

松针提取物对柑橘青霉菌的抑制作用及活性成分分析

杨书珍¹, 蒋丹丹¹, 范刚¹, 张强¹, 李敏¹, 程运江², 彭丽桃¹

(1. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070) (2. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北武汉 430070)

摘要: 本试验研究了马尾松松针提取物对柑橘青霉菌意大利青霉的抑制作用及其活性成分。采用孢子萌发的方法测定了马尾松不同溶剂提取物对意大利青霉抑制作用, 结果表明马尾松松针提取物的抑菌活性因提取溶剂的极性而异, 其强弱顺序依次是乙酸乙酯提取物>乙醇提取物>二氯甲烷提取物>水提取物>石油醚提取物; 选取乙酸乙酯提取物进行气质联用分析, 发现样品中主要包括 α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、 β -石竹烯、苈烯、 β -萜荜澄茄油烯等 20 种化学成分。其中含量最多的 α -蒎烯和 β -蒎烯抑制柑橘青霉菌的活性最强, 是马尾松松针抑制柑橘青霉菌的主要活性成分; 其次为月桂烯; 苈烯、罗勒烯、3-萜烯、 β -石竹烯对柑橘青霉菌的孢子抑制作用最弱。因此, α -蒎烯和 β -蒎烯作为安全、高效的熏蒸型柑橘采后抑菌剂具有进一步研究与开发的意义。

关键词: 马尾松松针; 柑橘青霉菌; 抑菌活性; 气质联用; 活性成分

文章编号: 1673-9078(2016)1-65-69

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.010

Analysis of the Antifungal Activity of Pine Needle Extracts and Their Active Components against Citrus Blue Mold

YANG Shu-zhen¹, JIANG Dan-dan¹, FAN Gang¹, ZHANG Qiang¹, LI Min¹, CHENG Yun-jiang², PENG Li-tao¹

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

(2.College of Horticultural and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Antifungal activity of the active components of extracts from the pine needles of *Pinus massoniana* against citrus blue mold (*Penicillium italicum*) were studied by using spore germination based assay. The results demonstrated that extraction solvents with different polarities caused differences in the antifungal activities of the extracts from pine needles of *Pinus massoniana*, and the extent of the antifungal activity of these extracts were in the following order: ethyl acetate extract, ethanol extract, dichloride methane extract, water extract, and petroleum ether extract. Twenty major chemical components were identified in the ethyl acetate extract by gas chromatography mass spectrometry (GC/MS), including α -pinene (28.73%), β -pinene (24.72%), β -myrcene (1.44%), β -caryophyllene (8.06%), camphene (1.63%), and β -cubebene (4.79%). The most prevalent components, α -pinene and β -pinene, exhibited the strongest antifungal activities against *Penicillium italicum* and were the main active components in *Pinus massoniana* against *Penicillium italicum*, followed by β -myrcene. Camphene, 3-carene, ocimene, and β -caryophyllene exhibited the weakest inhibitory effects on the spores of *Penicillium italicum*. Therefore, α -pinene and β -pinene are of significance for further study and development as safe and effective fumigants for the storage of citrus fruits after harvest.

Key words: pine needles of *Pinus massoniana*; citrus blue mold; antifungal activity; gas chromatography mass spectrometry (GC/MS); active components

柑橘为芸香科柑橘亚科(*Rutaceae*)柑橘属(*Citrus L.*)植物, 是世界上产量最大的水果, 我国柑橘种植面积和产量位居世界前列^[1]。由柑橘青霉菌意大利青霉

收稿日期: 2015-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(314633712)

作者简介: 杨书珍(1971-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为果蔬贮藏保鲜

通讯作者: 彭丽桃(1974-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为果蔬贮藏与保

鲜

霉(*Penicillium italicum*)侵染引起的柑橘青霉病是柑橘果实采后重要病害之一, 给柑橘生产造成严重的经济损失。目前, 生产上主要通过采后化学杀菌剂处理控制柑橘采后病害。但由于化学杀菌剂在生产上长期大量的使用, 病原菌抗药性日益严重, 致使杀菌剂的使用量大幅度上升, 从而引发食品安全、农药残留、环境污染等问题^[2]。寻找安全、高效、环境友好的柑橘采后抗菌剂对于柑橘贮藏过程中的安全生产具有

