

激光结合螺旋藻增强FeSO₄诱导鼠伤寒沙门氏菌和单核细胞增生李斯特菌铁死亡的发生机制

孙晋跃, 潘佳能, 陈奕颖, 刘人诚, 周文文*

(浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 为探究激光 (laser, L) 结合螺旋藻 (*Spirulina platensis*, SP) 增强FeSO₄ (Fe) 诱导鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, ST) 和单核细胞增生李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 铁死亡发生的机制, 研究不同处理后菌体细胞脂质过氧化、活性氧、谷胱甘肽变化, 形态特征、细胞膜损伤和关键基因的表达等。结果表明, 经L结合SP处理后FeSO₄的杀菌效果显著增强, 且4 mmol/L Fe+SP+L处理后ST和LM的菌数均降低至<1.4 (lg (CFU/mL))。此外, Fe+SP+L处理使得微生物细胞的脂质过氧化水平和活性氧升高, 谷胱甘肽的比例降低, 菌体细胞膜完整性受到破坏, 细胞膜的通透性增加, 膜电位降低, 进而导致菌体的核酸和蛋白泄漏增加, 最终导致菌体死亡。此外, 抑制生物被膜实验和生物被膜杀菌实验表明4 mmol/L Fe+SP+L处理对2种菌生物被膜的形成具有很好的控制作用。最后, 4 mmol/L Fe+SP+L处理可使得生菜上ST和LM的数量分别显著降低至4.63 (lg (CFU/g)) 和4.60 (lg (CFU/g))。综上, Fe+SP+L处理可以显著降低游离状态和生物膜状态下ST和LM的数量, 具有较好的控制生菜等食品表面食源性致病菌的潜力。

关键词: 激光; 螺旋藻; 铁死亡; 脂质过氧化; 生物被膜

Mechanism by Which Laser Irradiation Combined with *Spirulina platensis* Enhances FeSO₄-Induced Ferroptosis in *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*

SUN Jinyue, PAN Jianeng, CHEN Yiyang, LIU Rencheng, ZHOU Wenwen*

(College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: To explore the mechanism by which laser (L) irradiation combined with *Spirulina platensis* (SP) enhances ferroptosis induced by FeSO₄ (Fe) in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (ST) and *Listeria monocytogenes* (LM), this study measured lipid peroxidation, reactive oxygen species (ROS), glutathione (GSH), morphological characteristics, cell membrane damage, and expression levels of key genes in the two foodborne pathogens after different treatments. The results showed that the L + SP treatment significantly enhanced the bactericidal effect of FeSO₄. The 4 mmol/L Fe + SP + L treatment reduced the counts of both ST and LM to less than 1.4 (lg(CFU/mL)). Additionally, the Fe + SP + L treatment led to increased lipid peroxidation and ROS production and decreased proportion of GSH, thereby damaging the integrity of the cell membrane, increasing the permeability of the cell membrane, decreasing the membrane potential, increasing the leakage of intracellular nucleic acids and proteins, and ultimately resulting in the death of bacteria. In addition, the biofilm inhibition and inactivation experiments showed that the 4 mmol/L Fe + SP + L treatment had an excellent antibiofilm capacity. Finally, the counts of ST and LM on lettuce were significantly decreased to 4.63 and 4.60 (lg(CFU/g)), respectively, after the 4 mmol/L Fe + SP + L treatment. In conclusion, the Fe + SP + L treatment could effectively reduce the counts of ST and LM in both planktonic and biological states, indicating its good potential for controlling foodborne pathogens on the surface of lettuce and other foods.

Keywords: laser; *Spirulina platensis*; ferroptosis; lipid peroxidation; biofilm

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240723-228

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2025) 02-0008-12

收稿日期: 2024-07-23

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LTGN23C200014)

第一作者简介: 孙晋跃 (1995—) (ORCID: 0000-0003-0074-1370), 男, 博士研究生, 研究方向为食品微生物代谢调控与食品安全。E-mail: 2055163428@qq.com

*通信作者简介: 周文文 (1982—) (ORCID: 0000-0002-4125-2234), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品微生物代谢调控与食品安全。E-mail: vivianzhou11@zju.edu.cn

引文格式:

孙晋跃, 潘佳能, 陈奕颖, 等. 激光结合螺旋藻增强 FeSO_4 诱导鼠伤寒沙门氏菌和单核细胞增生李斯特菌铁死亡的发生机制[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 8-19. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240723-228. <http://www.spkx.net.cn>

SUN Jinyue, PAN Jianeng, CHEN Yiyue, et al. Mechanism by which laser irradiation combined with *Spirulina platensis* enhances FeSO_4 -induced ferroptosis in *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*[J]. Food Science, 2025, 46(2): 8-19. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240723-228. <http://www.spkx.net.cn>

人体摄入食源性致病菌会导致严重的食源性疾病, 进而引发非常严重的公共卫生问题, 并对社会生产力和医疗领域产生较大的经济影响^[1]。鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, ST)是最常见的革兰氏阴性食源性致病菌之一, 它会引起发热、腹泻、呕吐等, 严重者会发生败血症^[2]。单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*, LM)是常见的革兰氏阳性食源性致病菌, 可以在低温、低pH值和高盐浓度等极端条件下存活, 致死率为25%~30%^[3-4]。此外, ST和LM具有较强的生物被膜形成能力^[5-6]。生物被膜是由微生物附着在培养物的表面, 并被纤维素、多糖和蛋白质等包围形成的, 生物被膜的存在会增大杀菌的难度^[7-8]。生菜是一种鲜食蔬菜, 在其加工过程中极易遭受微生物的污染, 其中ST和LM的污染最为常见^[9-11]。因此, 为了避免生菜遭受食源性致病菌的污染从而引发食源性疾病, 采用合适的杀菌方法对其病原微生物进行控制就显得尤为重要。

螺旋藻(*Spirulina platensis*, SP)是一种被公认安全的微藻, 因其富含必需脂肪酸、维生素和色素等, 已经被制成干粉和胶囊等营养补充剂^[12-13]。此外, SP中含有丰富的叶绿素使其作为一种天然的光敏剂, 在红色激光(laser, L)照射下可以产生活性氧(reactive oxygen species, ROS), 同时ROS作为强氧化剂可直接损伤微生物^[14]。

铁死亡是一种新型的细胞死亡方式, 它与其他形式的细胞死亡(凋亡、坏死和焦亡等)的主要区别是铁介导的氧化应激异常升高和谷胱甘肽(glutathione, GSH)耗尽, 从而导致脂质过氧化物的过度积累, 引发细胞死亡^[15]。此外, 铁死亡最早发现于哺乳动物细胞中, 且其对于肿瘤的治疗具有较大的意义。Zhang Liang等^[16]研究发现, 共价有机框架-919具有较好的ROS产生能力, 它可以上调肿瘤细胞内脂质过氧化, 导致GSH消耗, 并诱导肿瘤细胞铁死亡, 从而可以有效地抑制肿瘤细胞的转移和复发。近年来, 植物细胞和微生物也被发现存在铁死亡现象^[17-18]。此外, 硫酸亚铁(FeSO_4)是一种常见的细胞铁死亡诱导剂, 直接暴露于 FeSO_4 溶液中会诱导细胞铁死亡的发生^[19]。同时, FeSO_4 作为一种常见的口服补铁剂, 可以有效地治疗缺铁性贫血^[20]。然而, 关于 FeSO_4 诱导ST和LM铁死亡发生的研究却鲜见报道。

因此, 为探讨L联合SP与 FeSO_4 处理对典型的革兰氏阳性致病菌和革兰氏阴性致病菌是否均具有较好的控制效果, 研究L联合SP增强 FeSO_4 诱导ST和LM铁死亡发生

的机制, 同时研究L联合SP增强 FeSO_4 对ST和LM生物被膜的抑制和杀菌效果, 最后探究该技术如何高效地应用于生菜表面ST和LM的杀菌, 以期推广该联合杀菌技术在鲜切果蔬领域的应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 菌株、材料与试剂

鼠伤寒沙门氏菌ATCC14028、胰酪大豆胨液体培养基(trypticase soy broth, TSB) 青岛海博生物科技有限公司; 单核细胞增生李斯特菌ATCC191156 中国微生物菌种保藏中心。

琼脂粉、酵母浸粉、硫酸亚铁、罗丹明123 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 勃那特螺旋藻GY-D18(液体藻种) 上海光语生物科技有限公司; 溶解氧测定试剂盒 上海笛柏生物科技有限公司; 脂质过氧化测定试剂盒 武汉爱博泰克科技有限公司; ROS检测试剂盒 大连美仑生物技术有限公司; GSH、氧化型GSH(glutathione oxidized, GSSG)检测试剂盒 上海碧云天生物技术有限公司; 苯基-1-萘胺(*N*-phenyl-1-naphthylamine, NPN)、结晶紫 上海麦克林生化科技股份有限公司; 邻硝基苯- β -D-半乳糖苷(ortho-nitrophenyl- β -D-galactoside, ONPG) 福州飞净生物科技有限公司; 巴罗克细胞培养玻片 垒固科技有限公司。

