



王月霞,陈欣芸,唐梦璇,等.葡萄柚精油协同紫外线灭活果蔬表面诺如病毒和大肠杆菌的研究[J].江西农业大学学报,2023,45(6):1397-1408.

WANG Y X, CHEN X Y, TANG M X, et al. Study on elimination of norovirus and *E. coli* on fruits and vegetables by grapefruit essential oil combined with UV radiation[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2023, 45(6): 1397-1408.

葡萄柚精油协同紫外线灭活果蔬表面 诺如病毒和大肠杆菌的研究

王月霞¹, 陈欣芸², 唐梦璇², 杨鹏飞², 廖宁波^{2*}

(1. 浙江中医药大学 中医药科学院, 浙江 杭州 310053; 2. 江西农业大学 食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045)

摘要:【目的】果蔬中大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7) 和诺如病毒 (norovirus) 常导致食源性疾病暴发。紫外照射 (UV-C) 是灭活病原微生物的常用手段, 但由于果蔬表面的特殊构造, UV-C 对微生物的灭活效果受到一定的限制, 同时也影响食品的颜色、质地和组织稳定性。葡萄柚精油 (GEO) 具有较强的抗菌和抗病毒活性且使用安全, 但单独使用成本太高。试验旨在探究 GEO 协同 UV-C 作用对果蔬表面病原微生物的灭活效果, 为提升食源性疾病暴发的防控技术提供科学依据。【方法】使用特定浓度的大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7) (6.07×10^8 CFU/mL), 鼠诺如病毒 (MNV-1) (5.29×10^5 PFU/mL) 和杜兰病毒 (TV) (5.67×10^5 PFU/mL) 在无菌环境下人工污染樱桃番茄、生菜和蓝莓表面, 利用不同质量浓度 GEO (1.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0 mg/mL) 和不同照射剂量 UV-C (20, 40, 60, 80, 100, 200 mJ/cm²) 协同处理樱桃番茄、生菜和蓝莓表面的病原体, 分析 GEO 与 UV-C 对病原体的协同灭活功效及其机理, 并评估该灭活方法对果蔬组织损伤的影响。【结果】观察到 UV-C 的照射剂量 80, 100, 200 mJ/cm² 对 3 种病原体均具有显著的灭活作用, GEO 的抗病毒作用具有剂量和时间相关性。在 8 mg/mL GEO 处理 12 min 后再与 UV-C (100 mJ/cm²) 协同作用下 3 种病原体的含量显著减少 ($2.42 \log_{10} \sim 3.22 \log_{10}$, $P=0.017 \sim 0.029$)。采用同样的协同方式处理樱桃番茄、生菜和蓝莓表面的病原体, 发现同样具有显著的灭活效果 ($1.9 \log_{10} \sim 3.68 \log_{10}$, $P=0.012 \sim 0.035$)。透射电子显微镜结果表明, GEO 引起病毒衣壳蛋白变性, 这解释了 GEO 的抗病毒作用及其在紫外线照射下的增强作用。最后, 果蔬质构分析和感官评价表明, GEO 的添加对测试食品的味道和品质影响较小。【结论】GEO 协同 UV-C 处理是一种高效灭活果蔬表面病原体的方法, 同时对测试产品的品质影响较小, 将为食源性疾病预防提供新的技术支持。

关键词: 葡萄柚精油; 紫外线灭活; 果蔬; 大肠杆菌 O157:H7; 鼠诺如病毒; 杜兰病毒

中图分类号: TS255.36 文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

文章编号: 1000-2286(2023)06-1397-12



Study on Elimination of Norovirus and *E. coli* on Fruits and Vegetables by Grapefruit Essential Oil Combined with UV Radiation

WANG Yuexia¹, CHEN Xinyun², TANG Mengxuan²,
YANG Pengfei², LIAO Ningbo^{2*}

收稿日期: 2023-08-29 修回日期: 2023-09-26

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目 (20212ACB215005)

Project supported by the National Natural Science Foundation of Jiangxi (20212ACB215005)

作者简介: 王月霞, 工程师, 硕士, orcid.org/0009-0006-0732-2557, wangyuexia2023@163.com; *通信作者: 廖宁波, 副教授, 博士, 主要从事食品微生物污染与控制研究, orcid.org/0000-0003-1914-2319, liaoningbo2010@126.com。

(1. Academy of Chinese Medical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: [Objective] *Escherichia coli* O157:H7 and norovirus in fruits and vegetables often cause outbreaks of foodborne illness. Ultraviolet irradiation (UV-C) is a commonly used method to inactivate pathogenic microorganisms. Due to the unique structure of fruit and vegetable surfaces, the effectiveness of UV-C in microbial inactivation is limited, and it also affects the color, texture, and tissue stability of foods. Grapefruit essential oil (GEO) has strong antibacterial and antiviral activities and is safe to use, but the cost of using it alone is high. In order to improve the disinfection efficiency of UV-C while reducing tissue damage to fruits and vegetables, this study aims to analyze the combined effect of GEO and UV-C on the inactivation of surface pathogens on fruits and vegetables. [Method] *Escherichia coli* O157:H7, mouse norovirus (MNV-1), and tulane virus (TV) were artificially contaminated at a certain concentration on the surface of cherry tomatoes, lettuce, and blueberries in a sterile environment. Different concentrations of GEO (1.0 mg/mL, 4.0 mg/mL, 8.0 mg/mL, 16.0 mg/mL, 32.0 mg/mL and 64.0 mg/mL) and different doses of UV-C (20 mJ/cm², 40 mJ/cm², 60 mJ/cm², 80 mJ/cm², 100 mJ/cm², and 200 mJ/cm²) were used to co-treat the pathogens on the surface of cherry tomatoes, lettuce, and blueberries. The synergistic inactivation efficacy and mechanism of GEO and UV-C on pathogens were analyzed, and the impact of this inactivation method on fruit and vegetable tissue damage was evaluated. [Result] It was observed that UV-C doses of 80, 100, and 200 mJ/cm² had significant inactivation effects on the three pathogens, and the antipathogenic effect of GEO was dose- and time-dependent. After treatment with 8.0 mg/mL GEO for 10 minutes followed by UV-C (100 mJ/cm²) co-treatment, the levels of the three pathogens were significantly decreased (2.42 log₁₀–3.22 log₁₀ [CFU or PFU]/mL, $P=0.017-0.029$). Adopting the same co-treatment method on cherry tomatoes, lettuce and blueberries, significant inactivation effects were also observed (1.9 log₁₀–3.68 log₁₀ [CFU or PFU]/mL, $P=0.012-0.035$). The results of transmission electron microscopy showed that GEO caused denaturation of the viral capsid protein, which explained the anti-pathogenic effect of GEO and its enhancement under UV irradiation. Finally, textural analysis and sensory evaluation of fruits and vegetables indicated that the addition of GEO had minimal effect on the taste and quality of the tested foods. [Conclusion] This study provides a rapid and effective method to inactivate foodborne pathogens on fruits and vegetables while minimizing the impact on the taste and quality of the tested products. It will provide new technical support for the prevention and control of foodborne diseases.

