

3 种精油对水果病原菌的抑菌效果研究

余兴¹, 孔庆军^{*2}, 任雪艳²

(1. 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子 832000; 2. 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 通过采用滤纸片熏蒸和直接接触作用的方法研究了薰衣草精油,薄荷精油和葡萄籽精油对链格孢霉,扩展青霉和酸腐菌的作用效果。结果显示,抑菌效果与精油浓度和处理方式有关。在精油熏蒸实验中,体积分数为 1、2、3、4、5 $\mu\text{L/L}$ 的 3 种植物精油对链格孢霉,扩展青霉和酸腐菌的抑菌效果均不同,对薰衣草精油的敏感强弱程度为:链格孢霉>扩展青霉>酸腐菌;对薄荷精油的敏感程度为链格孢霉>酸腐菌>扩展青霉;对葡萄籽精油的敏感强弱程度为扩展青霉>链格孢霉>酸腐菌。而在直接接触作用实验中,体积分数为 100、200、300、400、500 $\mu\text{L/L}$ 的 3 种植物精油对链格孢霉,扩展青霉和酸腐菌的抑菌效果也不同,对薰衣草精油的敏感强弱程度为:酸腐菌>链格孢霉>扩展青霉;对薄荷精油的敏感强弱程度为酸腐菌>链格孢霉>扩展青霉;对葡萄籽精油的敏感强弱程度为扩展青霉>酸腐菌>链格孢霉。

关键词: 熏蒸;植物精油;抑菌效果

中图分类号:S 436.5 文献标志码:A 文章编号:1673-1689(2017)07-0714-06

Study of Three Kinds of Essential Oil on Antimicrobial Activity of Fruit Pathogenic Bacteria

YU Xing¹, KONG Qingjun^{*2}, REN Xueyan²

(1. College of Life Science, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. College of Food Engineering and Nutrition Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Disc diffusion and direct contacting of essential oil and fruit pathogenic bacteria are utilized to study the effects of plant essential oil lavender essential oil, peppermint oil and grape seed oil on *alternaria alternata*, *penicillium expansum* and *geotrichum candidum* in this research. After analyzing the result of the research, we find out that in 1 $\mu\text{L/L}$, 2 $\mu\text{L/L}$, 3 $\mu\text{L/L}$, 4 $\mu\text{L/L}$, 5 $\mu\text{L/L}$ concentrations of these plant oils have unlike effects in fruit pathogenic bacteria of *alternaria alternata*, *penicillium expansum* and *geotrichum candidum*. And how we deal with the materials can influence the final result as well. In disc diffusion experiment the sensitivity towards lavender essential oil are *alternaria alternate* > *penicillium expansum* > *geotrichum candidum*, while the sensitivity towards peppermint oil are *alternaria alternate* > *geotrichum candidum* > *penicillium*

收稿日期: 2015-06-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260402, 31460411, 31671904)。

* 通信作者: 孔庆军(1976—),男,黑龙江依安人,理学博士,副教授,主要从事食品化学研究。E-mail:kongqingjun1976@snnu.edu.cn

引用本文: 余兴,孔庆军,任雪艳. 3 种精油对水果病原菌的抑菌效果研究[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(07): 714-719.

expansum, and towards grape seed oil are *penicillium expansum* > *alternaria alternata* > *geotrichum candidum*. Whereas in the experiment of contacting essential oil and fruit pathogenic bacteria we got a different result. In 100 $\mu\text{L/L}$, 200 $\mu\text{L/L}$, 300 $\mu\text{L/L}$, 400 $\mu\text{L/L}$, 500 $\mu\text{L/L}$ concentrations of the plant oils. The sensitivity towards lavender essential oil are *geotrichum candidum* > *alternaria alternata* > *penicillium expansum*, which towards peppermint oil are *geotrichum candidum* > *alternaria alternata* > *penicillium expansum*, and that towards grape seed oil are *penicillium expansum* > *geotrichum candidum* > *alternaria alternata*.