1.2 仪器与设备

LK-R500激光器 清远市镭科光电有限公司; SpinSR激光共聚焦显微镜 日本奥林巴斯公司; SU8010扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM) 日本日立公司; UV-1100紫外分光光度计 上海美谱达仪器有限公司; Tecan酶标仪、Infinite 200Pro荧光酶标仪 瑞士帝肯公司; QuantStudio3实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪 爱普拜斯应用生物系统贸易(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 SP的培养

将SP藻液按照1:1(*V/V*, 下同)的比例接种于过滤灭菌后的扎鲁克培养基中, 并于25℃白光光照条件下培养, 每隔10 d重新按照1:1的比例接种于新鲜扎鲁克培养基中。将培养10 d的SP在3 000×g条件下离心5 min, 留底部沉淀, 底部沉淀用0.85%生理盐水洗涤3次, 备用。

1.3.2 SP的溶解氧产生测定

将去离子水注入离心后的SP沉淀，分别用L和白光处理15 min，同时将等量的去离子水用L和白光处理15 min作为对照组。处理结束后用溶解氧测定试剂盒测定样品的溶解氧含量。

1.3.3 ST和LM铁死亡机制研究

1.3.3.1 ST和LM的培养

将ST和LM（-80℃条件下保存在25%甘油中）划线于含0.6%酵母浸粉的胰酪大豆胨固体培养基（trypticase soy agar-yeast extract, TSA-YE）上，37℃条件下培养48 h。培养结束后，将单个菌落接种于含0.6%酵母浸粉的胰酪大豆胨液体培养基（trypticase soy broth-yeast extract, TSB-YE）中，37℃、180 r/min摇床振荡培养10 h。然后按照1:100的比例再次接种于新鲜的TSB-YE中，37℃、180 r/min摇床振荡培养18 h^[21]。

1.3.3.2 L结合SP、硫酸亚铁对ST和LM的杀菌作用

将培养好的ST和LM收集至离心管中，在4℃、5 000×g条件下离心5 min，弃上清液，留底部细菌沉淀，底部细菌沉淀用0.85%生理盐水洗涤2次，并将ST和LM按照1:100的比例对菌液进行稀释。ST和LM分别按照表1和表2列举的方法进行杀菌处理。处理结束后，将溶液进行10倍梯度稀释，并取100 μL恰当稀释后的混合液均涂布于TSA-YE上，37℃恒温培养48 h后进行菌落计数^[22]。

表1 ST的杀菌处理方法

Table 1 Different sterilization methods for ST

组别	0.85%生理盐水	FeSO ₄ (Fe)	L	SP	处理时间
对照组	+				40 min
L处理组	+		+		L处理15 min后继续放置25 min
SP处理组	+			+	40 min
SP+L处理组	+		+	+	L处理15 min后继续放置25 min
2 mmol/L Fe处理组		+			40 min
2 mmol/L Fe+L处理组		+	+		L处理15 min后继续放置25 min
2 mmol/L Fe+SP处理组		+		+	40 min
2 mmol/L Fe+SP+L处理组		+	+	+	L处理15 min后继续放置25 min
4 mmol/L Fe处理组		+			40 min
4 mmol/L Fe+L处理组		+	+		L处理15 min后继续放置25 min
4 mmol/L Fe+SP处理组		+		+	40 min
4 mmol/L Fe+SP+L处理组		+	+	+	L处理15 min后继续放置25 min

表2 LM的杀菌处理方法

Table 2 Different sterilization methods for LM

组别	0.85%生理盐水	FeSO ₄ (Fe)	L	SP	处理时间
对照组	+				40 min
L处理组	+		+		L处理15 min后继续放置25 min
SP处理组	+			+	40 min
SP+L处理组	+		+	+	L处理15 min后继续放置25 min
4 mmol/L Fe处理组		+			40 min
4 mmol/L Fe+L处理组		+	+		L处理15 min后继续放置25 min
4 mmol/L Fe+SP处理组		+		+	40 min
4 mmol/L Fe+SP+L处理组		+	+	+	L处理15 min后继续放置25 min

1.3.3.3 脂质过氧化、ROS、GSH含量变化测定

将ST和LM分别用0.85%生理盐水（对照）处理40 min，SP联合L组（SP+L）在L处理15 min后继续放置25 min，4 mmol/L FeSO₄（4 mmol/L Fe）和4 mmol/L FeSO₄联合SP和L组（4 mmol/L Fe+SP+L）在L处理15 min后继续放置25 min。处理结束后，将ST和LM用脂质过氧化测定试剂盒（C11-BODIPY探针）染色30 min，然后利用激光共聚焦显微镜观察ST和LM的脂质过氧化情况^[23]。此外，将ST和LM用ROS检测试剂盒（DCFH-DA探针）染色30 min，利用激光共聚焦显微镜观察ST和LM的ROS产生情况^[24]。最后，按照GSH和GSSG检测试剂盒说明书上的操作步骤检测ST和LM GSH含量的变化。

1.3.4 ST和LM膜损伤测定

1.3.4.1 细菌形态的SEM观察

ST和LM的杀菌处理方法参考1.3.3.3节。处理结束后，在4℃、5 000×g条件下离心5 min，弃上清液，留底部菌体，将菌体用2.5%戊二醛溶液固定12 h，固定结束后，使用30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%乙醇溶液进行梯度脱水，经干燥和喷金处理后，使用SEM观察菌体的变化，放大倍数分别为10 000和20 000^[25]。

1.3.4.2 核酸蛋白含量测定

ST和LM的杀菌处理方法参考1.3.3.3节。处理结束后，在4℃、3 000×g条件下离心5 min，保留上清液，用紫外分光光度计测定上清液在260 nm波长处吸光度表示核酸泄漏，上清液在280 nm波长处的光密度表示蛋白泄漏^[26]。

1.3.4.3 外膜通透性测定

ST杀菌处理方法参考1.3.3.3节。处理结束后，将ST菌体重悬于含有40 μmol/L NPN的0.85%生理盐水中。用荧光酶标仪检测激发波长350 nm和发射波长420 nm下的菌体荧光强度表示菌体外膜通透性的变化^[27]。

1.3.4.4 内膜通透性测定

ST和LM的杀菌处理方法参考1.3.3.3节。处理结束后，将ST和LM菌体重悬于2 mmol/L ONPG中，37℃条件下孵育30 min，最后用酶标仪测定上清液在420 nm波长处光密度表示菌体内膜通透性的变化^[28]。

1.3.4.5 膜电位测定

ST和LM的杀菌处理方法参考1.3.3.3节。处理结束后，将ST和LM菌体重悬于质量浓度为2 mg/mL罗丹明123溶液中，室温避光染色30 min后在4℃、3 000×g条件下离心5 min，保留底部菌体并用0.85%生理盐水洗涤3次，然后重悬于在0.85%生理盐水中。最后，用荧光酶标仪检测激发波长480 nm和发射波长530 nm菌体的荧光强度表示菌体膜电位的变化^[29]。

1.3.5 定量逆转录PCR (quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR)

ST和LM的杀菌处理方法参考1.3.3.3节。处理结束后,按照Total RNA提取试剂说明书提取ST和LM菌体的总RNA,然后根据Sun Jinyue等^[30]的方法和反转录体系进行RT-qPCR。此外,ST和LM的引物序列见表3和表4,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表3 ST铁死亡基因和膜损伤基因的RT-qPCR引物
Table 3 Primers used for RT-qPCR amplification of ferroptosis and membrane damage genes of ST

名称	序列	参考文献
S-16S rDNA-F	GTTAGCCGGTGCTTCTCTG	[31]
S-16S rDNA-R	AGGCCTTCGGGTGTAAAGT	
<i>feoA</i> -F	CAGGAAACCGCTTCCACTTC	
<i>feoA</i> -R	CACTCTGACACTGCGTGGA	
<i>fepG</i> -F	TACCGCCGAGGCTGACGGTG	
<i>fepG</i> -R	GCAGCCGAATAGCATTCGAC	
<i>gor</i> -F	TTCAGCGCCACTGCGAAGCC	
<i>gor</i> -R	CGCTATCGGCGGCGGACGCG	
<i>gshB</i> -F	CGATAATATCCAGACCGACG	
<i>gshB</i> -R	CAAGCTCGGCATCGTGATGG	
<i>plsX</i> -F	TTGCCATCGTCCAGCGGTTC	
<i>plsX</i> -R	CGTGACGGTGCCTGCAGCAT	
<i>yacH</i> -F	TAAGTGACTGCCGCGACGGC	
<i>yacH</i> -R	GCCGCTTCGGGCGTACTGTA	
<i>yjgN</i> -F	CAGCGGCTTCTCATCATTGG	
<i>yjgN</i> -R	GCGCGTGCGCATGGTGAA	

