

蓝光对阪崎肠杆菌的杀菌及机制研究

褚召娟¹, 李磊¹, 闵世豪¹, 吴梦凡¹, 褚云¹, 王小元¹, 胡晓清^{1,2}, 王小红³

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122) (2. 江南大学食品安全国际合作联合实验室, 江苏无锡 214122) (3. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

摘要: 本文以食源性致病菌阪崎肠杆菌为对象, 研究了医学领域抗细菌感染蓝光的杀菌作用, 并首次对其杀菌机制进行了探究。结果表明, 当蓝光剂量大于 30 J/cm² 时, 对阪崎肠杆菌具有显著杀菌作用, 照射剂量达 240 J/cm² 时, 杀菌率超过 8 log₁₀ CFU。亚致死剂量 (0~30 J/cm²) 蓝光照射下, 单线态氧 (¹O₂) 探针 SOSG 开始出现绿色荧光信号, 显示细胞内 ¹O₂ 涌现并造成细胞外壁微小孔洞; 活性氧物质 (ROS) 也迅速产生并逐渐增大至 5 a.u.; 随后脂质氧化标志物丙二醛 (MDA) 逐渐增加, 显示细胞内产生脂质氧化。上述胞内物质变化导致细胞外膜受损, 30 J/cm² 蓝光下细胞外膜渗透性增加了 48.96%; 此外脂肪酰基谱测定揭示, 不饱和脂肪酸 C_{18:2}, C_{16:1} 和 C_{18:1} 含量减少并逐渐消失, 很可能是细胞外膜损伤的重要原因之一。本研究确证了蓝光下细菌胞内 ¹O₂、ROS 及脂质氧化物的动态变化, 更重要的是, 揭示了细胞外膜损伤是蓝光杀菌的重要方式之一, 因为细菌脂质尤其是不饱和脂肪酸是蓝光杀菌重要靶标, 本研究将有助于蓝光杀菌机制的深入探究。

关键词: 蓝光; 杀菌机制; 阪崎肠杆菌; 细胞膜损伤; 不饱和脂肪酸

文章编号: 1673-9078(2019)07-13-17

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.7.003

Inactivation of *Cronobacter sakazakii* by Blue Light and the Mechanism

CHU Zhao-juan¹, LI Lei¹, MIN Shi-hao¹, WU Meng-fan¹, CHU Yun¹, WANG Xiao-yuan¹, HU Xiao-qing^{1,2}, WANG Xiao-hong³

(1.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Biotechnology School, Jiangnan University, Wuxi 214122, China) (2.Joint Laboratory of Food Safety International Cooperation, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(3.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Blue light (BL) had been employed in medicine recently to inactivate bacteria, while its mechanism needed to be investigated. Thus, this work conducted herein examined the bactericidal effect of BL on the food borne pathogen *Cronobacter sakazakii*, and the underlying mechanism. The results showed that BL above 30 J/cm² exhibited an efficient bactericidal effect against *C. sakazakii*, and an inactivation rate above 8 log₁₀ CFU was achieved under 240 J/cm². Under the sublethal BL dose, singlet oxygen (¹O₂) and reactive oxygen species (ROS) were rapidly produced and gradually increased, followed by the emergence of malondialdehyde (MDA), indicating lipid oxidation in cells. Moreover, the permeability of the outer membrane of cell increased by 48.96% at 30 J/cm², indicating injury to cell membranes. Results of fatty acid spectra showed that the contents of unsaturated fatty acids C_{18:2}, C_{16:1} and C_{18:1} decreased and disappeared. This work confirmed at the first time the dynamic change of intracellular ¹O₂, ROS and MDA, and especially, revealed that damage on cell outer membrane was one the inactivation means of BL, because bacterial lipids, especially unsaturated fatty acids, are important targets for BL. These results will contribute to the study of the mechanism of blue-light sterilization.