Keywords: disc diffusion, essential oil, antimicrobial activity

中国是一个水果生产大国,水果年总产量多达8500万余吨,占世界水果总产量40%,但水果出口量却不足总产量1%,并且贮藏保鲜量也不足总产量的20%^[1]。因此保证水果采摘后的品质、延长其保存期限、防止其腐败变质、减小损失是亟待解决的问题。化学保鲜剂一直以来就是人们防治食品腐败的重要手段之一,但由于有些化学保鲜剂在使用时必须控制剂量,否则会对人体造成危害^[2-4]。植物精油(Essential oil)是从植物组织中提取的一类天然化合物^[5]。研究发现,许多植物精油具有良好的抑菌活性,有作为天然防腐剂的潜在价值^[6-9]。一定浓度的某些的植物精油可抑制甚至杀死细菌,精油的化学组成,浓度会影响它的抑菌效果,且酚类物质的抑菌活性强于单萜醇类物质,此外,醚类和醛类化合物也有一定的抑菌活性,精油对水果病原菌的抑制作用主要由这些物质发挥,且精油中的这些物质对人体毒性小,对环境的影响也小,因此,它可作为安全有效、无公害的抑菌剂^[10-12],作者选择对薰衣草精油,薄荷精油和葡萄籽精油进行研究。而链格孢霉,扩展青霉和酸腐菌是常见的水果病原微生物,研究对链格孢霉,扩展青霉和酸腐菌的抑菌作用可为水果的贮藏和保鲜方式提供一定的理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

薰衣草精油,薄荷精油,葡萄籽精油:购自伊帕尔汗香料有限公司;链格孢霉,扩展青霉,酸腐菌:作者所在实验室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种的活化及菌悬液的制备 挑取适量的供试病原真菌孢子,在PDA斜面上划线,置于培养箱中培养进行菌种活化,在28℃下培养7d后,倒

入5mL的无菌水,用接种环刮下孢子,形成孢子浓度大约在 5×10^4 个/mL的悬浮液。

1.2.2 3种植物精油对病原菌的体外滤纸熏蒸实验 用打孔器将定性滤纸打成直径6mm的滤纸片,置于培养皿中于121℃高压蒸汽灭菌15min。用移液枪吸取100 μL 的孢子悬浮液加到的PDA平板上,用灭菌的涂布棒涂匀。在28℃生化培养箱中培养7d。用无菌的打孔器在培养7d的病原菌平板打取直径为6mm菌块置于无菌PDA平板中。将平板倒置,取一片无菌的直径为6mm的滤纸片放在平板盖子中央。用移液枪分别移取1、2、3、4、5 μL 的植物精油滴于滤纸片上,以滤纸片上不添加植物精油的平板为对照。将平板用保鲜膜密封,放入28℃生化培养箱中培养7d后观察抑菌效果。测量菌落直径,通过以下公式计算出抑制率。每个浓度梯度3个平板,试验重复3次。

$$\text{抑制率}(\%) = ((C - T) / C) \times 100\%$$

C 为对照菌落直径(cm), T 为菌落直径(cm)。

1.2.3 3种植物精油对病原菌的体外直接接触实验 将融化的PDA培养基冷却到40℃左右,用移液枪吸取一定体积的植物精油到培养基中,并且充分振荡混合,使其最终体积分数为100、200、300、400和500 $\mu\text{L/L}$ 。然后倒平板,每个平板15mL。以培养基中不添加植物精油的平板为对照。用无菌的打孔器在病原菌(培养7d)平板上打取直径为6mm菌块放入平板中央。放入28℃生化培养箱中养7d后观察抑菌效果。测量菌落直径,计算出抑制率。每个浓度梯度3个板,试验重复3次。

1.2.4 对抑菌作用最明显的精油进行链格孢霉孢子萌发实验 通过以上实验,选出抑菌效果较好的精油。在PDB培养基中配置一定浓度的链格孢霉孢子悬浮液,再将适量的乳化好的精油加入到小试管

中,使精油的最终体积分数为 100,300,500 $\mu\text{L/L}$,并设置空白对照。进行液体培养,12 h 后用普通光学显微镜辅助以 Digit Camera 显微摄像镜头和血球计数板测量,统计各处理中病原菌孢子萌发率,从而研究精油对病原孢子萌发影响。