Keywords: grapefruit essential oil; UV inactivation; fruits and vegetables; *Escherichia coli* O157:H7; mouse norovirus; Tulane virus

【研究意义】大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7) 是一种食源性致病菌, 可引起出血性肠炎和溶血性尿毒症综合征, 由其引起的疫情可导致严重的全球性公共卫生问题。人类诺如病毒 (human norovirus, HuNoV) 是一种主要的食源性病毒, 导致大多数非细菌性胃肠炎暴发, 其特点是低剂量感染和高传染性, 对人类健康构成威胁。由于缺乏有效的体外培养系统, 评估抗 HuNoV 药物效果的研究必须使用可培养的 HuNoV 替代物进行, 例如鼠诺如病毒-1 (mouse norovirus-1, MNV-1) 和杜兰病毒 (tulane virus, TV)。生鲜果蔬是人们日常生活中重要的食物来源。近年来, 随着人们生活水平、健康意识的提高, 生鲜果蔬逐渐成为大众饮食的日常。然而, 越来越多的研究表明, 生鲜农产品消费与食源性疾病暴发密切相关, 并有研究人员在樱桃番茄、生菜和蓝莓中检出大肠杆菌 O157:H7 和诺如病毒, 对生鲜农产品的消费带来了一定的安全隐患^[1-3]。Choi 等^[4]报道, 新鲜农产品, 如浆果、生菜、其他叶类蔬菜和西红柿, 受到大肠杆菌 O157:H7 和 HuNoV 污染的风险很高。因此, 有必要在生鲜果蔬食源性疾病防控中开发高效的消杀技术。紫外线 (UV-C) 是对应于 200~280 nm 的紫外线辐射, 可用于病原微生物的消杀, 由于该技术不依赖与特定的化学试剂, 并且广谱灭菌效率很高, 近年来变得越来越流行。UV-C 作为一种安全、有效、无残留的灭菌方法, 可用于水果和蔬菜的采后保鲜和处理。目前, 这种非热技术已被批准用于食品表面处

理。美国已将这种UV-C技术应用于苹果的保鲜,德国已将其用于大麦白粉病的防治。然而,仅通过UV-C灭活食品中的病原体需要高照射强度和持续时间,这两者都会通过引起颜色和质地变化以及增加脂质氧化而对食品质量产生负面影响^[5]。因此,如何提升UV-C对食品表面的消杀效率,同时减少对食品品质的影响至关重要。【前人研究进展】植物天然提取成分可抑制水果、蔬菜和冷藏食品中有害微生物的生长,有效防止腐败、保存营养成分并延长食品的保质期^[6-8]。含有类黄酮、多糖和多酚的植物提取物(例如石榴提取物和葡萄籽提取物)可降低饮料中HuNoV和大肠杆菌的感染性^[9]。植物精油(EO)与UV-C结合也被广泛运用于生鲜农产品的消毒和保鲜。如,肉桂皮EO乳液(0.02%)与UV-C(1.2 kJ/m², 2 min)结合处理可将鲜切红甜菜中的鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)和单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)的数量分别降低1.40 log₁₀ CFU/g和1.29 log₁₀ CFU/g。然而,单独使用EO可使鼠伤寒沙门氏菌减少0.38 log₁₀~0.55 log₁₀ CFU/g,使单增李斯特菌减少0.27 log₁₀~0.31 log₁₀ CFU/g;同样单独使用UV-C可使两者微生物数量分别减少0.4 log₁₀ CFU/g和0.6 log₁₀ CFU/g。因此,EO和UV-C发挥了相加效应。此外,感官评价结果表明,联合处理对产品质量没有影响^[10]。葡萄柚(*Citrus paradisi* Macf.)是芸香科的一种,因其宜人的味道而被广泛食用。通过水蒸气蒸馏从柚子皮中获得的挥发性成分构成柚子精油(GEO),其中含有单萜、倍半萜、醇、醛、酮、酯和其他含氧化合物,并具有独特的香气^[11]。植物精油因其安全性、经济性和环境友好性而被广泛用于食品储存和保鲜。尽管葡萄柚皮通常被丢弃,但对其精油的研究却很少。此外,目前对GEO的研究主要集中在其抗菌活性^[12],而不是其抗病毒活性。因此,对GEO的进一步研究可能会发现一种用于食品储存和保鲜的新型环保抗病毒复合物。

【本研究切入点】综合以上研究,UV-C和植物天然提取EO的协同使用可能是一种可行的替代方案,以减少植物提取EO的有效剂量和UV-C的功率,从而促进更有效地灭活微生物,同时将消毒灭活过程对食品质量的影响降至最低。【拟解决的关键问题】本研究拟评估GEO单独处理以及与UV-C协同处理对樱桃番茄、生菜和蓝莓上大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV的抗菌和抗病毒的功效,并探究通过冷压提取GEO的成分及其潜在的抗病原机制,以及评价新鲜农产品的味道和质量,从而为食品工业引入了一种新的策略来灭活水果和蔬菜中的食源性致病微生物提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌株与培养

大肠杆菌O157:H7(9490)和鼠诺如病毒MNV-1购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC),杜兰病毒TV由美国农业部农业研究局西部地区研究中心提供。试验中病原体处理依据2006年国家环境保护总局令第32号公布的《病原微生物实验室生物安全环境管理办法》实施。

大肠杆菌O157:H7采用平板划线法在LB固体培养基上培养;挑取单菌落加入LB液体培养基中。将菌落在摇床上于37℃、180 r/min下培养8 h后。取150 μL细菌溶液转移至5 mL LB液体培养基中继续培养1.2 h,此时OD₆₀₀=0.5。菌液浓度调整为1×10⁸ CFU/mL。

MNV-1和TV分别在RAW264.7(ATCC TIB-71)和LLC-MK2(ATCC®CCL-7™)细胞中增殖。将含有DMEM或MEM的24孔组织培养板中的RAW264.7和LLC-MK2细胞在CO₂培养箱中生长,直至细胞密度达到80%~90%。每孔除去生长培养基,每孔接种200 μL MNV-1或TV,37℃培养2 h。每孔用DMEM或MEM冲洗两次以去除未结合的病毒,并添加500 μL新鲜DMEM或MEM。接种后,将细胞在CO₂培养箱中培养3 d。将感染的细胞裂解物以1 000 r/min离心10 min,以获得纯化的储备液。将溶液通过0.22 μm过滤器,得到纯病毒液。噬斑形成单位(plaque forming unit, PFU)用于量化TV和MNV-1。

1.2 试验方法

1.2.1 葡萄柚精油(GEO)的制备 参考Jin等^[13]的研究方法,本研究中葡萄柚(*Citrus×aurantium* Linnaeus)购自浙江省衢州市,葡萄柚经超声波冲样机(美国Gatan公司)冲洗后,使用Thomas-Willey研磨机(3383L70,广州德润仪器科技有限公司)磨碎,试验中采用冷压法从柚子皮中提取精油。将新鲜柚子皮称量,沥干,切成2.5~5.0 mm长片,放在压榨机上。过滤油水混合物并在4℃下以15 480 r/min离心20 min。收集上层澄清透明的黄色油状物,精油收率78.6%,4℃保存备用。

1.2.2 GEO化学成分鉴定 气相色谱仪连接6000型二极管阵列检测器(DAD)(北京京科瑞达科技有限公司)和J&W DB-5石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。加热流程为40℃,5 min和250℃,5 min。温度以3℃/min从40℃升至250℃。载气为高纯氮气(99.999%),流速0.8 mL/min,进样温度250℃,进样量1 μL。对于MS,离子源为EI,电离能为70 eV,质量扫描范围为40~650 m/z,离子阱温度为150℃,管温度为40℃,传输线温度为280℃。