Key words: blue light; bactericidal mechanism; *Cronobacter sakazakii*; cell membrane damage; unsaturated fatty acid

食源性细菌污染爆发严重威胁着人类健康, 食品体系中污染菌呈现多样化的特点, 尤其是抗生素的使用导致抗药性细菌频频被检出, 为食品安全控制带来严峻挑战, 亟待发展针对杀菌谱广、对食品原料无副

收稿日期: 2019-03-18

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1600100); 国家自然科学基金项目 (31201290); 中国博士后科学基金项目 (177169)

作者简介: 褚召娟 (1991), 女, 硕士生, 研究方向: 光生物学

通讯作者: 胡晓清 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物学

作用的杀菌方法。近年来医学上用以抗细菌感染的 405~470 nm 蓝光 (Blue light, BL) 具有良好潜力^[1], 这归因于其具有多方面优点。首先它不需要添加外源光敏剂; 其次, BL 杀菌谱广, 医学上报道其对革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌及真菌均有杀灭作用; 而且 BL 安全性高, 几乎不对动植物细胞产生不良影响。

关于 BL 杀菌机制仍未完全了解, 目前 BL 杀菌过程某些环节认为假说^[1], 目前大多数研究者广为接

受的杀菌过程为：首先 BL 激发细胞内光敏剂如粪卟啉，这种光吸收过程导致能量转移，产生高能单线态氧 ($^1\text{O}_2$)； $^1\text{O}_2$ 半衰期很短，会迅速产生活性氧物质 (reactive oxygen species, ROS)；ROS 随后造成细胞内生物大分子如蛋白质、核酸损伤，因为含巯基的蛋白质^[2]和核酸^[3]的生物分子易于被 ROS 氧化；最终导致细胞死亡。目前，从 $^1\text{O}_2$ 到 ROS 动态变化尚未得到证实，而且，到目前为止尚未有报道新的作用靶标，而细胞膜中脂肪酸理论上很可能成为 ROS 的攻击对象。

有基于此，本研究针对食源性病原体阪崎肠杆菌 (*Cronobacter sakazakii*)^[4]，首先研究 BL 杀菌动力学，获知其杀菌剂量及杀菌效率，然后借助多种分析手段解析其杀菌机制。包括 $^1\text{O}_2$ 、ROS 动态变化；脂质氧化物 MDA 检测；借助气相色谱-质谱 (GC-MS) 测定脂肪酸组成和含量的变化；利用 1-N-苯基萘胺 (NPN) 表征细胞膜损伤后渗透性的变化。这也是对 BL 杀菌中细菌脂肪酸变化的首次研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

C. sakazakii ATCC BAA-894，购自 ATCC；碧云天脂质氧化 (MDA) 检测试剂盒及总抗氧化能力检测试剂盒，购自碧云天生物技术研究所；N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺 (即 BSTFA)，上海麦克林生化科技有限公司；Simply P 总 RNA 提取试剂盒，购自北京 BioFlux 公司；SuperReal PreMix Plus (SYBR Green) 试剂盒，购自北京 Tiangen；1-N-苯基萘胺 (NPN)，购自深圳市森迪生物科技有限公司；单线态氧绿色荧光探针 (singlet oxygen sensor green, SOSG)，购自 Invitrogen 公司。

1.2 仪器与设备

蓝光 IED 灯，购自加拿大光学治疗公司；紫外分光光度计，日本岛津；电热恒温鼓风干燥箱，上海一恒科技有限公司；酶标仪，美国 BioTek 公司；能量密度计，PM100D 型，购自美国 Thorlabs。

1.3 实验菌种及培养条件

将 *C. sakazakii* 划线于 LB (10 g/L 胰蛋白胨, 5 g/L 酵母提取物, 10 g/L NaCl, pH 7.0) 琼脂平板, 37 °C 培养 48 h。挑取单菌落, 接种于装有 50 mL LB 培养基的 250 mL 摇瓶中, 37 °C、200 r/min 培养 5~10 h, 直至 600 nm 吸光度 (OD_{600}) 达到 1.0。

1.4 蓝光照射

首先, 取 1 mL 培养液, 在 4 °C 和 8000 r/min 下离心 5 min, 弃上清, 细菌沉淀重悬于 1 mL 磷酸钠缓冲液 PBS (pH 7.0, 0.2 M) 中, 振动 3 min 制备菌悬液。然后如前所述离心、弃上清, 用 PBS 溶液洗涤 3 次, 将细菌沉淀重悬在 0.2 M 的 PBS 中, 获得 5×10^8 菌落形成单位 (CFU) /mL 的细胞密度。

