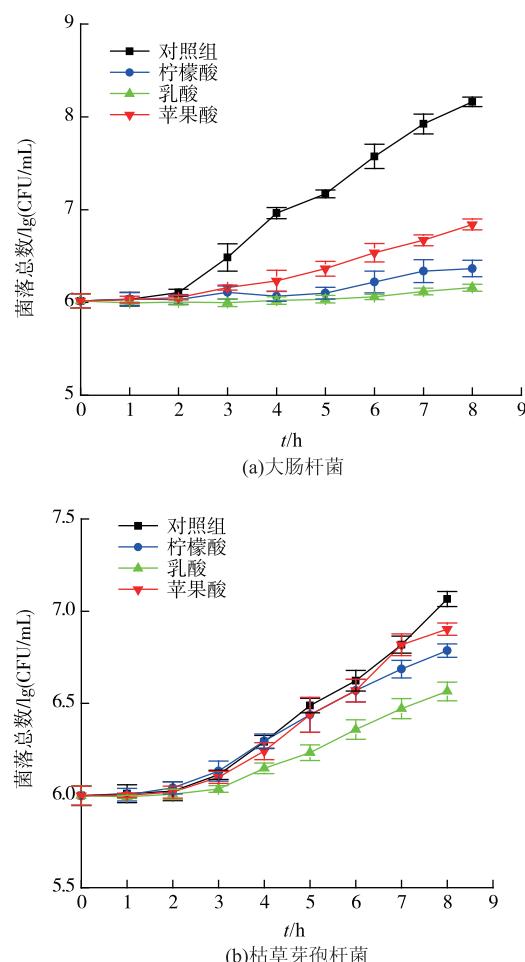


图 6 25 ℃下不同有机酸的抗菌效果

Fig. 6 Effect of different organic acids on antibacterial activity at 25 °C

2.3 不同有机酸与LED蓝光的共同抗菌结果

从图7可知,在12 °C下3种有机酸均可显著提升LED蓝光对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抗菌效果。

与对照组相比,在LED蓝光与柠檬酸、乳酸、苹果酸协同抗菌的实验组中,大肠杆菌的活菌数分别减少了(3.30 ± 0.11)lg(CFU/mL)、(4.17 ± 0.04)lg(CFU/mL)、(0.75 ± 0.10)lg(CFU/mL),而枯草芽孢杆菌减少的活菌数分别为(2.67 ± 0.08)lg(CFU/mL)、(3.88 ± 0.17)lg(CFU/mL)、(1.30 ± 0.07)lg(CFU/mL)。

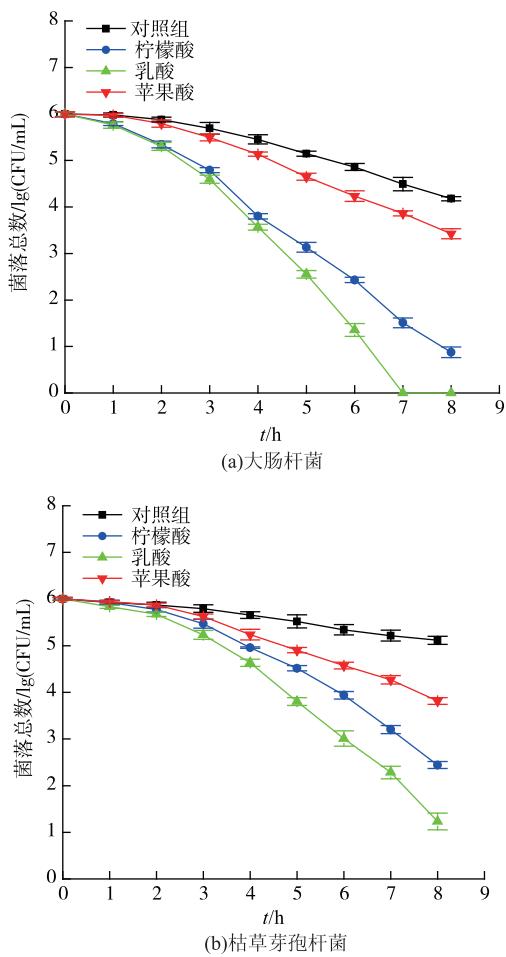


图 7 12 ℃下不同有机酸与LED蓝光的协同抗菌效果

Fig. 7 Synergistic antimicrobial activities of LED blue light and different organic acids at 12 °C