重要意义。

作为传统的柑橘保鲜方法,松针保鲜法在民间已经沿用了数百年,目前在湖北、湖南、江西等地部分橘农依然采用^[3]。实践证明松针能有效控制柑橘果实的腐烂,尤其对柑橘青、绿霉病的防治效果显著。但该保鲜方法对松针需求量大,操作繁琐,难以大面积推广应用,研究松针防腐保鲜柑橘的原理,对于开发安全高效的柑橘防腐保鲜新方法具有重要意义。近年来研究发现,松针水提取物和乙醇提取物对食品病原微生物大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌等表现出良好的抑菌效果^[4]。松针精油是松针的重要活性成分,不仅可以有效抑制医学病原菌肺炎链球菌、流感嗜热杆菌、无乳链球菌、白色念珠菌等的生长^[5],同时对食品病原菌大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、八叠球菌、变形杆菌等有广谱的抑制作用^[6]。这些结果暗示松针提取物作为天然抑菌剂具有潜在的研究和开发价值。但目前有关松针提取物抑制柑橘意大利青霉作用的研究尚未见有报道,研究松针提取物抑制意大利青霉的作用及活性成分,对于明确松针保鲜柑橘的原理及新型安全高效的柑橘采后防腐保鲜剂的发现具有重要意义。因此,本文研究不同极性溶剂马尾松针提取物对柑橘意大利青霉的抑制作用,通过 GC-MS 分析有效提取物的化学成分并评价主要化学成分的抑菌活性,明确马尾松松针中抗柑橘意大利青霉的活性成分,为进一步揭示松针防腐保鲜柑橘的原理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 原料

松针于 2012 年 8 月从华中农业大学校园(东经

$$\text{孢子萌发抑制率}(\%) = \frac{\text{对照孢子萌发率} - \text{处理孢子萌发率}}{\text{对照孢子萌发率}} \times 100\%$$

1.2.2.2 松针提取物主要挥发性活性成分对意大利青霉抑制作用

取 10 mL 配制好的 PDA 培养基倒在灭菌载玻片上涂布均匀,待培养基凝固之后,接种 400 μL 1×10^6 cfu/mL 意大利青霉孢子悬液,然后将接菌的载玻片放置于培养皿中,在培养皿的盖中央用双面胶贴一个直径为 1 cm 的圆形滤纸片,分别加入不同剂量的挥发成分后迅速用封口膜密封,于 SPX-150BIII 生化培养箱中 25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 10 h 后,显微镜下观察孢子萌发状况并拍照,按上述方法计算孢子萌发抑制率。

1.2.3 马尾松松针乙酸乙酯提取物的化学成分

114 度 22 分,北纬 30 度 29 分)采集,经本校植物学专家赵毓鉴定确认为马尾松松针。选择

1.1.2 试剂

α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -石竹烯、罗勒烯、茨烯、萜烯、月桂烯购自阿拉丁化学试剂有限公司;葡萄糖、琼脂、乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚国药集团化学试剂有限公司,所有试剂均为分析纯。

1.1.3 供试菌

柑橘青霉菌意大利青霉(*P. italicum*)从腐烂柑橘果实上分离纯化,并经接种在健康果实上表现典型症状验证,菌种保存于实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 松针不同溶剂提取物的制备

取新鲜松针 100 g,切碎并搅拌至丝状,用 500 mL 提取溶剂(水、石油醚、95%乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯)浸提 24 h,过滤取上清液。将残渣继续用以上步骤反复浸提,至滤液为无色,收集滤液备用。将滤液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 真空条件下旋转蒸发,冷冻干燥,备用。

1.2.2 松针提取物及其主要挥发性成分对柑橘意大利青霉的抑制作用

1.2.2.1 不同溶剂松针提取物对柑橘意大利青霉抑制作用

将不同溶剂松针提取物分别配制成一系列不同药液浓度的 10% 乙醇溶液,取 0.5 mL 松针提取液,溶于 9.5 mL 的 PDA 培养基中,混合均匀。将混合后的含药培养基倒在灭菌的载玻片上涂布均匀,待培养基凝固之后,接种 400 μL 1×10^6 cfu/mL 意大利青霉孢子悬液,然后将接菌载玻片置于培养皿中,采用 parafilm 封口膜封口,于 SPX-150BIII 生化培养箱中 25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 10 h 后,显微镜观察孢子萌发情况并拍照,计算孢子萌发抑制率。