1.2.3 GEO的灭活病原体试验 DMSO和水按体积1:1混合,并将1 mL GEO转移至含有DMSO/水的离心管中。将GEO稀释至质量浓度0.1%、0.4%、0.8%、1.6%、3.2%、6.4%、10.0%和100.0%,以达到2.5% DMSO的最终浓度,并储存在4℃下。对照组由不含GEO的质量浓度2.5% DMSO溶液组成。对于剂量反应研究,GEO(质量浓度100%)通过0.22 μm过滤器并参照以上方法无菌稀释,其对应的浓度分别为1.0,4.0,8.0,16.0,32.0,64.0 mg/mL。在生物安全柜(BSC-1600IB2,苏州安泰空气技术有限公司)中将100 μL GEO与100 μL大肠杆菌O157:H7、MNV-1或TV混合(分别为 6.07×10^8 CFU/mL、 5.29×10^5 PFU/mL和 5.67×10^5 PFU/mL),短暂涡旋,并在室温下孵育10 min,同时在培养箱中以300 r/min的速度振荡。使用与质量浓度2.5% DMSO混合的大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV作为对照。对于时间相关性研究,将100 μL GEO与100 μL大肠杆菌O157:H7、MNV-1或TV(6.07×10^8 CFU/mL、 5.29×10^5 PFU/mL和 5.67×10^5 PFU/mL),通过涡旋振荡并在室温下孵育0,2,4,6,8,10,12,14 min。使用与质量浓度2.5% DMSO混合的大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV作为未处理的对照。MNV-1和TV用补充有10%胎牛血清(FBS)的细胞培养基(DMEM或MEM)处理终止反应。为了防止细胞毒性,通过离心超滤(30 ku, Millipore, 德国)去除病情处理液中的GEO,并对LLC-MK2或RAW 264.7细胞进行细胞培养(细胞培养箱型号:1384-M,美国赛默飞Thermo公司)测定来测量病毒噬斑形成单位(PFU)。使用以下公式计算细菌和病毒的减少量:

$$R=C1-C2 \quad (1)$$

式中R代表减少量,C1是对照组的浓度,C2是试验组的浓度。

1.2.4 GEO协同UV-C灭活的剂量相关试验 将100 μL GEO与100 μL大肠杆菌O157:H7、MNV-1或TV(分别为 6.07×10^8 CFU/mL、 5.29×10^5 PFU/mL和 5.67×10^5 PFU/mL)混合涡旋振荡。在室温下孵育12 min后,将混合物暴露于254 nm处不同剂量(20,40,60,80,100,200 mJ/cm²)的UV-C下处理(L35-60W-01紫外线辐照灯,深圳林上科技有限公司)。对照组仅采用UV-C处理。

1.2.5 联合灭活大肠杆菌O157:H7和诺如病毒在果蔬上的应用 购自江西农业大学农贸市场的樱桃番茄(*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* A.Gray)、生菜(*Lactuca sativa* var. *ramosa* Hort.)和蓝莓(*Vaccinium* spp.)经过6%含氯消毒剂EASONTAY(青岛亿生泰环保能源科技有限公司)浸泡10 min去除表面微生物并在4℃下储存。称重10 g樱桃番茄、生菜和蓝莓。将每种病原体(大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV)各100 μL均匀接种在3个新鲜农产品样品的表面。大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV的总接种量分别为 6.07×10^8 CFU/mL、 5.29×10^5 PFU/mL和 5.67×10^5 PFU/mL。将接种病原体的食品样品置于通风橱风口处,直至病毒液完全风干。将100 μL(8 mg/mL)GEO涂在已接种细菌或病毒的食品切片上。将樱桃番茄、生菜和蓝莓孵育12 min,然后暴露在100 mJ/cm²的UV-C下。处理后,根据EN ISO 16654:2001^[14]和EN ISO 15216-1:2017^[15]方法,进行细菌和病毒检测。为了回收和计数大肠杆菌O157:H7,将样品在含有40 mL Dey-Engley(D/E)缓冲液和肉汤(Difco)的无菌滤袋中以260 r/min均质化2 min。然后将匀浆在无菌0.1%蛋白胨水中连续稀释,并接种到添加有0.6%酵母提取物和50 μg/mL萘啶酸(Difco;TSAYE-N)的TSA上。35℃孵育72 h后,对大肠杆菌O157:H7菌落进行计数。为了提取MNV-1或TV,将产品样品转移至含有10 mL蔬菜提取缓冲液和50 μL果胶酶的50 mL离心管中。为了从果蔬中释放病毒,每个管在MIX-28S Touch Fairy涡旋仪(杭州米欧仪器有限公司)上以2 500 r/min剧烈摇动5次,每次10 s。然后将液体组分在4℃下以3 000 r/min离心10 min,并将上清液在DMEM或MEM(Gibco,赛默飞世尔科技公司)中连续稀释后进行定量。对照组仅采用UV-C处理。

1.2.6 GEO和UV-C处理后的水果和蔬菜的品质分析 使用色度计(CS-826,杭州彩谱科技有限公司)和品质构仪(TA-3000,济南赛成电子科技有限公司)测量樱桃番茄、生菜和蓝莓的表面颜色和质地。使用L*、a*和b*测量颜色变化,其中L*、a*和b*分别代表亮度、红/绿和黄/蓝。在食品表面的3个点处测

量 L^* 、 a^* 和 b^* 的值,并计算平均值。使用质地计测量食物的硬度和弹性。该值越高,食品的硬度和弹性越高^[15]。感官分析用于确定 8 mg/mL GEO 与 100 mJ/cm² UV-C 结合是否会改变水果和蔬菜的感官特性。本试验招募了 30 名熟悉感官评价程序的学生(20~30 岁)。根据颜色、气味、组织、味道、风味和总体可接受性进行感官评价。1 到 9 的等级用于表示“非常厌恶”“有些厌恶”“中等厌恶”“有些不喜欢”“既不喜欢也不不喜欢”“一般喜欢”“有点喜欢”“一般喜欢”“非常喜欢”^[17]。

1.2.7 透射电子显微镜(TEM)成像分析 将用质量浓度 0.8% GEO 处理的 MNV-1(3 μ L)在碳涂层 EM 网格上稀释 10 倍,并用 3 μ L 醋酸双氧铀水溶液(体积分数 3%)染色 1 min。干燥后,在 JEOL-1400 电子显微镜[捷欧路(北京)科贸有限公司]下在 80 kV 下检查样品。使用 Gatan UltraScan 1000XP 相机以 40 000 倍的倍率拍摄图像^[18]。

1.3 数据分析

采用 SPSS 10.0 软件进行数据分析,以平均值 $\pm$ 标准差表示,采用非配对 t 检验比较两组的平均值。对于两组以上的多重比较,采用单因素方差分析和 Fisher 最小显著性差异检验得出差异。 $P<0.05$,表明差异显著。

2 结果与分析

2.1 GEO 的化学成分分析

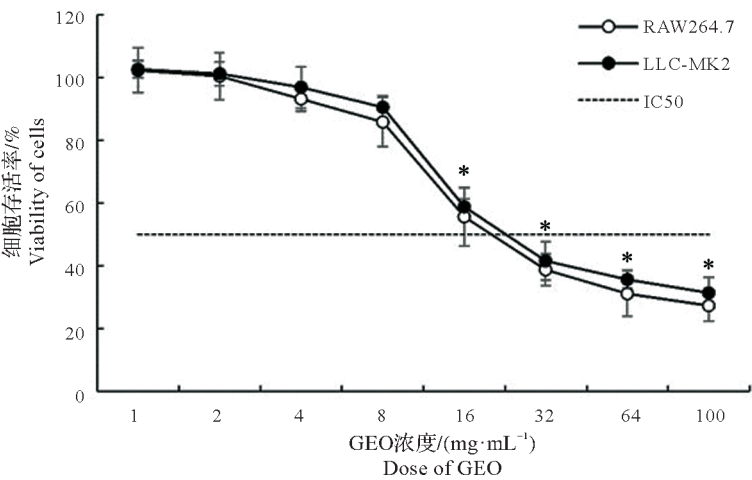
进行 GC-MS 分析以确定 GEO 的组成,并使用峰面积归一化确定化合物的相对含量。共鉴定出 74 种化合物,占精油总含量的 95.76%(表 1)。主要成分包括 9 种醇(40.96%)、12 种萜烯(13.32%)和 12 种酯(12.52%)。