表4 LM铁死亡基因和膜损伤基因的RT-qPCR引物
Table 4 Primers used for RT-qPCR amplification of ferroptosis and membrane damage genes of LM

名称	序列	参考文献
L-16S rDNA-F	GGGAGGCAGCAGTAGGGA	[32]
L-16S rDNA-R	ACCGTCAAGGACAAGCA	
<i>lmo0361</i> -F	CCTTATCCATTCGCCGACA	
<i>lmo0361</i> -R	CCATGAGCCTCACTGGACAC	
<i>lmo0460</i> -F	CATGACTGCATCGCCTTCTG	
<i>lmo0460</i> -R	CATTGCTTGTGGGAGCGCTA	
<i>lmo0906</i> -F	GGATAGCGACTGTAATTGTCG	
<i>lmo0906</i> -R	GCGATTGGTGCGGTAAGTGG	
<i>lmo0983</i> -F	TTCGCAACAAGTGCTTCCAC	
<i>lmo0983</i> -R	CTCATAGTGAATACCGCGAG	
<i>lmo1433</i> -F	CTTGCTGGAGATGGGTAGGC	
<i>lmo1433</i> -R	CGGAAGCGGTGCAAGTGGTA	
<i>lmo2105</i> -F	ATGAGTGGTAAGGCGACGGC	
<i>lmo2105</i> -R	CTGGAGCGGAGTTACCGTTG	

1.3.6 不同处理对生物被膜的控制效果

1.3.6.1 生物被膜抑制实验

ST和LM的培养方法参考吴丽娜等^[33]的研究。将活化后的菌液按照1:100的比例再次接种于新鲜的TSB-YE中,向96孔板中按照每孔200 μL规格加入接种后的TSB-YE,置于37℃培养8 h。吸出上层培养基,并将200 μL新鲜的TSB-YE和含有SP、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP的

TSB-YE加入到生物被膜中。SP组和4 mmol/L Fe+SP组暴露于650 nm L条件下15 min。处理结束后,培养物在37℃条件下继续培养40 h。

1.3.6.2 生物被膜杀菌实验

ST和LM的培养方法参考Sun Jinyue等^[26]的研究。将活化后的菌液按照1:100的比例再次接种于新鲜的TSB-YE,向96孔板中按照每孔200 μL规格加入接种后的TSB-YE,置于37℃培养48 h。吸出上层培养基,对照组:0.85%生理盐水处理40 min; SP+L处理组:加入SP,先L处理15 min后继续放置25 min; 4 mmol/L Fe处理组:加入4 mmol/L Fe处理40 min; 4 mmol/L Fe+SP+L处理组:加入4 mmol/L Fe和SP,先L处理15 min后继续放置25 min。

1.3.6.3 结晶紫染色

ST和LM的培养和处理方法参考1.3.6.1节和1.3.6.2节。培养结束后,吸出上层培养基并用无菌磷酸盐缓冲液洗涤两次。然后,将生物被膜用甲醇固定10 min,随后弃去甲醇,并加入200 μL 0.1%的结晶紫染色10 min。染色结束后,吸出结晶紫,并用无菌磷酸盐缓冲液洗涤3次。最后加入200 μL 33%冰醋酸溶液脱色,在37℃条件下培养30 min后,测定孔内溶液在波长570 nm处的光密度^[34]。

1.3.6.4 菌落计数

生物被膜的培养和处理方法参考1.3.6.1节和1.3.6.2节。培养结束后,吸出上层培养基并用无菌磷酸盐缓冲液洗涤2次,加入200 μL 0.85%生理盐水。将生物被膜和孔内溶液一起吸入到0.85%生理盐水中进行10倍梯度稀释,选择100 μL恰当的稀释梯度均匀涂布于TSA-YE平板上,在37℃条件下培养48 h后进行菌落计数^[26]。

1.3.6.5 生物被膜的SEM观察

将生物被膜培养在8孔巴罗克细胞培养玻片上,培养和处理方法参考1.3.6.1节和1.3.6.2节。培养结束后,吸出上层培养基并用无菌磷酸盐缓冲液洗涤2次,将生物被膜在超净工作台中风干,风干结束后使用SEM观察菌体的变化,放大倍数为5 000。

1.3.7 生菜杀菌处理

生菜的准备:生菜购置于当地的蔬果超市。实验前,将生菜浸泡于2‰的次氯酸钠溶液中5 min,用无菌水洗涤5次清除残留的次氯酸钠,随后将生菜置于无菌条件下晾干表面水分。在无菌条件下将生菜剪成3.5 cm×3.5 cm的正方形,采用点接式接菌法对生菜进行接菌,在生菜表面3个点分别接种10 μL浓度约为6.5 (lg (CFU/mL))的ST和LM 3滴,然后无菌条件下晾干^[35]。

处理条件:对照组:0.85%生理盐水处理40 min; SP+L处理组:加入SP,先L处理15 min后继续放置

25 min; 4 mmol/L Fe处理组: 加入4 mmol/L Fe处理40 min; 4 mmol/L Fe+SP+L处理组: 加入4 mmol/L Fe和SP, 先L处理15 min后继续放置25 min。

处理结束后, 将生菜放入10 mL的0.85%生理盐水中振荡30 min。然后, 将振荡后的溶液吸入到0.85%生理盐水中进行10倍梯度稀释, 选择100 μ L恰当的稀释梯度均匀涂布于TSA-YE平板上, 在37 $^{\circ}$ C条件下培养48 h后进行菌落计数。

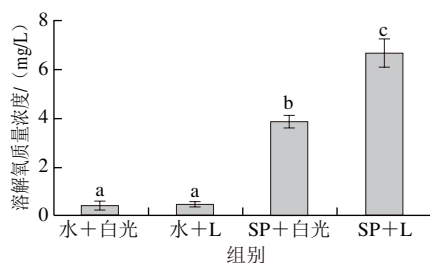
1.4 数据处理与统计分析

所有的图均采用Origin 2021软件进行制作, 采用SPSS 26.0软件进行数据分析, Duncan分析用于检验组别间的显著性差异 (以 $P<0.05$ 表示数据间存在显著性差异, 不同字母表示组间差异显著)^[19]。

2 结果与分析

2.1 SP的溶解氧产生量

如图1所示, SP在L照射下的溶解氧质量浓度为6.67 mg/L, 显著高于白光下溶解氧质量浓度3.87 mg/L ($P<0.05$), 这表明SP在L下的产氧效率高于白光下的产氧效率, 这与Hu Huiqun等^[36]对于红外L和白光的比较研究结果一致。此外, 去离子水无论在红色L还是在白光的照射下产氧效率都非常低。



字母不同表示不同组之间差异显著 ($P<0.05$)。图2、4、6、7、11同。

图1 白光和L照射下SP的溶解氧产量曲线

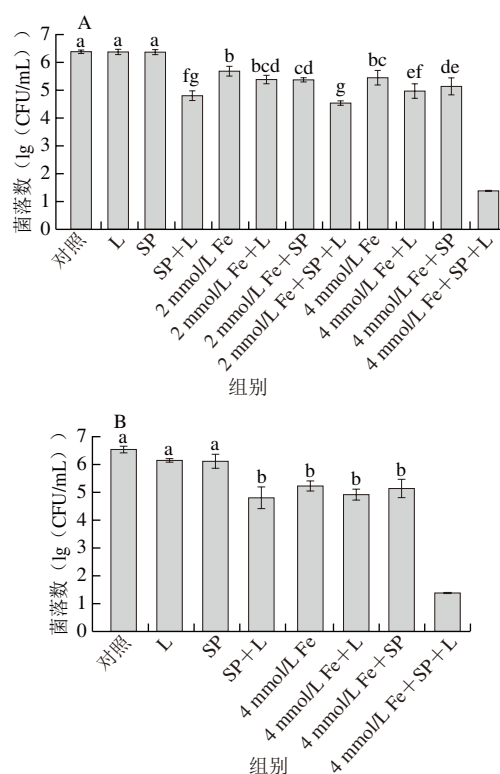
Fig. 1 Dissolved oxygen levels of SP under white light and laser