2 结果与讨论

2.1 3 种植物精油对病原菌的体外熏蒸抑制效果比较

2.1.1 薰衣草精油对 3 种病原菌的滤纸片熏蒸效果 表 1、2 分别 1~5 $\mu\text{L/L}$ 5 个体积分数梯度的薰衣草精油熏蒸作用下,3 种病原菌的菌胎直径(cm)

表 1 不同体积分数的薰衣草精油对 3 种测试菌的滤纸熏蒸作用下的菌胎直径

Table 1 Bacterial lawn diameter affected by disc diffusion with different concentrations of lavender essential oil cm

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$					
	对照	1	2	3	4	5
链格孢霉	5.50	5.20±0.05	4.89±0.06	4.43±0.09	3.74±0.06	1.67±0.11
扩展青霉	3.50	3.47±0.02	3.46±0.04	3.42±0.02	3.29±0.07	3.13±0.05
酸腐菌	5.50	5.50±0	5.48±0.02	5.46±0.02	5.43±0.02	5.39±0.05

表 2 薰衣草精油滤纸熏蒸作用下的抑菌率

Table 2 Antimicrobial activity of disc diffusion with lavender essential oil %

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$				
	1	2	3	4	5
链格孢霉	5.45	11.09	19.45	32.00	69.64
扩展青霉	0.86	1.14	2.29	6.00	10.57
酸腐菌	0	0.36	0.73	1.27	2.00

表 3 不同体积分数的薄荷精油对三种测试菌的滤纸熏蒸作用下的菌胎直径

Table 3 Bacterial lawn diameter affected by disc diffusion with different concentrations of peppermint oil cm

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$					
	对照	1	2	3	4	5
链格孢霉	5.50	4.35±0.12	2.50±0.07	1.14±0.04	0.59±0.06	0.53±0.04
扩展青霉	3.50	3.47±0.02	3.39±0.06	2.77±0.08	2.31±0.07	1.77±0.08
酸腐菌	5.50	5.28±0.05	4.69±0.07	3.80±0.07	3.16±0.04	2.28±0.09

表 4 薄荷精油滤纸熏蒸作用抑菌率

Table 4 Antimicrobial activity of disc diffusion with peppermint oil %

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$				
	1	2	3	4	5
链格孢霉	20.91	54.55	79.27	89.27	90.36
扩展青霉	0.86	3.14	20.86	34.00	49.43
酸腐菌	4.00	14.73	30.91	42.55	58.55

由表 4 可以看出,对链格孢霉而言,当薄荷精油体积分数为 2 $\mu\text{L/L}$ 时,抑菌率就达到了 54.55%,5 $\mu\text{L/L}$ 时的抑菌率高达 90.36%,接近完全抑制;对

及抑菌率(%)。

由表 2 可以看出,不同体积分数的薰衣草精油对 3 种病原菌均有一定的抑制效果,对链格孢霉而言,薰衣草精油体积分数在 4 $\mu\text{L/L}$ 时抑菌率达到 32.00%,5 $\mu\text{L/L}$ 时,其抑菌率达 69.64%;对扩展青霉而言,5 $\mu\text{L/L}$ 时的抑菌率为 10.57%,抑制作用不明显;而对酸腐菌而言,在 5 $\mu\text{L/L}$ 浓度下的抑菌率仅为 2.00%,基本不受抑制。

2.1.2 薄荷精油对 3 种病原菌的滤纸熏蒸效果 表 3、4 为分别 1~5 $\mu\text{L/L}$ 5 个体积分数梯度的薄荷精油熏蒸作用下,3 种病原菌的菌胎直径(cm)及抑菌率(%)。

酸腐菌而言,5 $\mu\text{L/L}$ 时的抑菌率达到了 58.55%,抑制作用明显。相对而言,对扩展青霉的抑菌效果较低,但表现也很明显,5 $\mu\text{L/L}$ 时的抑菌率为