葡萄柚精油提取物(GEO)对宿主细胞存活的影响试验表明,当高浓度 GEO 添加到宿主细胞系时,发现其对 RAW 264.7 和 LLC-MK2 细胞具有细胞毒性(图 1)。当 GEO 质量浓度小于等于 16 mg/mL 时,未观察到其细胞毒性作用。因此,在抗病毒试验中,空斑试验所用浓度(16 mg/mL)的 GEO 不会影响使用宿主细胞确定抗病毒效果的能力。

表 1 葡萄柚精油提取物的提取率及其主要化学成分
Tab.1 Extraction rate and main chemical components of GEO

精油提取物 Essential Oil Extracts	含量/%
GEO	Content
提取率 Extraction efficiency	78.60 $\pm$ 10.46 ^a
醇 Acetal	40.96 $\pm$ 6.73
萜烯 Terpene	13.32 $\pm$ 2.86
酯 Esters	12.52 $\pm$ 6.81

a 表示平均值 $\pm$ 标准偏差($n=3$)。
a represent mean $\pm$ standard deviation($n=3$).

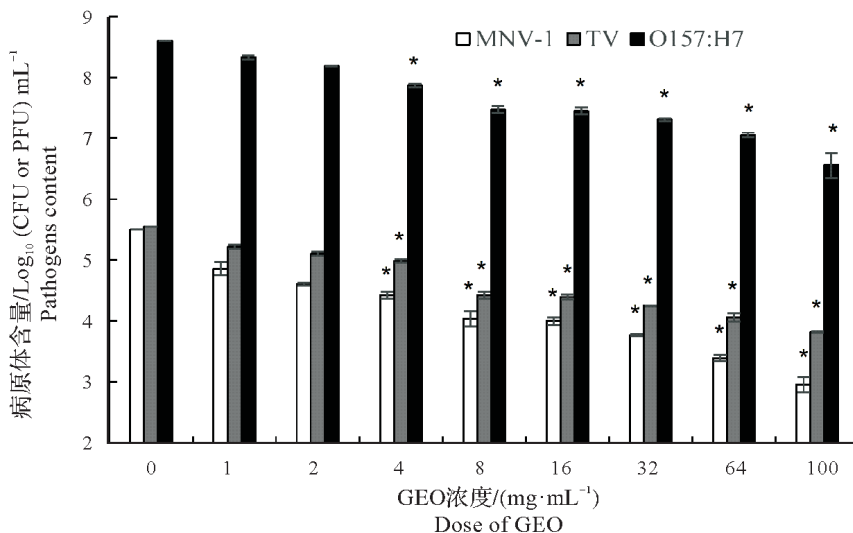


误差线表示 $\pm$ 标准差。“*”表示处理间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。
The error line represents $\pm$ standard deviation. “*” indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level.

图1 不同浓度葡萄柚精油提取物(GEO)对宿主细胞RAW264.7和LLC-MK2存活的影响
Fig.1 The impact on host cells RAW264.7 and LLC-MK2 survival by grapefruit essential oil extracts(GEO) at varying concentrations

2.2 GEO的抗菌和抗病毒作用分析

本试验检测葡萄柚精油对大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的影响(图2)。葡萄柚精油以浓度依赖性方式显著减少大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV。随着葡萄柚精油浓度的增加,这种减少更加明显。使用 8 mg/mL 葡萄柚精油时,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为 1.13 log₁₀ CFU/mL、1.47 log₁₀ PFU/mL 和 1.13 log₁₀ PFU/mL。8 mg/mL 和 16 mg/mL 葡萄柚精油的微生物减少量没有显著差异。根据之前的研究,大多数用于生物活性研究的精油提取物样品的浓度范围为 1~16 mg/mL。因此,本试验中使用了 8 mg/mL 的柚子精油。



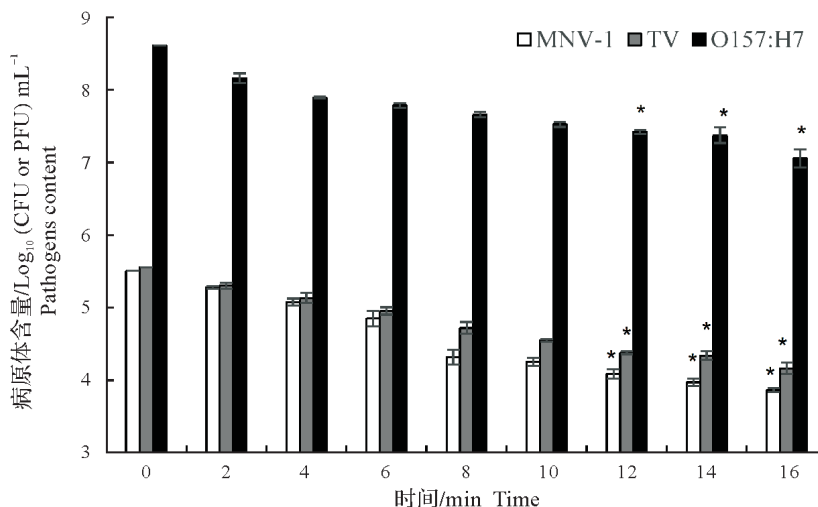
误差线表示±标准差。“*”表示处理间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

The error line represents $\pm$ standard deviation. “*” indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level.

图2 葡萄柚精油对大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 数量的影响

Fig.2 Effects of grapefruit essential oil on *E. coli* O157:H7, MNV-1 and TV

图3显示了用 8 mg/mL GEO 灭活大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的最佳作用时间。当 8 mg/mL GEO 与大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 或 TV 共处理 12 min,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为 1.19 log₁₀ CFU/mL、1.42 log₁₀ PFU/mL 和 1.18 log₁₀ PFU/mL。处理 12 min 和 14 min 之间微生物的减少没有差异($P\leq 0.05$)。因此,在接下来的试验中采用 12 min 的处理时间。



误差线表示±标准差。“*”表示处理间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

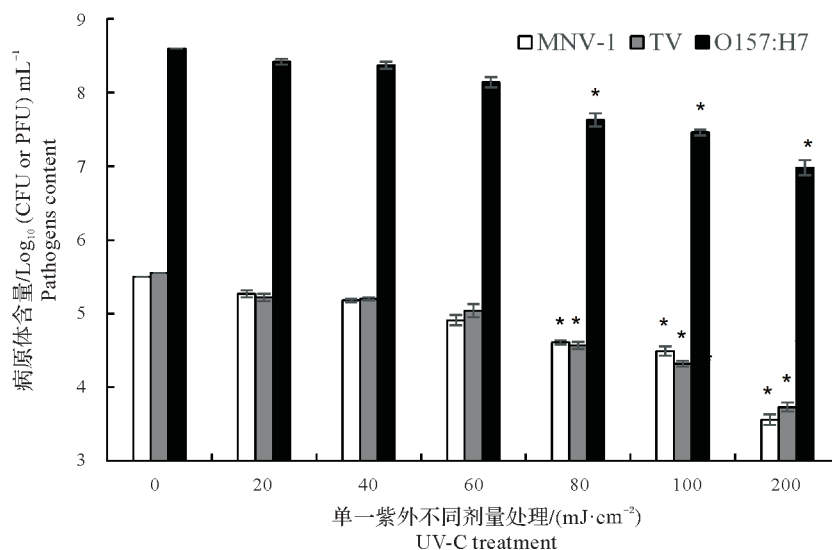
The error line represents $\pm$ standard deviation. “*” indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level.