2.2 ST和LM铁死亡机制研究

2.2.1 不同处理后ST和LM的菌落计数

由图2可知, 对照组的ST和LM的菌落数分别为6.41 (lg (CFU/mL)) 和6.57 (lg (CFU/mL)), 经单独的L处理后, 菌数降低至6.39 (lg (CFU/mL)) 和6.17 (lg (CFU/mL)), 因此单独的L处理对2种菌的杀菌效果比较差。同时, 经单独的SP处理后, ST和LM的菌落数降低至6.39 (lg (CFU/mL)) 和6.14 (lg (CFU/mL)), 因此单独的SP处理对2种菌也无杀菌效果。但是SP+L处理后, ST和LM的菌落数降低至4.83 (lg (CFU/mL)) 和4.81 (lg (CFU/mL)), 所以SP联合L处理具有较强的杀菌效果, 这主要归因于SP含有叶绿素是一种天然

的光敏剂, 在650 nm处的L照射下可产生大量的ROS, ROS作为一种强氧化剂, 对微生物具有损伤作用^[14]。此外, 2 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe处理后, ST的菌数降低至5.70 (lg (CFU/mL)) 和5.47 (lg (CFU/mL)), 而2 mmol/L Fe+L和4 mmol/L Fe+L处理后, ST的菌数降低至5.4 (lg (CFU/mL)) 和4.99 (lg (CFU/mL)), 这说明L联合FeSO₄处理有一定的增强FeSO₄单独处理的杀菌效果。同时, 而2 mmol/L Fe+SP和4 mmol/L Fe+SP处理后, ST的菌数降低至5.38 (lg (CFU/mL)) 和5.15 (lg (CFU/mL)), 而2 mmol/L Fe+SP+L和4 mmol/L Fe+SP+L处理后ST的菌数降低至4.55 (lg (CFU/mL)) 和<1.4 (lg (CFU/mL))。与此同时, 4 mmol/L Fe+SP+L处理后LM的菌数降低可低至<1.4 (lg (CFU/mL)), ≤ 1.4 (lg (CFU/mL)) 表示菌落总数低于可计数范围。因此, L处理下, 可以显著提高SP与FeSO₄联合处理的杀菌效果。这与Hu Huiqun等^[36]的研究一致, L照射下, SP可以显著提高黄连素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌游离细胞和生物被膜细胞的杀菌效果。



Fe+SP+L处理组菌落数低于检测限

1.4 (lg (CFU/mL)), 无显著性字母标注。

图2 不同处理对ST (A) 和LM (B) 的杀菌效果

Fig. 2 Inactivation of ST (A) and LM (B) by different treatments

2.2.2 脂质过氧化与ROS

铁死亡的重要特征是Fe²⁺引发细胞脂质过氧化和ROS的上升, 因此监测细胞脂质过氧化和ROS的变化可

以直接反映出细胞铁死亡的程度。如图3所示,对照组的ST和LM的脂质过氧化和ROS检测显示出轻微的绿色荧光,这说明菌体几乎没有发生脂质过氧化。同时,SP+L处理后ST和LM的脂质过氧化检测依然显示出轻微的绿色荧光,但SP+L处理后ST和LM的ROS检测显示出绿色荧光增强,这说明SP+L处理对菌体细胞的脂质过氧化没有显著的影响,但对ROS的上升具有重要的影响。此外,4 mmol/L Fe处理后ST和LM的脂质过氧化和检测出绿色荧光的比例增加,这说明4 mmol/L Fe会增强菌体细胞的脂质过氧化,导致菌体ROS的上升。值得注意的是,4 mmol/L Fe+SP+L处理后ST和LM菌体绿色荧光的比例显著上升,这说明在L的作用下SP释放的ROS会损伤菌体,因此促进 Fe^{2+} 内流,增强Fe对菌体脂质氧化的诱导作用,从而导致菌体细胞ROS明显的上升,这与Wang Zhen^[23]和Yao Lishan^[37]等的研究结果一致,显示 Fe^{2+} 会诱导微生物*Staphylococcus aureus*和*Aspergillus flavus*细胞铁死亡的发生,并导致细胞质过氧化物积累和ROS爆发。

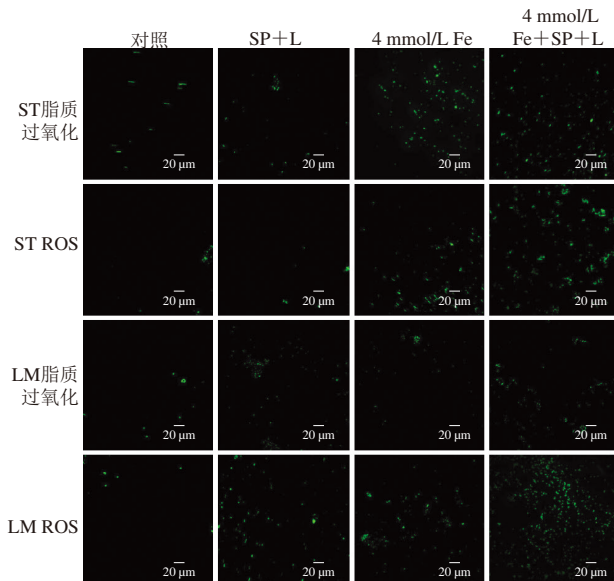


图3 不同处理对ST和LM脂质过氧化和ROS产生的影响

Fig. 3 Effects of different treatments on lipid peroxidation and ROS of ST and LM

2.2.3 GSH含量变化

铁死亡的发生会导致细胞内GSH比例降低, GSSG的比例升高,这主要归因于铁死亡会导致脂质过氧化物的积累,而细胞去除脂质过氧化物的能力受损,因此大量的GSH被消耗转变为GSSG^[38]。如图4所示,对照组和SP+L处理组的GSH/GSSG没有显著性差异($P>0.05$),因此SP+L处理不会明显导致ST和

LM GSH/GSSG的降低。而4 mmol/L Fe处理后,ST和LM的GSH/GSSG显著降低($P<0.05$),这与Hu Huiqun等^[39]的研究一致,基于 Fe_3O_4 制备的纳米颗粒可以诱导耐甲氧西林金黄色葡萄球菌发生铁死亡,且纳米颗粒处理后耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的GSSG和GSH之间的生物平衡被破坏, GSSG/GSH上升。此外,4 mmol/L Fe+SP+L处理后ST和LM的GSH/GSSG与SP+L和4 mmol/L Fe处理相比最低,这表明L结合SP处理会进一步增强Fe对ST和LM铁死亡的诱导作用。

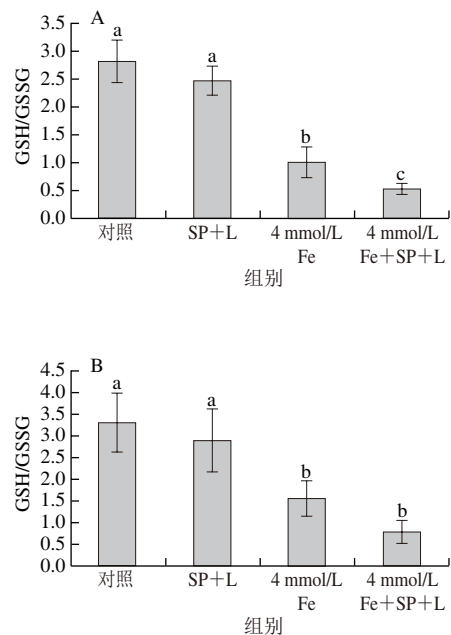


图4 不同处理对ST (A)和LM (B) GSH/GSSG的影响

Fig. 4 Effect of different treatments on GSH/GSSG ratios in ST (A) and LM (B)

2.3 ST和LM膜损伤结果

2.3.1 菌体形态

由图5可知,对照组的ST和LM形态结构均匀且完整。经SP+L处理后,ST出现轻微的塌陷,开始出现少量孔洞,LM形态开始变得不均匀,菌体发生变形。4 mmol/L Fe处理后,ST和LM出现轻微的塌陷,菌体不再是圆润饱满的杆状。Wang Zhen等^[23]研究发现 FeSO_4 处理会破坏金黄色葡萄球菌细胞膜的完整性,菌体表面开始出现裂解,细胞膜变得不再完整。Sun Baohong等^[40]研究发现金黄色葡萄球菌和大肠杆菌发生铁死亡后,菌体开始出现细胞膜裂解和内容物泄漏现象。经4 mmol/L Fe+SP+L处理后,ST和LM表面呈现较严重的损伤,菌体表面变得不完整,出现较大的孔洞。以上结果表明,L结合SP处理会增强Fe对ST和LM细胞的破坏作用,这与2.2.1节菌落计数的结果一致。