49.43%,抑菌作用明显。

2.1.3 葡萄籽精油对3种病原菌的熏蒸效果 表5、6分别为1~5 $\mu\text{L/L}$ 5个体积分数梯度的葡萄籽精油滤纸熏蒸作用下,3种病原菌的菌胎直径及抑菌率。

由表6不难发现,对扩展青霉而言,葡萄籽精油体积分数为4 $\mu\text{L/L}$ 时的抑菌率为61.71%,当5 $\mu\text{L/L}$ 时高达80.86%,抑菌效果很明显;而对链格孢

霉而言,为5 $\mu\text{L/L}$ 时的抑菌率仅为10.55%,抑制不明显;对酸腐菌而言,抑菌率最高仅为2.91%,基本不受抑制。

2.2 3种植物精油对病原菌的体外直接接触实验

2.2.1 薰衣草精油对3种测试菌的直接接触作用效果 表7、8分别为100~500 $\mu\text{L/L}$ 5个体积分数梯度的薰衣草精油直接接触作用下3种病原菌的菌胎直径及抑菌率。

表5 不同体积分数的葡萄籽精油对3种测试菌的滤纸熏蒸作用下的菌胎直径

Table 5 Bacterial lawn diameter affected by disc diffusion with different concentrations of grape seed oil cm

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$					
	对照	1	2	3	4	5
链格孢霉	5.50	5.12±0.09	5.07±0.04	5.06±0.04	4.89±0.07	4.92±0.05
扩展青霉	3.50	3.40±0.06	3.00±0.07	2.48±0.05	1.34±0.06	0.67±0.09
酸腐菌	5.50	5.48±0.02	5.44±0.04	5.39±0.05	5.36±0.06	5.34±0.04

表6 葡萄籽精油滤纸熏蒸作用抑菌率

Table 6 Antimicrobial activity of disc diffusion with grape seed oil %

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$				
	1	2	3	4	5
链格孢霉	6.91	7.82	8.00	11.09	10.55
扩展青霉	2.86	14.29	29.14	61.71	80.86
酸腐菌	0.36	1.09	2.00	2.55	2.91

表7 不同体积分数的薰衣草精油对3种测试菌的直接接触作用下的菌胎直径

Table 7 Bacterial lawn diameter affected by direct contacting of different concentrations of lavender essential oil and fruit pathogenic bacteria cm

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$					
	对照	100	200	300	400	500
链格孢霉	5.50	3.85±0.11	2.15±0.05	1.13±0.04	0.56±0.05	0.54±0.05
扩展青霉	3.50	3.36±0.04	3.16±0.07	2.86±0.06	2.50±0.03	2.35±0.07
酸腐菌	5.50	3.68±0.05	2.40±0.07	1.26±0.06	0.64±0.04	0.50±0

表8 薰衣草精油直接接触作用抑菌率

Table 8 Antimicrobial activity of direct contacting of lavender essential oil and fruit pathogenic bacteria %

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$				
	100	200	300	400	500
链格孢霉	30.00	60.91	79.45	89.82	90.18
扩展青霉	4.00	9.71	18.29	28.57	32.86
酸腐菌	33.09	56.36	77.09	88.36	90.91

由表8可以发现,直接接触作用比重蒸作用的抑菌效果明显。对链格孢霉而言,体积分数为100 $\mu\text{L/L}$ 时,其生长明显受到抑制,此时的抑菌率已经达到了30.00%;400 $\mu\text{L/L}$ 时基本接近完全抑制,此

时抑菌率达到89.82%。酸腐菌也是如此,100 $\mu\text{L/L}$ 时,抑菌率为33.09%;而400 $\mu\text{L/L}$ 时同样接近完全抑制,抑菌率高达90.91%。对于扩展青霉,抑制作用于200 $\mu\text{L/L}$ 开始明显出现,当500 $\mu\text{L/L}$ 时,抑菌率

达到了 32.86%, 抑菌效果一般。

2.2.2 薄荷精油对 3 种病原菌的直接接触效果
表 9、10 分别为 100~500 $\mu\text{L/L}$ 5 个体积分数梯度的薄荷精油直接接触作用下, 3 种病原菌的菌胎直径及抑菌率。