图3 8 mg/mL GEO 灭活大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的最佳作用时间

Fig.3 Optimum action conditions for 8 mg/mL GEO inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, MNV-1 and TV

2.3 紫外线 UV-C 对大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 灭活的影响

图4显示了UV-C对大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的灭活作用。随着UV-C剂量的增加,实验组中细菌和病毒的减少量更高(图4)。当UV-C以200 mJ/cm²施加时,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为1.62 log₁₀ CFU/mL、1.94 log₁₀ PFU/mL 和 1.82 log₁₀ PFU/mL。



误差线表示±标准差。“*”表示处理间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

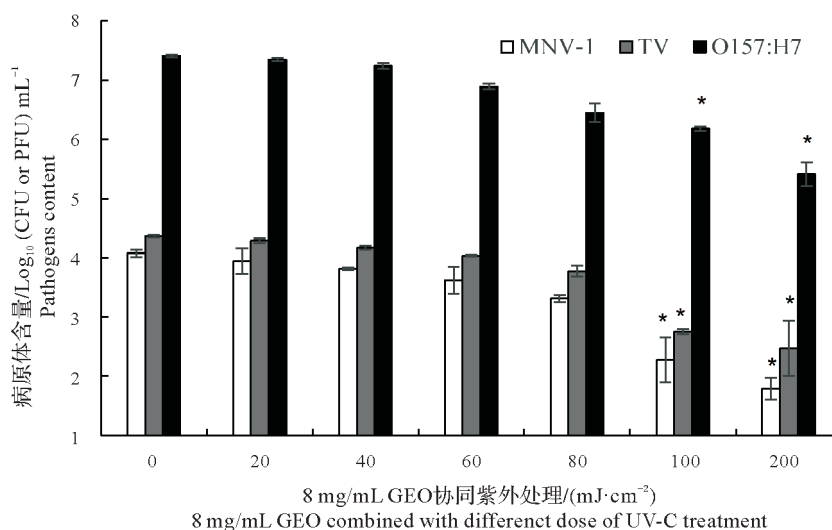
The error line represents $\pm$ standard deviation. “*” indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level.

图4 单独紫外UV-C不同剂量对大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的灭活作用

Fig.4 Inactivation of *E. coli* O157:H7, MNV-1 and TV by different doses of UV-C alone

2.4 GEO对UV-C灭活大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的协同作用

图5显示了8 mg/mL GEO与UV-C结合对减少细菌和病毒的效果。试验组(GEO结合UV-C)的灭活效果优于对照组。当8 mg/mL GEO与100 mJ/cm²的UV-C结合使用时,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为2.42 log₁₀ CFU/mL、3.22 log₁₀ PFU/mL 和分别为2.80 log₁₀ PFU/mL(图3B)。考虑到200 mJ/cm² UV-C可能会对食品质量产生负面影响,在后续试验中使用100 mJ/cm² UV-C。UV-C和GEO组合的结果明显优于单独处理的结果。



误差线表示±标准差。“*”表示处理间在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

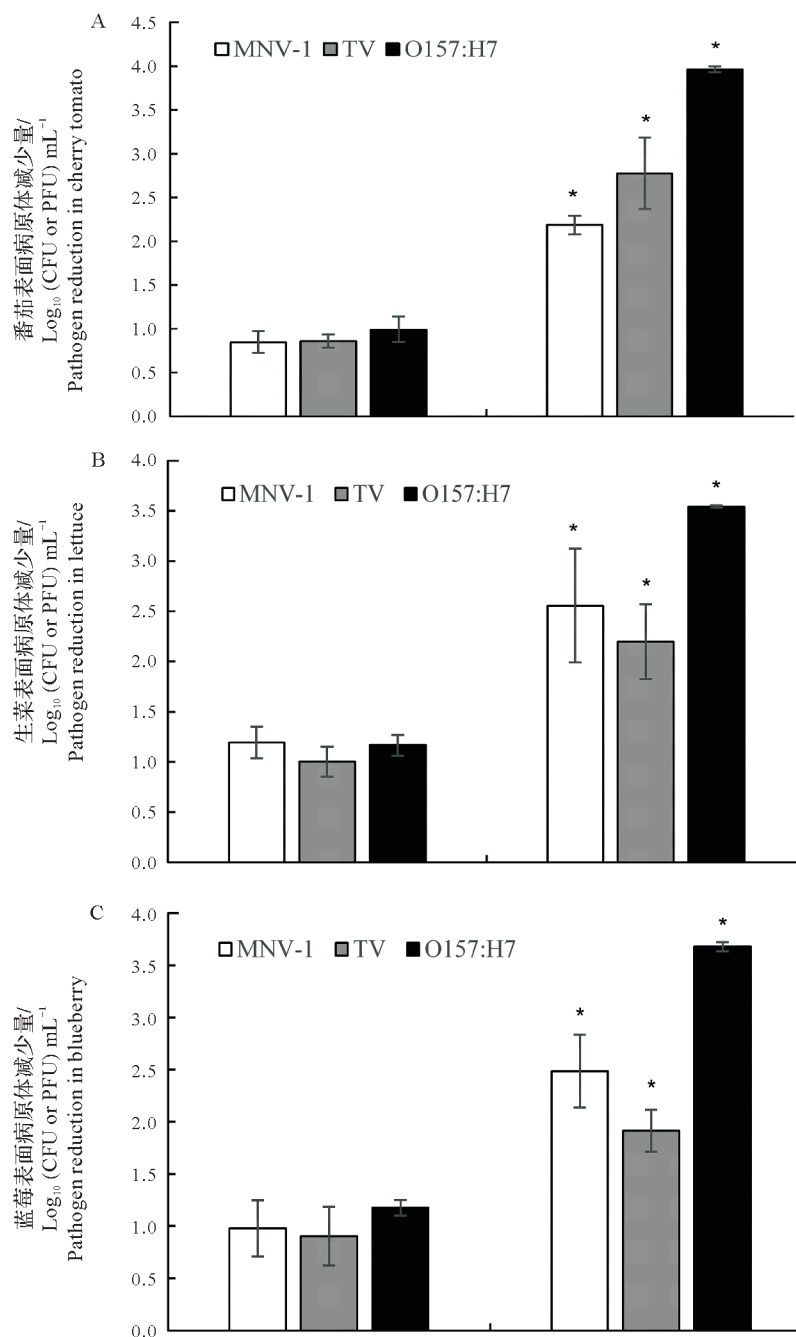
The error line represents $\pm$ standard deviation. “*” indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level.

图5 8 mg/mL GEO 与不同剂量 UV-C 结合对病原体的灭活效果

Fig.5 The effect of 8 mg/mL GEO combined with different doses of UV-C on the reduction of bacteria and viruses

2.5 协同处理在接种大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的食品样品中的应用

图6显示了8 mg/mL的GEO与100 mJ/cm² UV-C结合对樱桃番茄、生菜和蓝莓中大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的影响。与图6A单独使用UV-C处理相比,联合处理显著减少了水果和蔬菜中的细菌和病毒(图6B)。在樱桃番茄中,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为3.96 log₁₀ CFU/mL、2.19 log₁₀ PFU/mL 和 2.77 log₁₀ PFU/mL。在生菜中,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为3.54 log₁₀ CFU/mL、2.56 log₁₀ PFU/mL 和 2.20 log₁₀ PFU/mL。在蓝莓中,大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 的减少量分别为3.68 log₁₀ CFU/mL、2.49 log₁₀ PFU/mL 和 1.92 log₁₀ PFU/mL。



误差线表示±标准差。“*”表示处理间在P<0.05水平上差异显著。

The error line represents ± standard deviation. “*” indicate significant differences between treatments at the P<0.05 level.