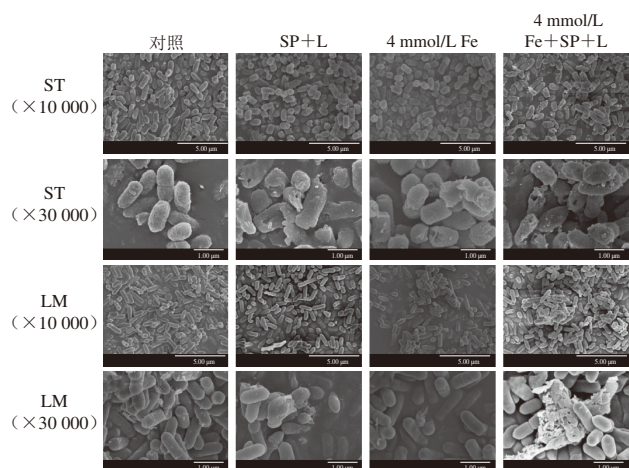


图5 SEM观察不同处理对ST和LM细胞形态的影响

Fig. 5 SEM images showing the effects of different treatments on the morphology of ST and LM

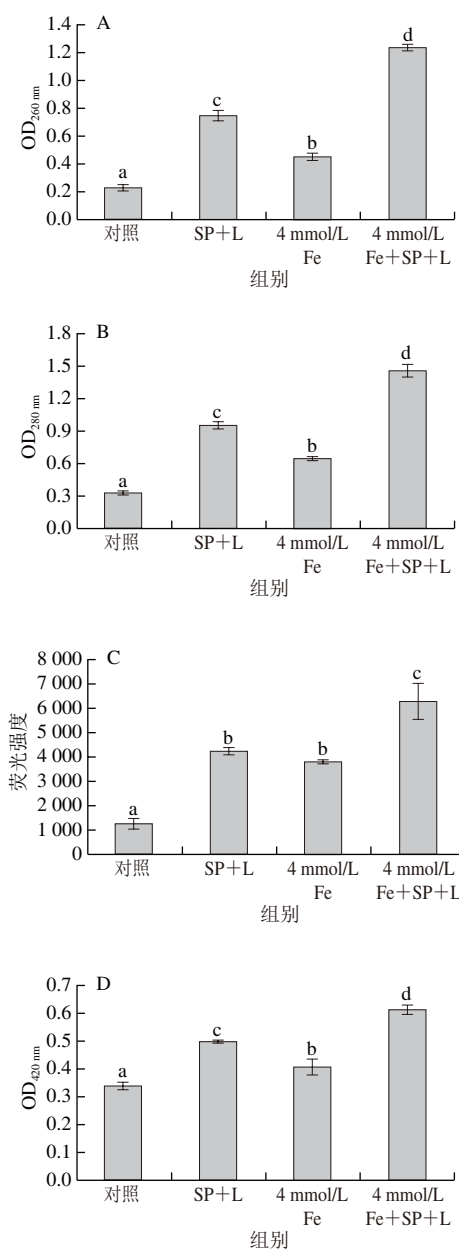
2.3.2 核酸和蛋白含量、外膜通透性、内膜通透性和膜电位

细菌核酸和蛋白的泄漏程度是检测膜完整性的重要指标, $OD_{260\text{ nm}}$ 用于测定核酸的释放量, $OD_{280\text{ nm}}$ 用于测定蛋白的释放量^[41-42]。经对照、SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, ST的 $OD_{260\text{ nm}}$ 值分别为0.23、0.75、0.45和1.24 (图6A), $OD_{280\text{ nm}}$ 值分别为0.33、0.95、0.65和1.46 (图6B), LM的 $OD_{260\text{ nm}}$ 值分别为0.11、0.71、0.41和0.96 (图7A), $OD_{280\text{ nm}}$ 值分别为0.24、0.87、0.55和1.06 (图7B), L结合SP、Fe处理会显著增强ST和LM核酸和蛋白的泄漏 ($P<0.05$), 表明膜的完整性受到严重破坏从而使核酸和蛋白释放到微生物细胞外。这些结果与2.3.1节SEM结果一致, 进一步证明了L结合SP会增强Fe对ST和LM细胞膜的破坏作用。

NPN是一种疏水探针主要检测革兰氏阴性菌外膜的完整性和渗透性, 其检测原理为NPN可以被完整的细胞外膜阻隔无法进入细胞内部, 因此在水中表现出微弱的荧光, 而外膜受一但受到损伤, NPN就会进入细胞膜的磷脂层, 从而导致荧光值显著增加^[43]。如图6C所示, 4 mmol/L Fe+SP+L处理组的ST NPN染色后的荧光强度检测显著高于对照、SP+L、4 mmol/L Fe处理组 ($P<0.05$)。此外, 菌体内膜的渗透状态与外膜的渗透状态有相同的趋势。经对照、SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, ST $OD_{420\text{ nm}}$ 值分别为0.34、0.50、0.41和0.61 (图6D), LM的 $OD_{420\text{ nm}}$ 值分别为0.32、0.74、0.47和0.98 (图7C)。因此, 4 mmol/L Fe+SP+L处理对ST外膜和内膜以及LM内膜的渗透性和完整性影响最显著, 其机制为L结合SP处理会破坏ST外膜和内膜以

及LM内膜, 从而促进Fe更好地进入细胞, 因此4 mmol/L Fe+SP+L处理组对两种菌细胞膜的影响最大。

膜电位对于细菌的膜转运、能量生产和代谢活性至关重要, 膜电位的改变说明细菌正常的生理活动受到影响^[29]。此外, 膜电位的大小用罗丹明123的染色后细菌的荧光强度来表示, 膜电位值的降低是细胞膜去极化的特征。如图6E和图7D所示, 4 mmol/L Fe+SP+L处理后, ST和LM膜电位显著低于SP+L或4 mmol/L Fe处理 ($P<0.05$), 这表明L结合SP会增强Fe对ST和LM细胞膜电位的耗散, 从而导致菌体细胞活力的降低。因此, 膜电位检测与膜渗透性以及核酸和蛋白泄漏的检测结果一致。



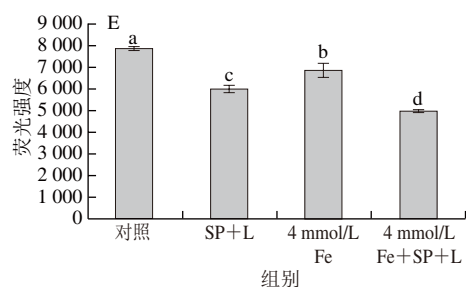


图6 不同处理对ST核酸泄漏(A)、蛋白泄漏(B)、外膜通透性(C)、内膜通透性(D)和膜电位(E)的影响

Fig. 6 Effects of different treatments on nucleic acid leakage (A), protein leakage (B), permeability of outer membrane (C), permeability of inner membrane (D) and membrane potential (E) of ST

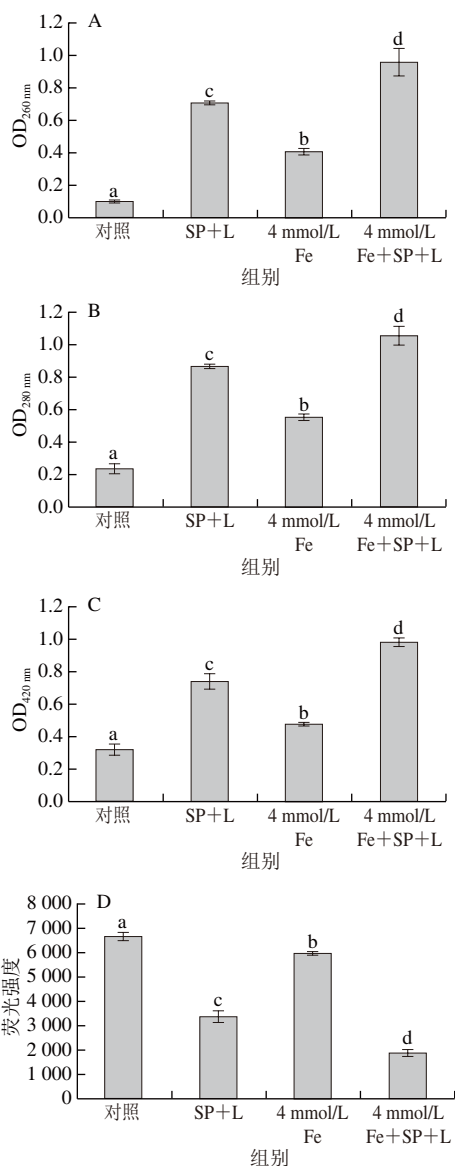


图7 不同处理对LM核酸泄漏(A)、蛋白泄漏(B)、膜通透性(C)和膜电位(D)的影响

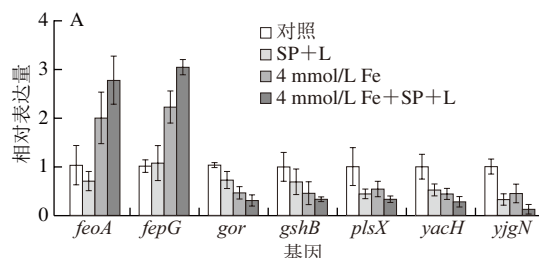
Fig. 7 Effects of different treatments on nucleic acid leakage (A), protein leakage (B), membrane permeability (C), and membrane potential (D) of LM