最后, 将 4 mL 菌悬液置于六孔板的一孔 (直径 35 mm) 中接受 BL 照射。蓝光 IED 灯通过铁架台固定在菌悬液上方, BL 中心波长 415 nm。使用能量密度计测定菌悬液表面中心的能量密度, 通过调节 LED 灯和样品之间的距离, 获得 16.7 mW/cm² 的能量水平, 即 1 min 的照射剂量为 1 J/cm²。六孔板侧面用锡箔密封, 对于没有 BL 照射的对照组, 六孔板顶部也用锡箔覆盖。

在蓝光照射期间, 通过微型磁棒以 30 r/min 温和地搅拌菌悬液。为了计算存活率, 在 0、10、20、30、60、120 和 240 min (即在照射度值 0、10、20、30、60、120 和 240 J/cm²) 时, 吸取 20 μL 悬浮液, 连续稀释后, 在 LB 琼脂平板上涂布, 选择 20~200 个菌落的平板计数, 设置三个平行。

1.5 胞内 $^1\text{O}_2$ 的观测

首先用 PBS 稀释 SOSG 试剂, 稀释比例为 1:100; 然后取 3 μL 蓝光照射菌悬液, 置于载玻片上, 盖上载玻片, 并用指甲油密封四周, 隔离避免引入其他杂质; 最后采用荧光共聚焦显微镜镜检, 详细操作如下:

调节显微镜荧光激发波长 488 nm, 发射波长 525 nm; 在显微镜的载物台中央滴上一滴专用油; 将载玻片倒放在载物台中央, 观察目镜中视野, 粗调焦距使视野中出现清晰的细胞形态; 在 512 \times 512 的分辨率、600 Hz 上细调焦距, 直至屏幕上出现荧光信号, 观察荧光信号和细胞位置, 判断分析 $^1\text{O}_2$ 的分布情况及其变化。

1.6 胞内 ROS 测定

首先按照 1:1000 的比例用 PBS 将 DCFH-DC 稀释, 使其浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$; 然后取 500 μL 蓝光照射菌悬液, 置于 1.5 mL 的离心管; 装载探针, 将上述样品 12000 r/min 离心 5 min, 弃上清; 再加入 1 mL DCFH-DA 试剂重悬细胞, 吹打混匀, 30 °C 培养箱中孵育, 每 3~5 min 振摇一次, 使细胞和 DCFH-DC 充分接触; 20 min 后取出, 12000 r/min 离心 5 min,

弃上清,置于冰盒;用PBS缓冲液洗涤2次,充分洗掉残留在细胞膜表面DCFH-DC;最后利用荧光光度计检测,激发波长488 nm、发射波长525 nm、间缝值5 nm,测定荧光值,以1荧光数值代表菌液细胞中含有1a.u.的ROS。

1.7 细胞外膜渗透性检测

取不同BL剂量下的菌悬液,离心获得细胞,PBS洗涤,重悬于pH 7.4的20 mmol/L PBS中,之后用疏水性探针NPN检测外膜渗透性,NPN透过细胞表面并定位于细胞膜。

1.8 脂质氧化物检测

使用丙二醛(MDA)测定试剂盒,其原理是MDA作为脂质过氧化的终产物,与硫代巴比妥酸反应形成加合物,通过532 nm吸光度定量。

首先收集500 μ L菌悬液,并在4 $^{\circ}$ C和8000 r/min下离心5 min。将细胞沉淀重悬在500 μ L PBS中,立即浸入液氮中,2 min后取出在冰上解冻;将解冻液在4 $^{\circ}$ C和8000 r/min离心5 min,取100 μ L上清到1.5 mL离心管,再加入200 μ L MDA工作溶液混合;最后,将反应混合物用沸水加热15 min,冷却至室温,以6000 r/min离心10 min,取200 μ L上清液检测532 nm处的吸光度。