图6 100 mJ/cm² UV-C单独处理和精油8 mg/mL GEO与100 mJ/cm² UV-C协同处理对(A)樱桃番茄、(B)生菜和(C)蓝莓中大肠杆菌 O157:H7、MNV-1 和 TV 数量的影响

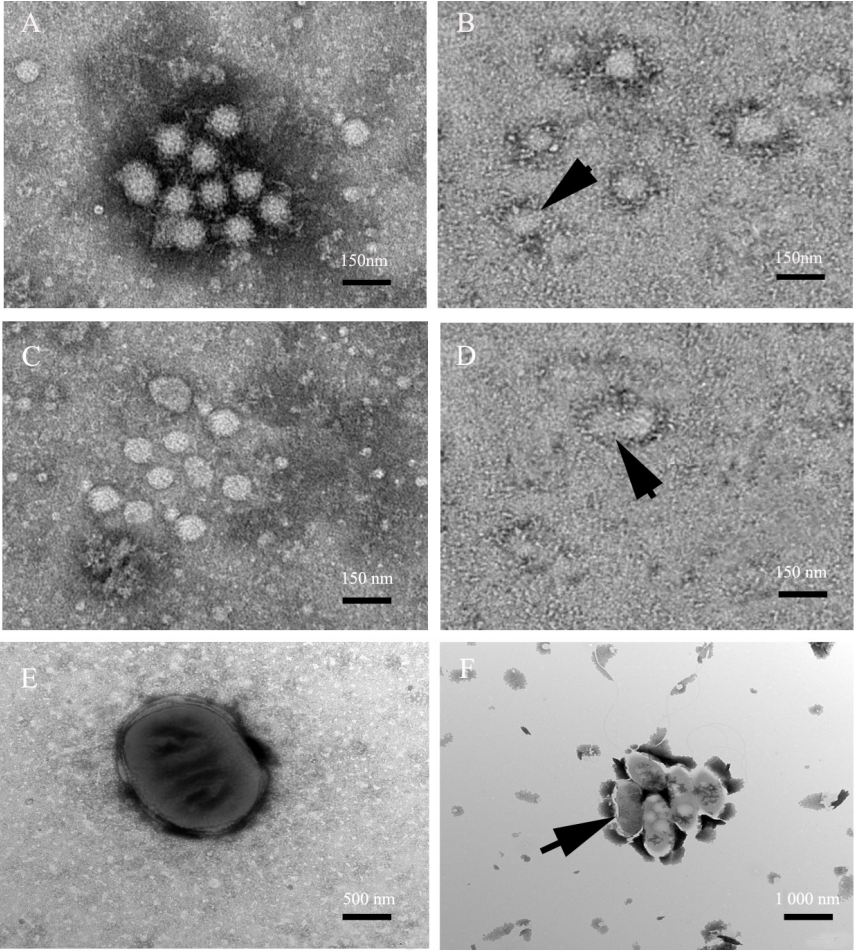
Fig.6 Effects of 100 mJ/cm² UV-C alone treatment and co-treatment of essential oil 8 mg/mL GEO and 100 mJ/cm² UV-C on *E. coli* O157:H7, MNV-1 and TV in (A) cherry tomato, (B) lettuce and (C) blueberry

2.6 联合处理后果蔬品质及感官分析

表2显示了樱桃番茄、蓝莓和生菜经过 100 mJ/cm² UV-C、8 mg/mL GEO 和 8 mg/mL GEO 与 100 mJ/cm² UV-C 结合后的品质分析。协同处理后,生菜和樱桃番茄的亮度和颜色没有观察到差异;蓝莓颜色更亮,并且有变得更蓝、更绿的趋势。樱桃番茄的硬度没有显著变化,而蓝莓变得更软,生菜更坚硬。生菜的弹性没有明显变化,而樱桃番茄和蓝莓的弹性则有所下降。结果表明,经过 UV-C 处理后,果蔬品质发生了一定程度的变化,但总体变化并不显著。感官分析结果如表 3 所示。试验生菜和对照生菜的颜色和味道有显著差异,但洗涤后差异缩小。对于樱桃番茄,试验组和对照组之间的感官指标没有显著差异。对于蓝莓来说,试验组和对照组之间只有颜色存在显著差异。8 mg/mL GEO 与 UV-C 结合对果蔬感官品质影响不大。洗涤后可减少个体影响。

2.7 TEM 分析结果

为了进一步了解 GEO 的作用模式,使用透射电子显微镜(TEM)检查用含有 8 mg/mL GEO 及其与 100 mJ/cm² UV-C 联合处理前后低浓度 MNV-1 和 *E. coli* O157:H7 的形态。结果显示,未经处理的 MNV-1 病毒颗粒呈约 30~35 nm 的球形结构(图 7A、图 7C)。然而,用 8 mg/mL 的 GEO 及其与 100 mJ/cm² UV-C 联合处理后,MNV-1 病毒颗粒的形态和大小增加至 80~100 nm,表明颗粒发生了变性、膨胀和部分碎裂(图 7B、7D)。同样,未经处理的 *E. coli* O157:H7 细菌外壁呈现完整的结构(图 7E)。然而,用 8 mg/mL GEO 与 100 mJ/cm² UV-C 联合处理后,*E. coli* O157:H7 细菌外壁发生了变化、菌体膨胀并出现碎裂(图 7F)。



(A) MNV-1 对照组; (B) 经 GEO 处理的 MNV-1; (C) MNV-1 对照组; (D) GEO 与 UV-C 协同处理 MNV-1; (E) *E. coli* O157:H7 对照组; (F) GEO 与 UV-C 协同处理 *E. coli* O157:H7。

(A) MNV-1 control group; (B) GEO-treated MNV-1; (C) MNV-1 control group; (D) GEO and UV-C combined treatment of MNV-1; (E) *E. coli* O157:H7 control group; (F) GEO and UV-C synergistic treatment of *E. coli* O157:H7.

图 7 不存在或存在 GEO 时 MNV-1 和 *E. coli* O157:H7 的成像分析结果

Fig.7 Imaging analysis of MNV-1 and *E. coli* O157:H7 in the absence or presence of GEO

表2 樱桃番茄、蓝莓和生菜经过 100 mJ/cm² UV-C、8 mg/mL GEO和 8 mg/mL GEO与 100 mJ/cm² UV-C 结合后的品质分析

Tab.2 Quality analysis of cherry tomato,blueberry and lettuce after 100 mJ/cm² UV-C, 8 mg/mL GEO and 8 mg/mL GEO combined with 100 mJ/cm² UV-C

处理方式 Treatments	L*			a*			b*			硬度 Hardness			弹性 Springiness		
	樱桃番茄 Cherry tomato	蓝莓 Blueberry	生菜 Lettuce	樱桃番茄 Cherry tomato	蓝莓 Blueberry	生菜 Lettuce	樱桃番茄 Cherry tomato	蓝莓 Blueberry	生菜 Lettuce	樱桃番茄 Cherry tomato	蓝莓 Blueberry	生菜 Lettuce	樱桃番茄 Cherry tomato	蓝莓 Blueberry	生菜 Lettuce
Control	36.88a	36.24b	60.15c	20.96b	23.21a	23.49a	19.34b	16.90a	18.77c	2 199.50a	634.96c	599.74a	0.84a	0.79b	0.93a
UV-C 100	34.77a	34.41c	67.75b	26.48a	22.21b	-0.25b	22.18a	10.09c	-1.47d	2 108.85a	633.43c	570.83b	0.79b	0.85a	0.94a
8% GEO	33.99a	36.28b	75.35a	13.44c	21.55b	19.00a	-0.80c	9.41d	24.86b	2 106.65a	663.02b	391.31d	0.75c	0.64d	0.96a
UV-C 100+ 8% GEO	34.26a	39.31a	58.00c	22.39b	19.51c	21.97a	20.57ab	15.42b	26.01a	2 147.12a	802.75a	420.36c	0.73c	0.72c	0.95a

不同的小写字母表示同一样本中不同处理方式有显著差异($P<0.05$); L^* 、 a^* 和 b^* 分别代表亮度、红/绿和黄/蓝;Hardness代表硬度;Springiness代表弹性。

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level; L^* , a^* and b^* represent brightness, red/green and yellow/blue respectively; Hardness represents hardness; Springiness represents elasticity.