2.4 不同处理对ST和LM相关基因表达的影响

如图8所示, *feoA*和*fepG*是ST转铁蛋白的基因, SP+L处理对ST的*feoA*和*fepG*表达量没有明显的影响, 而经4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, *feoA*的相对表达量分别为2.01和2.78, *fepG*的相对表达量分别为2.23和3.05。此外, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理对LM转铁蛋白相关基因*lmo2105*的影响与ST相似, SP+L处理没有显著影响LM转铁蛋白相关基因*lmo2105*的表达, 而经4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后*lmo2105*的相对表达量分别为2.06和2.68。这表明4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理会显著上调ST和LM转铁蛋白相关基因, 转铁蛋白基因的提高表明ST和LM细胞中富集了大量的铁离子。同时, SP+L会进一步增强Fe对转铁蛋白相关基因的影响, 促进Fe进入细胞内部。

*gor*和*gshB*是ST GSH还原酶和GSH合成酶相关的基因, 经SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, *gor*的相对表达量分别下调为0.74、0.47和0.31, *gshB*的相对表达量分别下调为0.70、0.46和0.34。同时, *lmo0906*和*lmo1433*是LM GSH还原酶的相关基因, *lmo0983*是LM GSH过氧化物酶相关基因, 经SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, *lmo0906*的相对表达量分别下调为0.84、0.65和0.44, *lmo1433*的相对表达量分别下调为0.84、0.45和0.31, *lmo0983*的相对表达量分别上调为1.09、2.25和3.14。因此, 以上基因的变化可以很好地验证2.2.3节中ST和LM发生铁死亡后GSH/GSSG的变化。

plsX、*yacH*和*yjgN*分别是ST磷脂合成蛋白的基因、外膜蛋白基因和内膜蛋白基因, 经SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, *plsX*的相对表达量分别下调为0.45、0.55和0.34, *yacH*的相对表达量分别下调为0.53、0.45和0.29, *yjgN*的相对表达量分别下调为0.34、0.46和0.13。*lmo0361*和*lmo0460*是LM膜蛋白基因和膜脂蛋白基因, 经SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, *lmo0361*的相对表达量分别下调为0.61、0.95和0.38, *lmo0460*的相对表达量分别下调为0.51、0.52和0.16。膜损伤基因的结果表明, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L均能下调ST和LM细胞膜膜蛋白和膜脂相关的基因, 但4 mmol/L Fe+SP+L处理的下调效果最明显, 说明了L结合SP能增强Fe对菌体细胞膜的损伤。



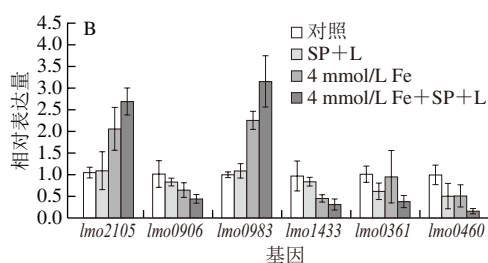
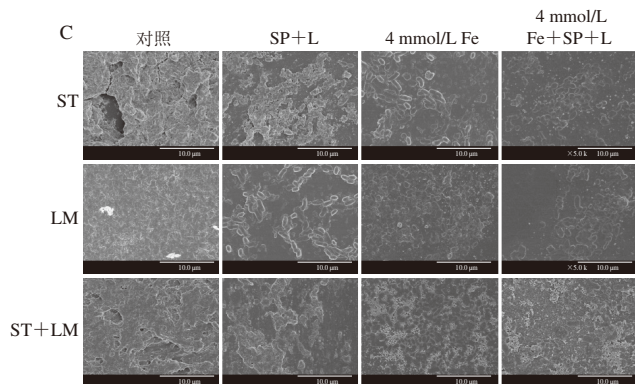
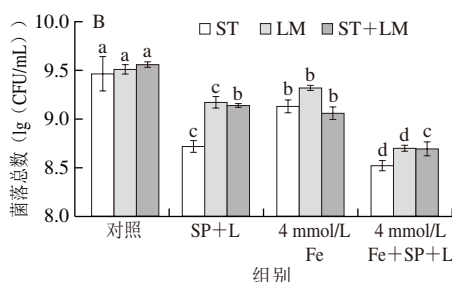
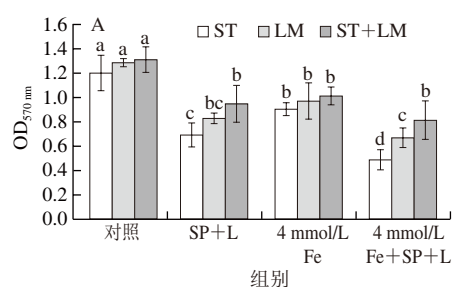


图8 不同处理对ST (A) 和LM (B) 铁死亡和膜损伤相关基因的影响
Fig. 8 Effects of different treatments on ferroptosis- and membrane damage-related genes in ST (A) and LM (B)

2.5 生物被膜抑制和杀菌实验



A.生物被膜结晶紫染色; B.生物被膜菌落计数; C. SEM; 字母不同表示同菌种不同处理方式组之间差异显著 ($P < 0.05$)。图10同。

图9 不同处理对ST和LM生物被膜的抑制效果

Fig. 9 Inhibitory effects of different treatments on ST and LM biofilms

采用结晶紫染色、平板计数和SEM检测不同处理对ST和LM生物被膜的抑制和杀菌效果。如图9所示, 经对照、SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处

理后, ST生物被膜的 $OD_{570\text{ nm}}$ 分别为1.20、0.70、0.91和0.49, LM生物被膜的 $OD_{570\text{ nm}}$ 分别为1.29、0.83、0.97和0.67, ST+LM生物被膜的 $OD_{570\text{ nm}}$ 分别为1.32、0.95、1.02和0.82。同时, 菌落计数的结果显示SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后对ST生物被膜菌数的抑制率分别为82.82%、52.04%和94.54%, 对LM生物被膜菌数的抑制率分别为54.29%、36.73%和92.38%, 对ST+LM生物被膜菌数的抑制率分别为62.26%、68.51%和93.15%。以上结果表明, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理均能有效抑制ST、LM和ST+LM生物被膜的生长, 但4 mmol/L Fe+SP+L处理的抑制效果最强。此外, SEM表明对照组的ST、LM和ST+LM生物被膜三维结构致密, 菌体被较厚的胞外基质包裹, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, 生物被膜的三维结构有了不同程度的疏松。其中, 4 mmol/L Fe+SP+L处理对生物被膜的三维结构疏松程度影响最大, 生物被膜最稀疏, 这表明4 mmol/L Fe+SP+L处理能比SP+L、4 mmol/L Fe更有效地抑制ST、LM和ST+LM生物被膜的生长。这与结晶紫染色和菌落计数的结果一致, 进一步直观验证4 mmol/L Fe+SP+L处理对生物被膜的抑制作用强于SP+L或4 mmol/L Fe处理。

如图10所示, 经对照, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L杀菌处理后, ST生物被膜的 $OD_{570\text{ nm}}$ 分别为2.32、1.52、1.80和1.20, LM生物被膜的 $OD_{570\text{ nm}}$ 分别为2.79、1.49、1.82和1.22, ST+LM生物被膜的 $OD_{570\text{ nm}}$ 分别为2.67、1.68、2.32和1.54。同时, 菌落计数的结果显示SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后对ST生物被膜菌数的杀菌率分别为80.55%、62.40%和99.92%, 对LM生物被膜菌数的杀菌率分别为81.69%、58.04%和99.47%, 对ST+LM生物被膜菌数的杀菌率分别为87.98%、63.36%和97.71%。以上结果表明, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理对ST、LM和ST+LM生物被膜具有一定的杀菌效果, 但4 mmol/L Fe+SP+L处理的杀菌效果最强。此外, SEM表明对照组的ST、LM和ST+LM生物被膜三维结构致密, 且菌体被较厚的胞外基质包裹, SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理后, 生物被膜有了不同程度的疏松。其中, 4 mmol/L Fe+SP+L处理后, ST、LM和ST+LM生物被膜最稀疏, 这表明4 mmol/L Fe+SP+L处理对ST、LM和ST+LM生物被膜具有较强的杀菌效果, 这种杀菌效果强于SP+L、4 mmol/L Fe处理。这与结晶紫染色和菌落计数的结果一致, 进一步直观验证4 mmol/L Fe+SP+L处理对生物被膜的杀菌效果要强于SP+L或4 mmol/L Fe处理。