1.9 细菌脂肪酸的提取与分析

首先,将细菌细胞重悬于3 mL的4 M NaOH中,90 $^{\circ}$ C孵育90 min,冷却后用HCl调节pH至2;然后加入3 mL无水乙醚,混合,6000 r/min离心10 min;随后小心吸取1.2 mL上相,加入约0.1 g无水硫酸钠,使上层相脱水12 h;小心移取0.6 mL乙醚相,氮气流下吹干,溶解在100 μ L己烷中;最后,取50 μ L双三甲基甲硅烷基三氟乙酰胺(BSTFA),加入到己烷溶液中,并将混合物在50 $^{\circ}$ C温育30 min,GC-MS分析同文献^[5]。

1.10 数据统计分析

蓝光及对照组均进行三次独立试验并取平均值,图中数值表示为平均值 \pm 标准偏差。使用ANOVA比较蓝光及对照组差异的统计显著性, $p < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与讨论

目前BL杀菌机制有待确证和深入研究,因此首先进行了杀菌动力学研究,并对 $^1\text{O}_2$ 、ROS、MDA进

行了确证和动态分析,并对新的靶标-细胞膜的渗透性进行分析,此外还对脂肪酰基谱进行测定,结果如下。

2.1 BL对*C. sakazakii*杀菌动力学

本研究使用415 nm LED灯,以16.7 mW/cm²的能量密度照射菌悬液。结果如图1所示,对照组菌体密度几乎不变,而蓝光组存活率和BL剂量具有明显相关性,二者具有显著差异($p < 0.05$)。当BL剂量低于30 J/cm²时,菌体密度保持稳定,表明其为亚致死剂量;而当BL剂量超过30 J/cm²时,菌体密度逐渐降低,当剂量达240 J/cm²时,其菌液降幅超过8 log₁₀ CFU。本研究显示415 nm蓝光可有效灭活*C. sakazakii*,而据报道,460 nm的BL对蜡状芽孢杆菌、大肠杆菌O157:H7、单核细胞增生李斯特菌^[7]、沙门氏菌^[6]、志贺氏菌和金黄色葡萄球菌也显现出杀菌效果。

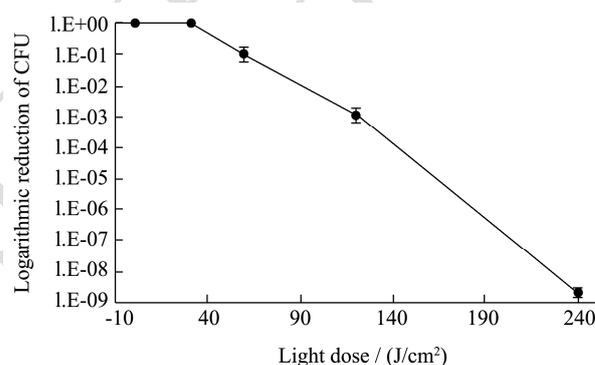


图1 BL对*Cronobacter sakazakii*杀菌动力学

Fig.1 Light dose-dependent photodynamic inactivation of *C. sakazakii*

为揭示BL杀菌机制,对在亚致死剂量(0~30 J/cm²)下细胞内ROS和氧化产物进行了分析如下。

2.2 $^1\text{O}_2$ 和ROS变化

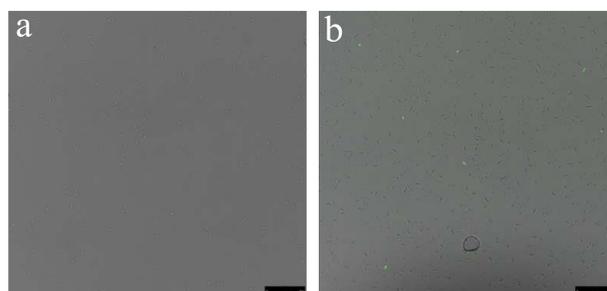


图2 蓝光照射前(a)及20 J/cm²(b) SSG荧光显微镜

Fig.2 Detection of singlet oxygen without (a) and with 20 J/cm² BL irradiation (b) by CLSM