表3 不同处理后对水果和蔬菜的感官评价

Tab.3 Sensory evaluation on fruits and vegetables after different treatments

果蔬种类 Species	处理 Treatment	颜色 Color	嗅觉 Olfaction	组织 Tissue	味觉 Taste	风味 Flavor	可接受性 Acceptability
生菜 Lettuce	对照组	7.65±0.59 ^b	7.45±1.00 ^a	7.40±1.05 ^a	7.50±0.61 ^{ab}	7.10±0.72 ^b	7.80±0.62 ^a
	试验组	8.10±0.55 ^a	7.75±1.02 ^a	7.85±0.88 ^{ab}	7.95±0.60 ^a	7.80±0.83 ^a	8.15±0.59 ^a
	试验组清洗处理	7.90±0.64 ^{ab}	7.60±0.88 ^a	7.35±0.67 ^b	7.50±0.76 ^b	7.60±0.94 ^{ab}	7.80±0.77 ^a
樱桃番茄 Cherry tomato	对照组	8.10±0.64 ^a	8.15±0.93 ^a	7.85±0.81 ^a	7.95±1.00 ^a	7.65±0.75 ^a	8.00±0.73 ^a
	试验组	8.15±0.59 ^a	8.05±0.94 ^a	7.85±0.59 ^a	7.55±1.03 ^a	7.65±0.81 ^a	7.95±0.60 ^a
	试验组清洗处理	8.00±0.65 ^a	7.70±0.80 ^a	7.75±0.64 ^a	7.70±1.10 ^a	7.30±1.03 ^a	7.90±0.45 ^a
蓝莓 Blueberry	对照组	8.10±0.91 ^a	7.45±0.94 ^a	7.65±0.75 ^a	7.45±0.92 ^a	7.40±0.88 ^a	7.65±0.81 ^a
	试验组	7.85±0.49 ^{ab}	7.90±0.85 ^a	7.90±0.91 ^a	7.70±0.76 ^a	7.85±0.75 ^a	8.05±0.83 ^a
	试验组清洗处理	7.60±0.60 ^b	7.40±0.82 ^a	7.60±0.94 ^a	7.45±0.76 ^a	7.40±1.05 ^a	7.65±0.88 ^a

不同的小写字母表示同一样本中不同处理方式有显著差异($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments at the $P<0.05$ level.

3 结论与讨论

目前使用UV-C照射、加热、次氯酸钠和过氧化氢等物理和化学技术来灭活食品中的微生物^[19]。然而,不当或滥用这些技术可能会改变食物的营养价值或风味。天然提取化合物和非热杀菌技术已被研究并证明在减少病原体负荷和提高新鲜农产品质量方面具有巨大的工业应用潜力^[20]。尽管上述一些技术在食品消毒方面的功效已经得到证实,但对于在保持食品理化、营养和感官质量的同时,最大限度地减少或清除病原体污染的理想应用条件尚缺乏深入研究。

葡萄柚精油(GEO)是一种传统、安全的天然化学添加剂,可调节血压并增加食欲^[21]。此外,GEO还具有抗菌、抗癌和抗氧化活性^[22]。本研究发现GEO对大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV有效,且呈剂量和时间相关性。用8 mg/mL GEO处理12 min可抑制1.19 log₁₀~1.42 log₁₀(CFU or PFU)/mL细菌或病毒。据Macwan等^[23]报道,GEO的抗菌性可能与其萜烯、醇、酯和醛的含量有关。在本研究中,GC-MS显示葡萄柚精油中的主要化合物是醇、萜烯和酯。这些结果与之前报道的EO对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌有抑制作用的研究^[24]类似。本试验结果表明,GEO可能是一种用于食品储存和保鲜的新型替代化合物。

UV-C照射是食品工业中使用的最新技术之一,已被证明可以有效抑制肉类和鱼类产品中的腐败和病原微生物,而对于新鲜农产品,低剂量的UV-C照射还不够。在灭活果蔬农产品病原微生物过程中,高剂量UV辐照会对食品中荧光化合物的含量产生负面影响,降低其营养价值和感官特性^[25]。在本研究

中,综合考虑抑制效果、节省时间和食品质量,分析了GEO与紫外线协同作用对食源性病原体的消毒作用及其对生鲜产品的质量。使用8 mg/mL GEO处理12 min与较低辐照剂量的UV-C(100 mJ/cm²)来处理樱桃番茄、生菜和蓝莓中人为污染的病原体,协同作用的抑制效果为1.92 log₁₀~3.96 log₁₀(CFU or PFU)/mL,显示出有效的抗菌和抗病毒功效。这一结果与Battistini等^[26]的研究结果一致,采用柠檬(2.84 log TCID₅₀/mL)、葡萄柚(2.89 log TCID₅₀/mL)和迷迭香桉树脑(2.94 log TCID₅₀/mL)精油处理约1 h,显著降低了水果表面HAV滴度。相比之下,本研究表明,当GEO与紫外线结合时,实现病原体减少2个对数级所需的时间(约10 min)显著缩短。

GEO和UV-C协同处理后,必须考虑新鲜农产品的质量。Dagala等^[27]研究了UV-C和柠檬草精油对大肠杆菌K12污染的山羊肉的协同处理效果,发现1% LG与200 μW/cm² UV-C结合可有效根除大肠杆菌K12,但由于UV-C照射强度和持续时间过长,山羊肉的颜色和氧化稳定性受到负面影响。在本研究中,通过评估颜色和质地来研究水果和蔬菜的品质,结果发现100 mJ/cm² UV-C与8 mg/mL GEO结合对水果和蔬菜的品质几乎没有影响。感官分析表明,协同处理的总体可接受性较高,表明其可用于食品工业。

为了进一步确定GEO的作用方式,使用TEM观察GEO处理后MNV-1和*E. coli* O157:H7的变化。结果显示,MNV-1颗粒变性、增大,部分颗粒破碎;而*E. coli* O157:H7表面发现明显破裂,内容物释放出细胞,表明GEO精油中存在的醇类、萜烯类和醛类对病毒蛋白外壳有害影响。这一发现与单纯疱疹病毒暴露于C-糖黄酮和MNV-1用牛至油处理时观察到的形态变化一致^[28-29]。

综上所述,为了减少病原体负荷并提高新鲜农产品的品质,本试验研究了GEO及其与UV-C处理组合对樱桃番茄、生菜和蓝莓中大肠杆菌O157:H7、MNV-1和TV的消毒功效。结果表明,协同作用(100 mJ/cm² UV-C加上8 mg/mL GEO)实现了1.92 log₁₀~3.96 log₁₀(CFU or PFU)/mL的减少,高于单独使用UV-C,证明了协同作用具备较好的抗病原体效果。此外,GEO和UV-C的协同作用大大缩短了灭活病原微生物所需的时间。TEM图像显示GEO导致病毒衣壳蛋白变性,从而阐明了GEO的抗病原作用及其通过UV-C的增强机制。此外,果蔬质地分析和感官评价表明,协同处理对测试产品的味道和质量影响极小。因此,GEO和UV-C的协同作用是一种有前途的策略,可以减少病原体灭活时间和UV-C强度,同时保持食品安全和品质。然而,未来还需要进一步研究GEO在特定应用条件下对食源性和腐败微生物的实际功效,并解决GEO剂量和潜在毒性问题。这项研究提供了一种有效且省时的方法来灭活水果和蔬菜上的食源性病原体,并且对测试产品的味道和质量影响最小。

致谢:浙江中医药大学校级科研项目(2022JKJNTZ14)和江西农业大学食品科学与工程学院赵远洋博士对研究给予了帮助,谨致谢意!