分析

采用安捷伦气质联用仪(Agilent 6890N/5975MSD)分析。气相色谱条件:载气为高纯氦气,柱流量为 1.0 mL/min,进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,分流比 10:1。升温程序:起始温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,然后以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升到 240 $^{\circ}\text{C}$;进样量为 1 μL 。质谱条件:传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,电离方式 EI,电子能量 70 eV,质量扫描范围 35-450 m/z。采用 Wiley7n.L 标准谱库进行检索,同时通过面积归一法从总离子流图中计算各成分的相对百分含量。

1.2.4 数据分析

所有实验重复三次,数据以平均值±标准偏差表示,采用 SAS 软件计算挥发性成分抑制柑橘意大利青霉的 EC₅₀ 值和 EC₉₀ 值。

2 结果与讨论

2.1 马尾松松针不同溶剂提取物对柑橘意大利青霉抑制作用

松针的生物活性与其所含的化学成分有密切关系,而提取溶剂的选择对松针提取物的化学成分有重要影响。因此本试验分别评价了 5 种不同极性有机溶剂提取物的抑菌活性。结果如图 1 所示,不同溶剂提取物对意大利青霉孢子萌发表现出不同的抑制作用。其中乙酸乙酯提取物对病菌孢子萌发的抑制作用最强,且具有显著的浓度效应;其次为乙醇提取物和二氯甲烷提取物;石油醚提取物对意大利青霉表现出一定的抑菌活性。水提取物对该菌未表现显著抑制作用,在浓度高于 100 mg/L 时,提取物甚至有一定促进作用。前人研究发现,松针提取物对微生物的抑制作用与松针品种、提取溶剂及微生物的种类等因素关系密切。马尾松针 75%乙醇提取液对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、酵母菌的抑制效果优于水提液;而对大肠杆菌、八叠球菌、变形杆菌的抑制效果低于水提液^[6]。松针提取物中所含化学成分因提取溶剂而异,微生物对不同提取物所含化学成分的敏感性不同,本试验结果表明柑橘意大利青霉对马尾松松针乙酸乙酯提取物中的化学成分更敏感。

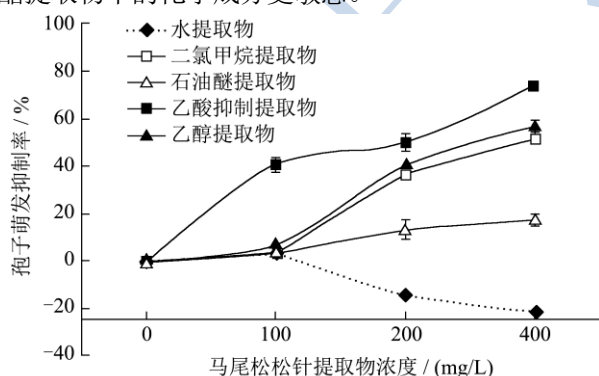


图 1 马尾松松针不同极性溶剂提取物对意大利青霉孢子萌发抑制作用

Fig.1 Inhibitory effects of Mason pine needle extracts obtained using five solvents of different polarities on the spore germination of *Penicillium italicum*

2.2 马尾松松针乙酸乙酯提取物 GC/MS 分析

由于在 5 种不同溶剂提取物中,马尾松松针乙酸

乙酯提取物的抑菌活性最强,暗示其含有的抑菌活性成分最多。为了明确马尾松松针中抑制柑橘青霉病菌的活性成分,本试验通过 GC/MS 技术对马尾松松针乙酸乙酯提取物的组成成分进行分析。