从图8可知,在25 ℃下3种有机酸均可辅助LED蓝光灭活大肠杆菌和枯草芽孢杆菌。就大肠杆菌而言,再添加柠檬酸、乳酸、苹果酸的实验组中,蓝光照射8 h后,与对照组相比,活菌数分别降低了(3.57 ± 0.11)lg(CFU/mL)、(4.99 ± 0.07)lg(CFU/mL)、(1.28 ± 0.08)lg(CFU/mL)。就枯草芽孢杆菌而言,在添加柠檬酸、乳酸和苹果酸的试验组中,与对照组相比,蓝光照射8 h后菌落数分别降低了(1.73 ± 0.06)lg(CFU/mL)、(3.12 ± 0.09)lg(CFU/mL)、(0.63 ± 0.05)

lg(CFU/mL)。

综合图7-8可知,3种有机酸均可显著增强蓝光对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抗菌效果,但乳酸对细菌细胞光灭活的辅助最强,柠檬酸稍弱,苹果酸最差。有机酸与LED蓝光相结合可增强抗菌效果的原因如下:一方面有机酸分子能够扰乱细菌细胞的内稳态,阻止DNA和RNA合成,改变细胞膜的通透性,削弱细胞的代谢活动^[20];另一方面是未解离的有机酸分子作用于细胞外膜导致磷脂和脂蛋白大量释放,同时这些物质是细菌细胞在光照灭活期间作用的主要目标^[21]。因此,有机酸可显著提高LED可见光对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抗菌效果。

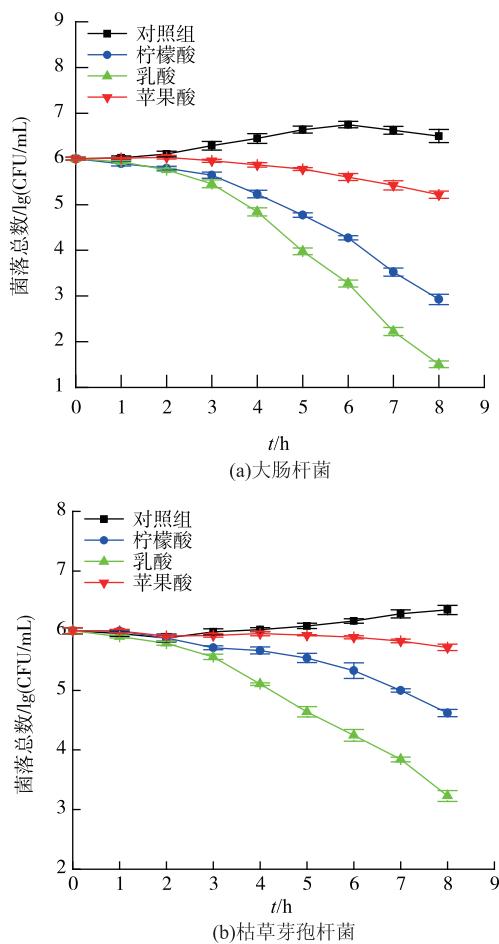


图 8 25 ℃下不同有机酸与LED蓝光的协同抗菌效果

Fig. 8 Synergistic antimicrobial activities of LED blue light and different organic acids at 25 °C

3 结语

作者研究了LED可见光与3种常用有机酸的协

同抗菌效果,在3种可见光中,蓝光对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌抗菌效果最优;而在3种有机酸中,乳酸的抗菌效果最为理想。在LED蓝光与3种有机酸协同抗菌试验中,乳酸对细菌光灭活的辅助最大,柠檬酸次之,苹果酸最小。大肠杆菌和枯草芽孢杆菌,对于LED可见光与有机酸的协同抗菌趋势基本一

致,但大肠杆菌对光灭活更加敏感。作者探究了LED可见光波长与有机酸的种类对培养基悬浮状态下大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抗菌效果,接下来将考察LED可见光与有机酸对于真实食物基质(蔬菜、水果、牛奶等)上食源性微生物的抗菌效果,以期为食品工业中的食品保鲜和贮藏,提供新的思路与方法。