首先,观测了部分细胞中SSG与 $^1\text{O}_2$ 结合的信号,在BL照射之前荧光探针SSG没有进入细胞内部,故无荧光信号;而当BL剂量达到20 J/cm²时,

荧光探针进入到部分细胞中与 1O_2 发生反应。其原因可能是细胞内的产生少量单态氧，部分细胞的细胞外膜受损形成微小孔洞，荧光探针 SOSG 进入细胞并结合 1O_2 。在临床致病菌如痤疮丙酸杆菌和幽门螺杆菌中^[1]，蓝光杀菌作用已有报道，但由于 1O_2 半衰期很短，细菌中目前尚无成熟有效的监测方法，本研究借助哺乳动物细胞中基于 SOSG 的 1O_2 测定法，通过荧光显微条件优化，获得了蓝光下 1O_2 产生的直接证据。

随后监测了 ROS 变化，由图 3 显示，胞内 ROS 在 BL 照射前比较低，但 BL 照射后迅速升高，在 BL 剂量达到 $20 J/cm^2$ 时，ROS 含量达到 5 a.u.，并维持这一水平到 $30 J/cm^2$ 。图 2 和图 3 变化印证了 1O_2 和 ROS 相关性。在大多数研究者认可的蓝光杀菌假说中^[1]， 1O_2 和 ROS 首先被产生，也扮演着重要作用，但目前尚无研究其动态变化的报道，本研究揭示了这一动态变化过程。ROS 的产生也是一些抗菌剂杀菌过程的重要环节^[8,9]，如和厚朴酚对白色念珠菌具有很强的抑制作用，最小抑菌浓度为 $16 \mu g/mL$ ，使白色念珠菌产生大量 ROS，这也是其通过氧化胁迫破坏线粒体和并使细胞凋亡的物质基础。

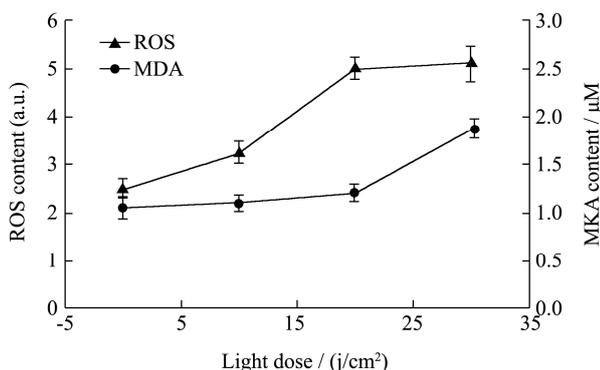


图3 胞内 ROS 及 MDA 变化

Fig.3 Changes of the intracellular ROS and MDA contents

2.3 脂质氧化物 MDA 及脂肪酰基谱

ROS 产生后，是否对细胞造成氧化胁迫？随后监测了 MDA，也是细胞受到氧化胁迫损伤的标志物。如图 3 所示，起始 MDA 含量为 $1.1 \mu M$ ，BL 开始照射 ($0\sim 20 J/cm^2$) 略有提升增加至 $1.2 \mu M$ ，但随后迅速跃升， $30 J/cm^2$ 时超过 $1.8 \mu M$ 。总的来说，其变化趋势滞后于 ROS，其原因在于 ROS 产生初期，细胞内存在氧化还原物质如还原性谷胱甘肽 GSH 等与之对抗，直到后期 ROS 产生量过大后，才会攻击脂质分子产生 MDA。ROS 易氧化并破坏各种生物分子，如氨基酸，DNA 和 RNA。然而，据我们所知，目前几乎无 BL 导致细菌脂质受损的报道，因此利用 GC-MS 进一步分析了脂肪酰基谱。