参考文献 References:

- [1] POSSAS A, PEREZ-RODRIGUEZ F. New insights into cross-contamination of fresh-produce[J]. *Current opinion in food science*, 2023, 49(4), 100954.
- [2] 崔健, 杨莉莉, 邓婷婷, 等. 果蔬食品中诺如病毒污染状况及检测研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(12): 3884-3892.
- [3] CUI J, YANG L L, DENG T T, et al. Research progress on norovirus contamination status and detection technology in fruit and vegetable foods from a non-traditional perspective[J]. *Journal of food safety & quality*, 2022, 13(12): 3884-3892.
- [4] 施晓峰, 程东庆, 章荣华, 等. 蓝莓中诺如病毒检测方法的优化及其在果蔬中的应用[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(12), 2322-2329.
- [5] SHI X F, CHENG D Q, ZHANG R H, et al. Optimization of detecting methods for norovirus on blueberries and application in fruits and vegetables[J]. *Journal of chinese institute of food science and technology*, 2018, 18(12), 2322-2329.
- [6] CHOI J M, LEE S I, RACKERBY H, et al. Potential contamination sources on fresh produce associated with food safety[J]. *Journal of food hygiene and safety*, 2019, 34(1): 1-12.
- [7] MENDOZA I C, LUNA E O, POZO M D, et al. Conventional and non-conventional disinfection methods to prevent microbial contamination in minimally processed fruits and vegetables[J]. *LWT-food science and technology*, 2022, 165(2), 113714.
- [8] GURTLE J B, FAN X, JIN T, et al. Influence of antimicrobial agents on the thermal sensitivity of foodborne pathogens: a review [J]. *Journal of food protection*, 2019, 82(4), 628-644.
- [9] 李德海, 蒋沙沙. 植物精油对病原微生物作用机制及在浆果保鲜上的研究进展[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(8): 352-360.
- [10] LI D H, JIANG S S. Research progress on the action mechanisms of plant essential oils against microorganisms and its appli-

- cation in berry preservation[J].Modern food science & technology, 2022, 38(8): 352-360.
- [8] 张丽, 陈尚钊, 范国荣, 等. 山苍子精油的化学成分和功能活性及其应用研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(2): 355-363.
- ZHANG L, CHEN S X, FAN G R, et al. Research progress in application and functions of *Litsea cubeba* essential oil components[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2021, 43(2): 355-363.
- [9] AMANKWAAH C, LI J, LEE J, et al. Development of antiviral and bacteriostatic chitosan-based food packaging material with grape seed extract for murine norovirus, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* control[J]. Food science & nutrition, 2020, 8(11): 6174-6181.
- [10] DE SOUZA PEDROSA G T, PIMENTEL T C, GAVAHIAN M, et al. The combined effect of essential oils and emerging technologies on food safety and quality[J]. LWT-food science and technology, 2021, 147(6): 111593.
- [11] SELEIM M A, HASSAN M A, SALEH A S M. Physico-chemical evaluation of white and pink grapefruit (*Citrus paradisi*) juice[J]. Assiut journal of agricultural sciences, 2019, 50(3): 112-122.
- [12] ABED O H, MOHAMMAD H A, AHMED L A, et al. The antimicrobial and antioxidant effects of grapefruit (*Citrus paradise*) peel extract[J]. Eurasian medical research periodical, 2022, 15: 146-151.
- [13] JIN Y, YANG N. Array-induced voltages assisted extraction of pectin from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) peel and its characterization[J]. International journal of biological macromolecules, 2020, 152(5): 1205-1212.
- [14] TOZZOLI R, MAUGLIANI A, MICHELACCI V, et al. Validation on milk and sprouts of EN ISO 16654:2001-Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157[J]. International journal of food microbiology, 2019, 288(6): 53-57.
- [15] IMAMURA S, SHIBATA S, KISHINE M, et al. Interlaboratory evaluation of a method for quantification of norovirus RNA as an alternative use for ISO 15216-1:2017 to conduct Japan baseline survey of oysters[J]. Foodborne pathogens and disease, 2021, 18(5): 331-336.
- [16] BASSEY E J, CHENG J H, SUN D W. Novel nonthermal and thermal pretreatments for enhancing drying performance and improving quality of fruits and vegetables[J]. Trends in food science & technology, 2021, 112(3): 137-148.
- [17] BOTONDI R, BARONE M, GRASSO C. A review into the effectiveness of ozone technology for improving the safety and preserving the quality of fresh-cut fruits and vegetables[J]. Foods, 2021, 10(4): 748.
- [18] 唐梦旋, 陈莉莉, 廖宁波, 等. 蜂胶提取物对诺如病毒的体外抑制作用研究[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(2): 40-47.
- TANG M, CHEN L, LIAO N, et al. Inhibitory effect of propolis extract on norovirus in vitro[J]. Journal of food science and technology, 2021, 39(2): 40-47.
- [19] CHIOZZI V, AGRIPOULOU S, VARZAKAS T. Advances, applications, and comparison of thermal (pasteurization, sterilization, and aseptic packaging) against non-thermal (ultrasounds, UV radiation, ozonation, high hydrostatic pressure) technologies in food processing[J]. Applied sciences, 2022, 12(4): 2202.
- [20] GII M I, SELMA M V, LOPEZ-GALVEZ F, et al. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions[J]. International journal of food microbiology, 2009, 134(1/2): 37-45.
- [21] DENG W, LIU K, CAO S, et al. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation[J]. Molecules, 2020, 25(1): 217.
- [22] MISHARINA T A, SAMUSENKO A L. Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures[J]. Applied biochemistry and microbiology, 2008, 44: 438-442.
- [23] MACWAN S R, DABHI B K, APARNATHI K D, et al. Essential oils of herbs and spices: their antimicrobial activity and application in preservation of food[J]. International journal of current microbiology and applied sciences, 2016, 5(5): 885-901.
- [24] DA SILVA GUNDEL S, DE SOUZA M E, QUATRIN P M, et al. Nanoemulsions containing cymbopogon flexuosus essential oil: development, characterization, stability study and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities[J]. Microbial pathogenesis, 2018, 118: 268-276.
- [25] CORREA T Q, BLANCO K C, GARCIA E B, et al. Effects of ultraviolet light and curcumin-mediated photodynamic inactivation on microbiological food safety: a study in meat and fruit[J]. Photodiagnosis and photodynamic therapy, 2020, 30(5): 101678.
- [26] BATTISTINI R, ROSSINI I, ERCOLINI C, et al. Antiviral activity of essential oils against hepatitis A virus in soft fruits[J]. Food and environmental virology, 2019, 11(3): 90-95.
- [27] DEGALA H L, MAHAPATRA A K, DEMIRCI A, et al. Evaluation of non-thermal hurdle technology for ultraviolet-light to inactivate *Escherichia coli* K12 on goat meat surfaces[J]. Food control, 2018, 90(2): 113-120.
- [28] COELHO G R, MENDONCA R Z, VILAR K D S, et al. Antiviral action of hydromethanolic extract of geopropolis from *Scaptotrigona postica* against antiherpes simplex virus (HSV-1)[J]. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2015, 2015: 296086.
- [29] GILLING D H, KITAJIMA M, TORREY J R, et al. Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus[J]. Journal of applied microbiology, 2014, 116(5): 1149-1163.