参考文献:

- [1] CHOI J, NORWOOD H, SEO S, et al. Evaluation of food safety related behaviors of retail and food service employees while handling fresh and fresh-cut leafy greens[J]. *Food Control*, 2016, 67: 199-208.
- [2] MIR S A, SHAH M A, MIR M M, et al. Microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salads in developing countries and potential solutions in the supply chain to control microbial pathogens[J]. *Food Control*, 2018, 85: 235-244.
- [3] ASTE N, PERO C D, LEONFORTE F. Active refrigeration technologies for food preservation in humanitarian context- a review [J]. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 2017, 22: 150-160.
- [4] KUMAR A, GHATE V, KIM M J, et al. Inactivation and changes in metabolic profile of selected foodborne bacteria by 460 nm LED illumination[J]. *Food Microbiology*, 2017, 63: 12-21.
- [5] SRIMAGAL A, RAMESH T, SAHU J K. Effect of light emitting diode treatment on inactivation of *Escherichia coli* in milk[J]. *LWT- Food Science and Technology*, 2016, 71: 378-385.
- [6] MCKENZIE K, MACLEAN M, TIMOSHKINI I V, et al. Enhanced inactivation of *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes*, by exposure to 405 nm light under sub-lethal temperature, salt and acid stress conditions[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 170(3): 91-98.
- [7] GHATE V, KUMAR A, KIM M J, et al. Effect of 460nm light emitting diode illumination on survival of *Salmonella* spp. on fresh-cut pineapples at different irradiances and temperatures[J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 196: 130-138.
- [8] 许丽丹, 张玉华, 谭慧琴. 纳他霉素和橘皮提取物对蒜薹病原菌的抑菌效果[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 162-165.
- [9] 戴聪杰, 林培庆. 白花败酱草乙醇提取液的抑菌作用及其稳定性研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(6): 157-159.
- [10] 宁亚维, 闫爱红, 王世杰, 等. 苯乳酸与食品防腐剂联合抑菌效果[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 117-120.
- [11] LUKEIENE Z, BROVKO L. Antibacterial photosensitization-based treatment for food safety [J]. *Food Engineering Reviews*, 2013, 5(4): 185-199.
- [12] GANZ R A, VIVEIROS J, AHMAD A, et al. Helicobacter pylori in patients can be killed by visible light[J]. *Lasers in Surgery & Medicine*, 2005, 36(4): 260-265.
- [13] MACLEAN M, MACGREGOR S J, ANDERSON J G, et al. Inactivation of bacterial pathogens following exposure to light from a 405-nanometer light-emitting diode array[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2009, 75(7): 1932-1937.
- [14] JR I F D S, OLIVEIRA R G D, SOARES I M, et al. Evaluation of acute toxicity, antibacterial activity, and mode of action of the hydroethanolic extract of *Piper umbellatum* L[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 151(1): 137-143.
- [15] PINTO N D C C, CAMPOS L M, EVANGELISTA A C S, et al. Antimicrobial *Annona muricata*, L. (soursop) extract targets the cell membranes of gram-positive and gram-negative bacteria[J]. *Industrial Crops & Products*, 2017, 107: 332-340.
- [16] 苏冰梅, 王婷, 方淑霞, 等. 喹诺酮类与磺胺类药物对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌的联合毒性及其机制初探[J]. 环境化学, 2015, 34(11): 1975-1980.
- [17] 张军, 田子罡, 王建华, 等. 有机酸抑菌分子机理研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2011, 42(3): 323-328.
- [18] ALAKOMI H L, SKYTTA E, SAARELA M, et al. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane[J]. *Applied and environmental microbiology*, 2000, 66(5): 2001-2005.
- [19] WANG C, CHANG T, YANG H, et al. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*[J]. *Food Control*, 2015, 47(6): 231-236.
- [20] NLF P, PEA A, JGAS J, et al. Antibacterial activity and antibiotic modulating potential of the essential oil obtained from *Eugenia jambolana* in association with led lights[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2017, 174: 144-149.
- [21] DELVES B J. The use of EDTA to enhance the efficacy of nisin towards gram-negative bacteria[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1993, 32(1-3): 87-97.