如表 1 所示，共检测出 9 种脂肪酸变化，其中一些脂肪酸在 BL 照射中逐渐消失，例如， $C_{18:2}$ 在照射前占比 0.85% ，而在 $10 J/cm^2$ 的 BL 照射剂量下消失，对于 $C_{16:1}$ 和 $C_{18:1}$ 也发现了类似的现象，二者在 $20 J/cm^2$ 下均消失（表 1）。不饱和脂肪酸相对丰度总体下降的原因是，它们易于被 ROS 及其诱导产生的脂肪酸自由基氧化，后者通过自由基链反应机制攻击不饱和脂肪酸。此外，部分饱和脂肪酸 $C_{15:0}$ 也有降低，其从 2.23% 降至 1.31% ，目前尚不清楚为什么 $C_{15:0}$ 比其他饱和脂肪酸更容易氧化，值得进一步研究。

表 1 细胞脂肪酰基谱变化

Table 1 Changes of fatty acid profiles

保留时间/min	脂肪酸	脂肪酸组成比/%			
		0 J/cm ²	10 J/cm ²	20 J/cm ²	30 J/cm ²
8.147	12:0	0.63	0.69	0.58	0.55
12.669	14:0	0.61	0.6	0.66	0.59
13.010	15:0	2.23	2.16	1.57	1.31
14.202	16:1	6.84	5.53	0	0
14.228	16:0	10.11	10.03	10.33	9.82
15.823	17:1	7.52	4.15	3.87	1.93
17.036	18:2	0.85	0	0	0
17.535	18:1	23.04	9.56	0	0
25.794	18:0	0.92	1.01	0.89	0.78

不饱和脂肪酸主要位于细胞膜和细胞外膜上^[10]，它们的氧化可能导致细胞外膜的损伤^[11]，因此，最后考察了细胞外膜的渗透性变化。

2.4 细胞外膜的渗透性

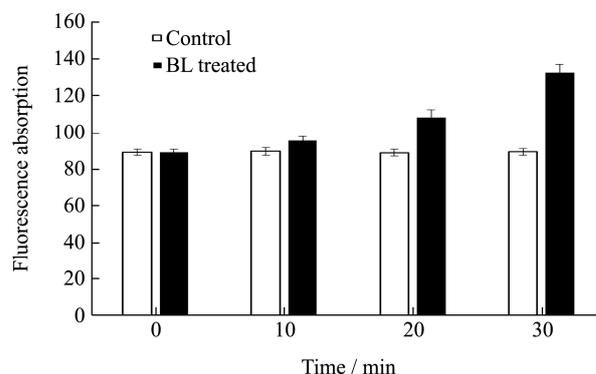


图 4 细胞外膜渗透性的变化

Fig.4 Changes of permeability of outer membrane of cell

细胞外膜的渗透性如图 4 所示，在对照样品中，NPN 荧光值几乎无变化，即细胞膜渗透性无波动，而 BL 照射后，NPN 荧光逐渐增强，显示细胞外膜渗透性逐步增加，对照组和蓝光组具有显著差异 ($p < 0.05$)。在 $30 J/cm^2$ 照射剂量下通透性相对于对照组照高

48.96%，这归因于不饱和脂质的逐渐氧化（图2）。细胞外膜渗透性的急剧波动通常伴随着膜的解体和破坏^[12]。报道表明，大多数抗菌肽通过破坏细胞膜来杀死微生物^[13]，如中性粒细胞中的阳离子蛋白—杀菌/通透性增强蛋白 BPI 可增加外膜对抗菌药的通透性，从而具有特异性杀菌功能^[14]。因此，由 BL 照射产生的膜渗透性发生改变很可能导致细胞破裂和细胞死亡。

脂质分子是所有生物体的细胞膜的组分，脂质的组成可以影响膜的性质，例如渗透性^[15]。在亚致死剂量下的大多数膜损伤迅速发生并且是可逆的。然而当 BL 剂量超过 30 J/cm² 时，将导致不可逆的外膜损伤和细菌死亡，如细胞死亡之前观察到的 NPN 荧光增加^[15]，这可能是 BL 杀菌机制之一。