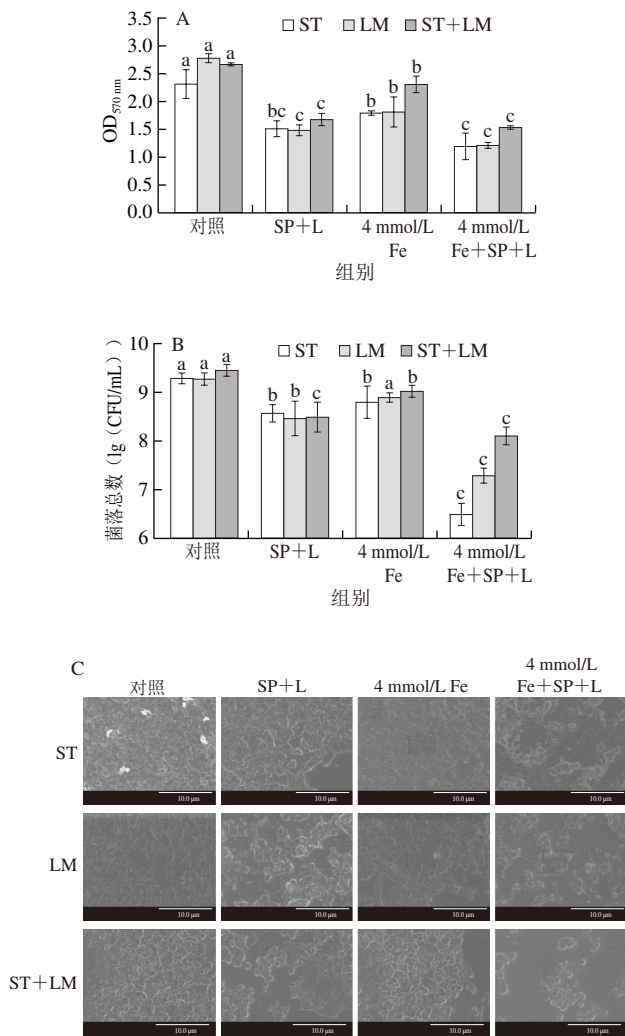


图10 不同处理对ST和LM生物被膜的杀菌效果
Fig. 10 Effects of different treatments on inactivating ST and LM biofilms

2.6 生菜杀菌效果

如图11所示,经SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L杀菌处理后,生菜表面的ST菌数由6.60 (lg (CFU/g))分别显著降低至5.74、5.97 (lg (CFU/g))和4.63 (lg (CFU/g)),生菜表面的LM菌数由6.78 (lg (CFU/g))分别显著降低至5.30、6.21 (lg (CFU/g))和4.60 (lg (CFU/g)) ($P<0.05$)。这表明,所有处理对生菜表面ST和LM均有一定的杀菌效果,但4 mmol/L Fe+SP+L的杀菌效果比SP+L、4 mmol/L Fe杀菌效果显著。这与SP+L、4 mmol/L Fe和4 mmol/L Fe+SP+L处理对ST和LM游离菌体和生物被膜细胞的杀菌效果一致,SP+L处理能显著提高Fe对ST和LM杀菌效果,这主要归因于SP+L处理下会产生大量的ROS,ROS会损伤细胞膜,这会促进Fe进入细胞,增强Fe的杀菌效果^[14]。

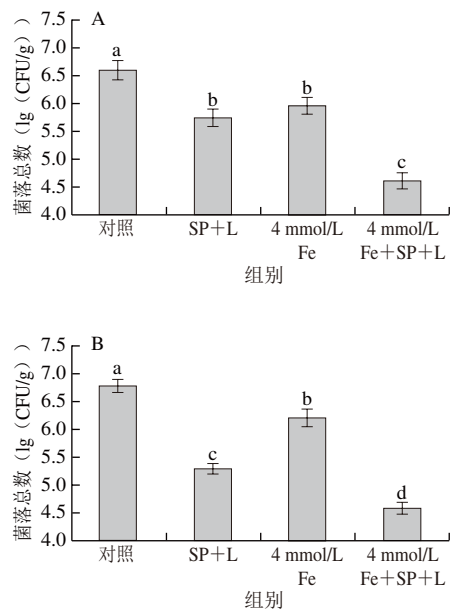


图11 不同处理对生菜上ST (A)和LM (B)的杀菌效果
Fig. 11 Effects of different treatments on inactivating ST (A) and LM (B) on lettuce