由表 10 可以看出, 链格孢霉于体积分数为 500 $\mu\text{L/L}$ 时接近完全抑制, 抑菌率达到 87.09%。酸腐菌于 400 $\mu\text{L/L}$ 时接近完全抑制, 抑菌率达到 90.91%。

之前效果一般的扩展青霉于体积分数为 100 $\mu\text{L/L}$ 时就受到抑制, 直到 400 $\mu\text{L/L}$ 时接近完全抑制, 此时抑菌率为 84.00%。

2.2.3 葡萄籽精油对 3 种病原菌的直接接触效果
表 11 和 12 分别为 100~500 $\mu\text{L/L}$ 5 个体积分数梯度的葡萄籽精油直接接触作用下, 3 种病原菌的菌胎直径及抑菌率。

表 9 不同体积分数的薄荷精油对 3 种测试菌的直接接触作用下的菌胎直径

Table 9 Bacterial lawn diameter affected by direct contacting of different concentrations of peppermint oil and fruit pathogenic bacteria cm

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$					
	对照	100	200	300	400	500
链格孢霉	5.50	5.14±0.04	4.33±0.05	3.26±0.12	1.77±0.07	0.71±0.06
扩展青霉	3.50	1.77±0.07	1.47±0.05	0.82±0.05	0.56±0.04	0.50±0
酸腐菌	5.50	3.45±0.07	2.05±0.06	1.25±0.07	0.52±0.02	0.50±0

表 10 薄荷精油直接接触作用抑菌率

Table 10 Antimicrobial activity of direct contacting of peppermint oil and fruit pathogenic bacteria %

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$				
	100	200	300	400	500
链格孢霉	6.55	21.27	40.73	67.82	87.09
扩展青霉	49.43	58.00	76.57	84.00	85.71
酸腐菌	37.27	62.73	77.27	90.55	90.91

表 11 不同体积分数的葡萄籽精油对 3 种测试菌的直接接触作用下的菌胎直径

Table 11 Bacterial lawn diameter affected by direct contacting of different concentrations of grape seed oil and fruit pathogenic bacteria cm

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$					
	对照	100	200	300	400	500
链格孢霉	5.50	5.44±0.05	5.39±0.04	5.40±0.05	5.42±0.02	5.39±0.04
扩展青霉	3.50	2.51±0.06	2.10±0.11	1.81±0.04	1.39±0.04	1.30±0.03
酸腐菌	5.50	4.88±0.04	4.86±0.05	4.87±0.05	4.84±0.04	4.79±0.04

表 12 葡萄籽精油直接接触作用抑菌率

Table 12 Antimicrobial activity of direct contacting of grape seed oil and fruit pathogenic bacteria %

测试菌种	体积分数/ $(\mu\text{L/L})$				
	100	200	300	400	500
链格孢霉	1.09%	2.00%	1.82%	1.45%	2.00%
扩展青霉	28.29%	40.00%	48.29%	60.29%	62.86%
酸腐菌	11.27%	11.64%	11.45%	12.00%	12.91%

通过表 12 发现, 葡萄籽精油对链格孢霉和酸腐菌的抑菌率都比较低, 基本没有抑菌作用。而对于扩展青霉, 在体积分数为 100 $\mu\text{L/L}$ 时就已明显受到抑制, 当体积分数达到 500 $\mu\text{L/L}$ 时, 抑菌率达到

62.86%。

2.3 孢子萌发实验结果分析

下表为在 3 种体积分数梯度的薄荷精油作用下链格孢霉孢子的出芽率情况。

表 13 3 种体积分数梯度的薄荷精油作用下链格孢霉孢子的出芽率

Table 13 Germination rate affected by direct contacting of peppermint oil and alternaria alternata

体积分数/($\mu\text{L/L}$)	出芽率/%
对照	100 \pm 0
100	98.80 \pm 1.30
300	33.80 \pm 4.60
500	8.60 \pm 1.81