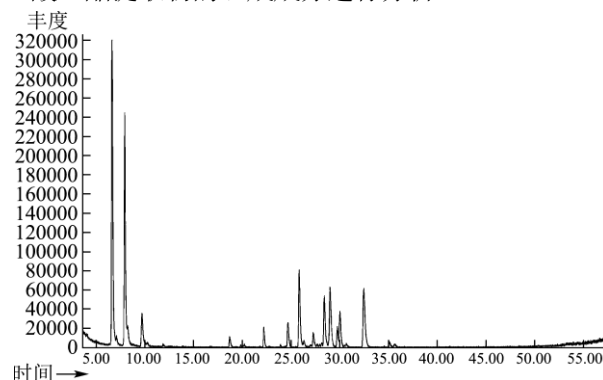


图 2 马尾松松针乙酸乙酯提取物的气相色谱图

Fig.2 Gas chromatogram of ethyl acetate extract of Mason pine needles

表 1 马尾松针乙酸乙酯浸提物中化学成分

Table 1 Chemical constituents identified in ethyl acetate extract of Mason pine needles

序号	保留时间 /min	化合物名称	分子式	质量分数 w/%
1	6.640	a-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	28.73
2	7.010	3-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	0.06
3	7.936	β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	24.72
4	8.271	β-月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	1.44
5	9.686	3-亚甲基-6-(1-甲基乙基)环己烯	C ₁₀ H ₁₆	1.06
6	18.875	罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	0.02
7	22.211	蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	1.63
8	25.836	β-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	8.06
9	26.248	a-长叶蒎烯	C ₁₅ H ₂₄	0.15
10	26.318	a-法尼烯	C ₁₅ H ₂₄	0.15
11	27.267	a-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	1.33
12	28.110	长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	0.06
13	28.197	巴伦西亚橘烯	C ₁₅ H ₂₄	0.25
14	28.412	β-萜澄茄油烯	C ₁₅ H ₂₄	4.79
15	30.669	异长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	0.19
16	32.758	香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	0.11
17	35.039	γ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	0.15
18	35.078	瓦伦亚烯	C ₁₅ H ₂₄	0.17
19	35.124	β-古芸烯	C ₁₅ H ₂₄	0.08
20	52.785	D-山梨糖醇六乙酸酯	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₂	0.06

本试验从马尾松松针乙酸乙酯提取物中鉴定出 20 种化合物,19 种化合物为萜烯类化合物,1 种化合物为酯类物质。其中含量最高的化学成分为 a-蒎烯

(28.73%)、 β -蒎烯(24.72%); α -蒎烯和 β -蒎烯存在于松、柏、肉桂、桂枝、青翘、薄荷、柑橘等多种植物挥发油中, 在松、柏类植物的挥发油中含量丰富, 如北美乔松精油中 β -蒎烯的含量可达 45.7%, 产自伊朗的希腊杜松精油中 α -蒎烯达到 67.71%^[7-8]。其次为 β -石竹烯(8.06%)、 β -萜澄茄烯(4.79%)、 β -月桂烯(1.44%)、 α -蒎烯(1.63%)、 α -石竹烯(1.33%)、3-亚甲基-6-(1-甲基乙基)环己烯(1.06%)等; 此外, 提取物中还有微量的 α -法尼烯, 巴伦西亚橘烯, γ -杜松烯, β -古芸烯和 D-山梨糖醇六乙酸酯等。