蓝光杀菌的详细机制有待进一步研究。¹O₂ 通过级联反应可生成 ROS，而有没有活性氮的生成目前尚不明^[16]，这也是阐释蓝光杀菌理论的重要内容。此外，本研究也初步揭示，*C. sakazakii* 在 BL 下还原性谷胱甘肽含量有所增加，这极可能是为了对抗 ROS 而生成的抗氧化剂^[17]。研究 BL 胁迫下的应激对于完善蓝光杀菌策略具有重要意义，如霍乱弧菌 MerR 和 ChrR 介导了细菌对 BL 胁迫的响应^[18]，金黄色葡萄球菌转录组学数据为解析 BL 下细菌的全局响应奠定了基础^[19]。*C. sakazakii* 活性氮及胁迫响应有待后续深入研究。

3 结论

本研究首先揭示蓝光对 *C. sakazakii* 具有杀菌作用，BL 照射剂量达 240 J/cm² 时，杀菌率超过 8 log₁₀ CFU；然后确证了 BL 照射后胞内 ¹O₂ 及 ROS 的动态变化，其增加使得 MDA 迅速提高，显示 BL 产生胞内氧化胁迫；最后对脂肪酰基谱进行了监测，发现不饱和脂肪酸 C_{18:2}、C_{16:1} 和 C_{18:1} 含量减少并消失，相应的，细胞外膜渗透性逐步增大，显示细胞外膜受损。本研究表明细菌脂质尤其是不饱和脂肪酸是 BL 杀菌重要靶标，这将有助于进一步揭示蓝光杀菌机制。

参考文献

- [1] Dai T, Gupta A, Murray C K, et al. Blue light for infectious diseases: *Propionibacterium acnes*, *Helicobacter pylori*, and beyond? [J]. Drug Resist Updat, 2012, 15(8): 223-236
- [2] Kim M J, Yuk H G. Antibacterial mechanism of 405-nanometer light-emitting diode against *Salmonella* at refrigeration temperature [J]. Appl Environ Microbiol, 2017, 83(5): e02582-02516
- [3] Bumah V V, Aboualizadeh E, Masson-Meyers DS, et al. Spectrally resolved infrared microscopy and chemometric tools to reveal the interaction between blue light (470 nm) and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. J Photochem Photobiol B, 2017, 167(2): 150-157
- [4] Van Acker J, de Smet F, Muyllderms G, et al. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(1): 293-297
- [5] Li Y, Wu S, Wang L, et al. Differentiation of bacteria using fatty acid profiles from gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Sci Food Agr, 2010, 90: 1380-1383
- [6] Ghate V, Kumar A, Kim M J, et al. Effect of 460 nm light emitting diode illumination on survival of *Salmonella* spp. on fresh-cut pineapples at different irradiances and temperatures [J]. J Food Eng, 2017, 196(3): 130-138
- [7] Ghate V, Kumar A, Zhou W, et al. Effect of organic acids on the photodynamic inactivation of selected foodborne pathogens using 461 nm LEDs [J]. Food Control, 2015, 57(11): 333-340
- [8] 姜路路,张铭嘉,孟美竹,等.和厚朴酚通过 ROS 的积累和破坏细胞膜杀死白色念珠菌[J].微生物学报,2018,3:511-519
JIANG Lu-lu, ZHANG Ming-jia, MENG Mei-zhu, et al. Honokiol kills *Candida albicans* through ROS accumulation and cell membrane destruction [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 3: 511-519
- [9] Vatansever F, de Melo W C, Avci P, et al. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species-bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond [J]. FEMS Microbiol Rev, 2013, 37: 955-989
- [10] Alves E, Santos N, Melo T, et al. Photodynamic oxidation of *Escherichia coli* membrane phospholipids: new insights based on lipidomics [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2013, 27: 2717-2728
- [11] Lopes D, Melo T, Santos N, et al. Evaluation of the interplay among the charge of porphyrinic photosensitizers, lipid oxidation and photoinactivation efficiency in *Escherichia coli* [J]. J Photochem Photobiol B, 2014, 141(12): 145-153
- [12] Jordanova A, Stefanova N, Staneva G, et al. Surface properties and behavior of lipid extracts from plasma membranes of cells cultured as monolayer and in tissue-like conditions [J]. Cell Biochem Biophys, 2009, 54(7): 47-55
- [13] Brogden K A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? [J]. Nat Rev Microbiol, 2005, 3: 238-250

(下转第 210 页)

现代食品科技