3 结论

研究FeSO₄对ST和LM铁死亡发生的诱导作用,并以SP作为天然的光敏剂,探讨SP、Fe、L对ST和LM联合杀菌的机理。结果发现,4 mmol/L Fe+SP+L对ST和LM杀菌效果要强于SP+L、4 mmol/L Fe杀菌效果,且4 mmol/L Fe+SP+L会增强Fe对ST和LM铁死亡发生的诱导作用,ST和LM的脂质过氧化和ROS的含量显著提高;4 mmol/L Fe+SP+L会增强Fe对ST和LM的膜损伤作用,这主要归因于SP+L处理下会产生大量的ROS,ROS会损伤细胞膜,这会促进Fe进入微生物细胞内部,从而提高Fe对ST和LM铁死亡发生的诱导作用,增大对微生物的膜损伤效果。此外,结晶紫染色结果和菌落计数结果表明4 mmol/L Fe+SP+L处理对ST和LM生物被膜的控制效果强于SP+L、4 mmol/L Fe。同时,4 mmol/L Fe+SP+L对生菜表面ST和LM杀菌效果强于SP+L、4 mmol/L Fe,这与游离菌体的杀菌效果一致。因此,SP+Fe+L处理对以ST和LM为代表的食源性致病菌具有显著的抗菌性能,同时可以显著降低生菜表面ST和LM的数量。该技术可为以藻类作为天然抗菌光敏剂的杀菌体系的推广应用提供指导,同时该技术操作简单、杀菌效果显著,可为后续此技术应用于果蔬类、禽蛋类、贝类等食品表面食源性致病菌的控制提供一定的理论支持,具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] WEERASOORIYA G, KHAN S, CHOUSALKAR K K, et al. Invasive potential of sub-lethally injured *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* Typhimurium during storage in chicken meat juice[J]. Food Control, 2022, 135: 108823. DOI:10.1016/j.foodcont.2022.108823.
- [2] LI H, ADDO K A, YU Y G, et al. Effects of cuminaldehyde combined with mild heat against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in powdered infant formula[J]. Food Control, 2023, 148: 109663. DOI:10.1016/j.foodcont.2023.109663.
- [3] LOKERSE R F A, MASLOWSKA-CORKER K A, VAN DE WARDT L C, et al. Growth capacity of *Listeria monocytogenes* in ingredients of ready-to-eat salads[J]. Food Control, 2016, 60: 338-345. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.07.041.
- [4] SHEN Q, PANDARE P, SONI K A, et al. Influence of temperature on alkali stress adaptation in *Listeria monocytogenes*[J]. Food Control, 2016, 62: 74-80. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.10.005.
- [5] CUI H Y, LI H, ABDEL-SAMIE M A, et al. Anti-*Listeria monocytogenes* biofilm mechanism of cold nitrogen plasma[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 67: 102571. DOI:10.1016/j.ifset.2020.102571.
- [6] WANG S, MIRMIRAN S D, LI X M, et al. Temperate phage influence virulence and biofilm-forming of *Salmonella* Typhimurium and enhance the ability to contaminate food product[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 398: 110223. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110223.
- [7] 胡越, 陈倩, 刘蓓, 等. 冷等离子体对微生物生物膜抑制作用的研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(11): 271-277. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200415-203.
- [8] SUN J Y, SHEN Q J, PAN J N, et al. Ferrous sulfate combined with ultrasound emulsified cinnamaldehyde nanoemulsion to cause ferroptosis in *Escherichia coli* O157:H7[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 106: 106884. DOI:10.1016/j.ultsonch.2024.106884.
- [9] 高晴, 刘培红, 冉苒, 等. 微酸性电解水-超声波并行联合处理对鲜切生菜表面大肠杆菌杀菌效果的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(11): 210-216. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230701-004.
- [10] KYERE E O, QIU G W, MD ZAIN S N, et al. A comparison of *Listeria monocytogenes* contamination in bagged and un-bagged lettuce in supermarkets[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 134: 110022. DOI:10.1016/j.lwt.2020.110022.
- [11] SONG H J, KU K M. Optimization of allyl isothiocyanate sanitizing concentration for inactivation of *Salmonella* Typhimurium on lettuce based on its phenotypic and metabolome changes[J]. Food Chemistry, 2021, 364: 130438. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130438.
- [12] LAFARGA T, FERNÁNDEZ-SEVILLA J M, GONZÁLEZ-LÓPEZ C, et al. *Spirulina* for the food and functional food industries[J]. Food Research International, 2020, 137: 109356. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109356.
- [13] NAKAMOTO M M, ASSIS M, DE OLIVEIRA FILHO J G, et al. *Spirulina* application in food packaging: gaps of knowledge and future trends[J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 133: 138-147. DOI:10.1016/j.tifs.2023.02.001.
- [14] GANESH A B, MANOHARAN P T, SURAISHKUMAR G K. Responses of the photosynthetic machinery of *Spirulina maxima* to induced reactive oxygen species[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2007, 96(6): 1191-1198. DOI:10.1002/bit.21217.
- [15] HOU D Y, CHENG D B, ZHANG N Y, et al. *In vivo* assembly enhanced binding effect augments tumor specific ferroptosis therapy[J]. Nature Communications, 2024, 15(1): 454. DOI:10.1038/s41467-023-44665-2.
- [16] ZHANG L, SONG A, YANG Q C, et al. Integration of AIEgens into covalent organic frameworks for pyroptosis and ferroptosis primed cancer immunotherapy[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 5355. DOI:10.1038/s41467-023-41121-z.
- [17] DANGOL S, CHEN Y F, HWANG B K, et al. Iron- and reactive oxygen species-dependent ferroptotic cell death in rice-*Magnaporthe oryzae* interactions[J]. The Plant Cell, 2019, 31(1): 189-209. DOI:10.1105/tpc.18.00535.
- [18] SHEN X Y, MA R N, HUANG Y X, et al. Nano-decocted ferrous polysulfide coordinates ferroptosis-like death in bacteria for anti-infection therapy[J]. Nano Today, 2020, 35: 100981. DOI:10.1016/j.nantod.2020.100981.
- [19] MO H Z, ZHANG T, ZHANG J Y, et al. Ferrous sulphate triggers ferroptosis in *Candida albicans* and cures vulvovaginal candidiasis in a mouse model[J]. Microbiological Research, 2024, 283: 127704. DOI:10.1016/j.micres.2024.127704.
- [20] SURYANI L D, RAHARJO S B, SAGITA R, et al. Oral ferrous sulphate improves functional capacity on heart failure patients with iron deficiency *Anemia*[J]. Global Heart, 2022, 17(1): 81. DOI:10.5334/gh.1151.
- [21] 方太松. 损伤与修复条件对单增李斯特菌生长延滞期的影响及机制研究[D]. 上海: 上海理工大学, 2021. DOI:10.27308/d.cnki.gslgu.2021.000051.
- [22] 王洋, 赵瑜玲, 陈孟涵, 等. 姜黄素联合乙二胺四乙酸对荧光假单胞菌的光动力灭活作用[J]. 食品科学, 2022, 43(21): 8-15. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211127-335.
- [23] WANG Z, LI H B, ZHOU W, et al. Ferrous sulfate-loaded hydrogel cures *Staphylococcus aureus* infection via facilitating a ferroptosis-like bacterial cell death in a mouse keratitis model[J]. Biomaterials, 2022, 290: 121842. DOI:10.1016/j.biomaterials.2022.121842.
- [24] GAO J L, LUO T, WANG J K. Gene interfered-ferroptosis therapy for cancers[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 5311. DOI:10.1038/s41467-021-25632-1.
- [25] 任俊和, 曾平, 陈思睿, 等. 抗菌肽zp37抑制果汁中单核细胞增生李斯特菌的活性及其作用机制[J]. 食品科学, 2023, 44(5): 29-37. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220226-231.
- [26] SUN J Y, WANG D B, ZHANG J J, et al. Antibacterial and antibiofilm effect of ultrasound and mild heat against a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from meat of yellow-feathered chicken[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2022, 19(1): 70-79. DOI:10.1089/fpd.2021.0025.
- [27] QIN X J, DONG R, HE S K, et al. Characterization of the role of *ybgC* in lysozyme resistance of *Salmonella* Enteritidis[J]. Food Control, 2020, 109: 106732. DOI:10.1016/j.foodcont.2019.106732.
- [28] HE Q, LIU D H, ASHOKKUMAR M, et al. Antibacterial mechanism of ultrasound against *Escherichia coli*: alterations in membrane microstructures and properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 73: 105509. DOI:10.1016/j.ultsonch.2021.105509.
- [29] HE Q, ZHANG L J, SONG L Y, et al. Inactivation of *Staphylococcus aureus* using ultrasound in combination with thyme essential oil nanoemulsions and its synergistic mechanism[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 147: 111574. DOI:10.1016/j.lwt.2021.111574.
- [30] SUN J Y, NIE L J, XIE W Y, et al. Potentiation effect of the AI-2 signaling molecule on postharvest disease control of pear and loquat by *Bacillus amyloliquefaciens* and its mechanism[J]. Food Chemistry, 2024, 441: 138373. DOI:10.1016/j.foodchem.2024.138373.

- [31] LIU J X, ZHU W X, QIN N B, et al. Propionate and butyrate inhibit biofilm formation of *Salmonella* Typhimurium grown in laboratory media and food models[J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3493. DOI:10.3390/foods11213493.
- [32] QIAO Z, ZHANG L S, WANG X, et al. Antibiofilm effects of bacteriocin BMP32r on *Listeria monocytogenes*[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2022, 14(6): 1067-1076. DOI:10.1007/s12602-021-09863-8.
- [33] 吴丽娜, 刘均阁, 张一敏, 等. 乳酸和过氧乙酸对大肠杆菌O157:H7生物膜的抑制作用及其机制[J]. *食品科学*, 2022, 43(9): 10-18. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210406-073.
- [34] 王丽红, 杨辉, 苏文, 等. 植物乳杆菌LP21绿色合成纳米硒及对溶藻弧菌的抑菌活性[J]. *食品科学*, 2022, 43(2): 217-223. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210104-026.
- [35] 张莲娇. 超声与百里香油纳米乳液协同杀菌机制及其初步应用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2021. DOI:10.27461/d.cnki.gzjdx.2021.001460.
- [36] HU H Q, ZHONG D N, LI W L, et al. Microalgae-based bioactive hydrogel loaded with quorum sensing inhibitor promotes infected wound healing[J]. *Nano Today*, 2022, 42: 101368. DOI:10.1016/j.nantod.2021.101368.
- [37] YAO L S, BAN F F, PENG S R, et al. Exogenous iron induces NADPH oxidases-dependent ferroptosis in the conidia of *Aspergillus flavus*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(45): 13608-13617. DOI:10.1021/acs.jafc.1c04411.
- [38] NIE T T, ZOU W J, MENG Z Y, et al. Bioactive iridium nanoclusters with glutathione depletion ability for enhanced sonodynamic-triggered ferroptosis-like cancer cell death[J]. *Advanced Materials*, 2022, 34(45): e2206286. DOI:10.1002/adma.202206286.
- [39] HU H Q, HUA S Y, LIN X H, et al. Hybrid biomimetic membrane coated particles-mediated bacterial ferroptosis for acute MRSA pneumonia[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(12): 11692-11712. DOI:10.1021/acsnano.3c02365.
- [40] SUN B H, WANG X Y, YE Z Q, et al. Designing single-atom active sites on sp²-carbon linked covalent organic frameworks to induce bacterial ferroptosis-like for robust anti-infection therapy[J]. *Advanced Science*, 2023, 10(13): e2207507. DOI:10.1002/advs.202207507.
- [41] 张鹏敏, 王文秀, 孙剑锋, 等. 壳聚糖/姜黄素光动力复合涂膜对金黄色葡萄球菌的抑菌效果及机理[J]. *食品科学*, 2024, 45(6): 233-243. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230429-284.
- [42] 孙晋跃, 张衡, 张娇娇, 等. 超声联合乳酸处理对沙门氏菌游离及生物膜菌体的杀菌作用[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(10): 270-278. DOI:10.16429/j.1009-7848.2022.10.029.
- [43] MELLEGÅRD H, STRAND S P, CHRISTENSEN B E, et al. Antibacterial activity of chemically defined chitosans: influence of molecular weight, degree of acetylation and test organism[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 148(1): 48-54. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.023.