2.3 马尾松松针乙酸乙酯提取物中主要化学成分抑菌活性分析

本试验进一步选取了乙酸乙酯提取物中 7 种主要化学成分, 并测定了这些化学成分对柑橘意大利青霉菌孢子萌发的抑制作用, 并计算出各自的 EC_{50} 值和 EC_{90} 值。结果如表 2 所示, 7 种挥发性成分均对柑橘意大利青霉菌孢子萌发均表现出抑制作用, 其中, α -蒎烯和 β -蒎烯的抑制作用最强, 其 EC_{50} 值和 EC_{90} 值分别为 55.90 $\mu\text{L/L}$ 、114.72 $\mu\text{L/L}$ 和 66.07 $\mu\text{L/L}$ 、120.86 $\mu\text{L/L}$ 。已有研究发现富含蒎烯的植物精油具有广谱的抑菌特性, 4 种鼠尾草精油(含 15.7~34.8% α -蒎烯和 6.7-13.5% β -蒎烯)对耐药性金黄色葡萄球菌具有的强烈抑制作用, 对大肠杆菌、表皮葡萄球菌等也表现中等抑菌活性^[9]。*Ferulago angulata* 种子精油(含 76.1% α -蒎烯)对金黄色葡萄球菌和李斯特菌的最小抑菌浓度(MIC)为 15 $\mu\text{g/mL}$ 和 137 $\mu\text{g/mL}$ ^[10]。富含蒎烯的精油对医学致病真菌有很强活性, 如亚历山大草精油(31.9% α -蒎烯)对热带念珠菌、絮状表皮癣菌、烟曲霉等十多种皮肤真菌 MIC 值均在 0.32~0.64 $\mu\text{L/mL}$ 之间, 表现良好抑菌效果^[11]; 红松松针精油(含 α -蒎烯 23.89%, β -蒎烯 12.02%)对光滑假丝酵母和新型隐球菌抑制作用尤为显著。在防治采后果实腐烂方面, 精油也有很强的抑菌作用, 如蜡菊属叶精油(α -蒎烯 46.4%)、孜然精油(β -蒎烯 20.1%)对草酸青霉菌、灰葡萄孢、匍枝根霉和黑曲霉表现良好的抑制效果, 能有效控制薯蓣、草莓等果实的腐烂, 效果甚至优于杀菌剂噻菌灵^[12]。但目前多数有关蒎烯的研究集中在富含蒎烯精油的抑菌活性评价上, 对于 α -蒎烯和 β -蒎烯单体的抑菌活性尤其是对柑橘意大利青霉菌抑制作用尚未见报道, 本试验研究表明, 在马尾松松针乙酸乙酯提取物主要挥发性成分中, α -蒎烯和 β -蒎烯对柑橘意大利青霉菌表现抑菌活性最强, 在低浓度下即能达到显著的抑菌效果, 应该是松针防腐保鲜柑橘

的重要原因。

月桂烯、蒎烯、罗勒烯、3-萜烯、 β -石竹烯等是马尾松松针乙酸乙酯提取物中含量仅次于 α -蒎烯和 β -蒎烯主要挥发性成分。月桂烯是无环单萜类化合物, 含 13.29% 月桂烯的水杉挥发油对食源性病菌李斯特菌表现很强的活性, 而对黄曲霉没有明显的抑制效果^[13]。乙酸乙酯提取物主要挥发性成分中, 月桂烯对意大利青霉菌具有中等的抑制作用, 其 EC_{50} 值和 EC_{90} 值分别为 242.25 $\mu\text{L/L}$ 和 492.25 $\mu\text{L/L}$; 而蒎烯、罗勒烯、3-萜烯, β -石竹烯对意大利青霉菌也表现出一定的抑制作用, EC_{50} 值和 EC_{90} 的范围分别为 476.00~674.33 $\mu\text{L/L}$ 和 920.44~1341 $\mu\text{L/L}$ 。含 80.4% β -萜澄茄油烯的 *Myracrodruon urundeuva* 乙醇提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用也很微弱^[14], 这与本试验中其对柑橘意大利青霉菌抑制作用的结果相一致。目前对于蒎烯、 β -石竹烯抑菌活性的报道尚少, 本试验中蒎烯在一定程度上能够抑制柑橘意大利青霉菌孢子萌发, 而 β -石竹烯抑制活性最弱, EC_{50} 值和 EC_{90} 值分别达到 674.33 $\mu\text{L/L}$ 和 1341.00 $\mu\text{L/L}$, 因此, 蒎烯、罗勒烯、3-萜烯、 β -石竹烯可能不是马尾松松针抑菌的主要活性成分。

表 2 马尾松松针乙酸乙酯提取物中 7 种主要挥发性成分对意大利青霉菌的抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of seven main volatile components in ethyl acetate extract of Mason pine needles on *P. italicum*

挥发成分	$EC_{50}/(\mu\text{L/L})$	$EC_{90}/(\mu\text{L/L})$
蒎烯	521.83	1188.50
月桂烯	242.25	492.25
β -石竹烯	674.33	1341.00
α -蒎烯	55.90	114.72
β -蒎烯	66.07	120.86
罗勒烯	476.00	920.44
β -萜澄茄油烯	532.67	1199.33