由表 13 可以看出,随着薄荷精油体积分数的升高,孢子萌发率随之降低,芽管长度也随之变短。对照组的链格孢霉孢子在培养 12 h 后,绝大多数的孢子均已萌发,芽管长度较长,并且相互缠绕。在含有 300 $\mu\text{L/L}$ 的薄荷精油的培养基中,链格孢霉孢子萌发率为 33.80%,在含有 500 $\mu\text{L/L}$ 的薄荷精油的培养基中,链格孢霉孢子的萌发率仅为 8.60%。

3 结 语

经过采用 1~5 $\mu\text{L/L}$ 的薰衣草精油,薄荷精油和葡萄籽精油对链格孢霉,扩展青霉,酸腐菌进行滤

纸熏蒸实验和 100~500 $\mu\text{L/L}$ 3 种精油对以上 3 种病原菌的直接接触实验研究,5 $\mu\text{L/L}$ 的薄荷精油滤纸熏蒸和 500 $\mu\text{L/L}$ 薰衣草精油直接接触对链格孢霉的抑菌率可分别高达 90.36%和 90.18%,这两种处理方式是对链格孢霉的作用效果极强;而 500 $\mu\text{L/L}$ 的薄荷精油对扩展青霉的直接接触抑菌率也达 85.71%,抑菌效果也很不错;500 $\mu\text{L/L}$ 薰衣草精油和薄荷精油对酸腐菌的直接接触抑菌率都高达 90.91%,相同体积分数的这两种精油的对酸腐菌的抑制作用也很强。此外,在孢子萌发试验中,500 $\mu\text{L/L}$ 的薄荷精油几乎完全抑制了链格孢霉的萌发,且显微照片显示,萌发的孢子芽管生长畸形,容易折断。实验也证明了高浓度的薄荷精油一方面会抑制链格孢霉孢子萌发,另一方面,它还会使链格孢霉孢子畸形生长,且生长过程中容易折断,由此,作者推测,植物精油在抑制病原菌生长的过程中,一方面抑制新生孢子的萌发,另一方面使已经萌发的孢子生长畸形,并导致孢子在生长过程中因芽管折断而死亡。总而言之,植物精油确实有抑菌性和抗菌广谱性。

参考文献:

[1] LI Jianrong, ZHU Danshi. Research progress of new postharvest technology on fruits and vegetables[J]. *Journal of Food Science and Biology*, 2012(4): 337-347. (in Chinese)

[2] 冯武. 植物精油对果蔬采后病害的防治及其防治机理的研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2006.

[3] 李鹏霞. 两种植物精油对采后水果的保鲜作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.

[4] LI Yue, HOU Binbin, ZHAO Jing. The study of antibacterial activity of the citrus essential oil [J]. *Food Research and Development*, 2011, 6.35(6): 190-192. (in Chinese)

[5] MIREGUI Yimamu, YU Xiong, Ayiguli, et al. Study on antimicrobial activity of the three plant essential oils [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48(6): 1044-1048. (in Chinese)

[6] YANG Xiaojun, NI Hanwen, YANG Lijun, et al. A novel bioassay method-determining the bioactivity of chemical compounds to cucumber powdery mildew by spore germination[J]. *Plant Protection*, 2007, 33(1): 75-77. (in Chinese)

[7] KIM J, MARSHALL M R, WEI C. Antibacterial activity of some essential oil components against foodborne pathogens[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43: 2839-2845.

[8] LAMBERT R J W, SKANDAMIS P N, COOTE P, et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol[J]. *Applied Microbiology*, 2001, 91: 453-462.

[9] CONNER D E. Naturally occurring compounds. In: Davidson P M, Branan A L (Eds.), *Antimicrobials in Foods* [M]. Marcel Dekker, New York, NY, USA, 1993, 441-468.

[10] DORMAN H J D, DEANS S G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils [J]. *Applied microbiology*, 2000, 88: 308-316.

[11] COWAN M M. Plant products as antimicrobial agents[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 12: 564-582.

[12] HAMMER K A, CARSON C F, RILEY T V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts [J]. *Applied microbiology*, 1999, 86: 985-990.