3 结论

通过本试验的研究表明, 马尾松松针乙酸乙酯提取物对柑橘意大利青霉菌表现出显著的抑制作用, 其次为乙醇提取物, 二氯甲烷提取物和石油醚提取物有一定抑菌活性, 水提取物没有表现出显著的抑制作用。 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -石竹烯、3-萜烯、 β -月桂烯、蒎烯和 α -石竹烯等是乙酸乙酯提取物的主要成分。其中 α -蒎烯和 β -蒎烯对柑橘意大利青霉菌的抑菌作用最强, 推测是马尾松松针的活性抑菌成分。其作为安全、高效的熏蒸型柑橘采后抑菌剂, 具有进一步研究和开发价值。

参考文献

- [1] 李世忠,黄建国,李治玲,等.柑橘皮渣降解菌的筛选及特性[J].食品科学,2014,35(23):188-192
LI Shi-zhong, HUANG Jian-guo, LI Zhi-ling, et al. Screening of two bacterial strains capable of degrading citrus pomace and their characteristics [J]. Food Science, 2014, 35(23): 188-192
- [2] 周梦娇,万春鹏,陈金印.柑橘绿霉病中草药高效抑制剂的筛选及抑菌机理研究[J].现代食品科技,2014,30(3):144-150
ZHOU Meng-jiao, WAN Chun-peng, CHEN Jin-yin. Screening and antifungal mechanism of Chinese herb extracts against green mold of citrus [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(3): 144-150
- [3] 池广友,方修贵,黄振东.浙江省柑橘保鲜及商品化现状、存在问题和发展方向[J].浙江柑橘,2007,24(3):2-4
CHI Guang-you, FANG Xiu-gui, HUANG Zhen-dong. Advance of citrus preservation and marketing in Zhejiang [J]. Zhejiang Citrus, 2007, 24(3): 2-4
- [4] Zeng WC, He Q, Sun Q, et al. Antibacterial activity of water-soluble extract from pine needles of *Cedrus deodara* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 153(1-2): 78-84
- [5] Karapandzova M, Stefkov G, Cvetkovikj I, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pinus peuce* (Pinaceae) growing wild in R. Macedonia [J]. Natural Product Communications, 2014, 9(11): 1623-1628
- [6] Yang VW, Clausen CA. Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine [J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2007, 59(4): 302-306
- [7] 曹侃,张爽,翁泽斌,等.皖南地区常见松针抑菌效果研究[J].荆楚理工学院学报,2014,29(4):20-26
CAO Kan, ZHANG Shuang, WENG Ze-bin, et al. On the screening research of effective bacteriostatic parts of the common pine needle in southern area of Anhui province [J]. Journal of Jinchu University of Technology, 2014, 29(4): 20-26
- [8] Amri I, Lamia H, Gargouri S, et al. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Pinus patula* [J]. Natural Product Communications, 2011, 6(10): 1531-1536
- [9] Cabral C, Francisco V, Cavaleiro C, et al. Essential oil of *Juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) Celak needles: chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity [J]. Phytotherapy Research, 2012, 26(9): 1352-1357
- [10] Ozek G, Demirci F, Ozek T, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatiles obtained by four different techniques from *Salvia rosfolia* Sm., and evaluation for biological activity [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(5): 741-748
- [11] Taran M, Ghasempour HR, Shirinpour E. Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum* [J]. Jundishapur Journal of Microbiology, 2010, 3(1): 10-14
- [12] Marongiu B, Piras A, Porcedda S, et al. Antifungal activity and chemical composition of essential oils from *Smyrniolus olusatrum* L. (Apiaceae) from Italy and Portugal [J]. Natural Product Research, 2012, 26(11): 993-1003
- [13] Francois T, Lambert SM, Michel JDP, et al. Composition, radical scavenging and antifungal activities of essential oils from 3 *Helichrysum* species growing in Cameroon against *Penicillium oxalicum* a yam rot fungi [J]. African Journal of Agricultural Research, 2010, 5(2): 121-127
- [14] Bajpai VK, Kang SC. Potential role of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* spp [J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 35(3): 289-302
- [15] Figueredo FG, Lucena BFF, Tintino SR, et al. Chemical composition and evaluation of modulatory of the antibiotic activity from extract and essential oil of *Myracrodruon urundeuva* [J]. Pharmaceutical Biology, 2014, 52(5): 560-565