

芳樟醇对大肠杆菌的抑菌作用机制

郭俸钰, 陈文学, 陈海明, 云永欢, 陈卫军, 钟秋平

(海南大学食品科学与工程学院, 海南海口 570228)

摘要: 源于天然植物中的芳樟醇具有抗菌作用, 但其对食源性致病细菌的作用机制还不清楚。通过研究芳樟醇处理后大肠杆菌的形态、细胞内容物和 ATP 的变化, 初步探究芳樟醇对大肠杆菌的抑菌机制, 结果表明: 芳樟醇对大肠杆菌有较好的抗菌活性, 生长曲线结果显示 $1\times\text{MIC}$ 、 $2\times\text{MIC}$ 大肠杆菌生长完全受到抑制。细胞形态观察结果表明, 膜电位下降近 85%, 胞内蛋白相较最初泄露达到 $238.64\text{ }\mu\text{g/mL}$, 核酸相较最初泄露近 81%, ATP 含量下降至 $18.46\text{ }\mu\text{mol/L}$, 表明该抑制作用首先是从细胞膜开始的, 芳樟醇的疏水作用使其聚集在细胞膜上, 影响细胞膜的结构和功能, 使细胞膜通透性增大, 细胞内容物丢失, ATP 含量下降, 细胞功能异常, 导致细胞死亡。芳樟醇具有显著抑菌效果, 有望开发出一种新型天然抗菌剂。

关键词: 芳樟醇; 大肠杆菌; 抑菌机制; ATP

文章编号: 1673-9078(2020)04-113-118

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.015

Antibacterial Mechanism of Linalool against *Escherichia coli*

GUO Feng-yu, CHEN Wen-xue, CHEN Hai-ming, YUN Yong-huan, CHEN Wei-jun, ZHONG Qiu-ping

(College of Food Sciences & Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Linalool is derived from natural plants and has an antibacterial effects, although its mechanism of action against food-borne pathogenic bacteria remains unclear. The antibacterial mechanism of linalool against *Escherichia coli* was studied through examining the changes in morphology, cell contents and ATP of *E. coli* induced by the linalool treatment. The results showed that linalool exhibited good antibacterial activity against *E. coli*, and according to the growth curve, the growth of *E. coli* at $1\times\text{MIC}$ and $2\times\text{MIC}$ was completely inhibited. The results of cell morphology observations showed that the membrane potential decreased by almost 85%, with the intracellular protein leaked up to $238.64\text{ }\mu\text{g/mL}$, the nucleic acid leaked almost 81%, and the ATP content decreasing to $18.46\text{ }\mu\text{mol/L}$. These results indicated that the inhibition started from the cell membrane. The hydrophobic effect of linalool enabled it to aggregate on the cell membrane, thereby affecting the structure and function of the cell membrane: increasing the permeability of the cell membrane, losing cell content, decreasing ATP content, causing cell dysfunction and cell death. Linalool has a remarkable antibacterial effect, and a new natural antibacterial agent is expected.

Key words: linalool; *Escherichia coli*; antibacterial mechanism; ATP

引文格式:

郭俸钰,陈文学,陈海明,等.芳樟醇对大肠杆菌的抑菌机制研究[J].现代食品科技,2020,36(4):113-118

GUO Feng-yu, CHEN Wen-xue, CHEN Hai-ming, et al. Antibacterial mechanism of linalool against *Escherichia coli* [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 113-118

芳樟醇, 别名里那醇, 属于链状萜烯醇类, 有 R-和 S-两种对映体。无色液体, 具有铃兰香气, 它是香水、清洁去污产品中使用频率最高的香料, 也可用作食用香精以及工业生产中的重要中间体。除此之外, 诸多体内外实验研究表明芳樟醇具有镇痛、抗焦虑、镇静催眠、抗炎、抗肿瘤、抗菌等活性, 在医药、食

收稿日期: 2019-09-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31760480)

作者简介: 郭俸钰 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然抗菌剂的研究与开发

通讯作者: 钟秋平 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然抗菌剂的研究与开发

品领域应用前景十分广阔^[1]。

食品腐败主要是由微生物引起的, 微生物通过各种代谢活动产生不良气味以及有毒代谢产物。兼性病原体引起的食品污染是目前食品工业面临的一个严峻挑战^[2]。大肠杆菌是变形杆菌门和肠杆菌科革兰氏阴性兼性厌氧菌, 可引起严重腹泻和败血症, 是一种常见的食源性致病菌^[3]。大肠杆菌传播途径广泛, 牛肉、鸡肉、牛奶、奶制品等动物来源食物是其经食物传播的主要因素, 另外蔬菜、水果等被大肠杆菌污染也容易造成疾病。

目前, 食品防腐主要是通过添加化学合成的防腐剂来实现的, 但是化学合成的防腐剂具有一定毒性。

出于对化学合成防腐剂安全问题的担心,人们对天然植物精油的防腐功能产生了浓厚的兴趣,并在食品防腐保鲜方面进行了广泛研究^[4-6]。芳樟精油是从樟属植物樟树枝、叶提取获得的精油^[7],是一混合物,其成分复杂且芳樟醇含量较低,对大肠杆菌、肠沙门氏菌、葡萄球菌和链球菌等病原体具有一定的抑制作用^[8,9],推测其抑菌成分主要是芳樟醇。而对高纯度芳樟醇抑菌机理的研究鲜见文献报道。因此,本研究以高纯度的芳樟醇为试材,大肠杆菌为模式菌株,通过对大肠杆菌的生长、细胞形态、膜电位、胞内蛋白含量、核酸泄露量及 ATP 含量的研究,旨在探究芳樟醇对大肠杆菌的抑菌机制,以期开发芳樟醇天然防腐剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株及试剂

大肠杆菌(ATCC8739),广东省微生物菌种保藏中心;芳樟醇 $\geq 99\%$,海南康馥纳生物有限公司;营养肉汤培养基,北京陆桥生物技术有限责任公司;琼脂、无菌磷酸盐缓冲液(PBS),北京索莱宝科技有限公司;二甲基亚砜(DMSO),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;ATP 含量测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;罗丹明 123,上海源叶生物科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

SP-Max3500FL 型多功能酶标仪,上海闪谱生物科技有限公司;Christ Alpha1 型冷冻干燥机,德国 Marin Christ 公司;GI54DS 型高压灭菌锅,致微仪器有限公司;S-3000 型扫描式电子显微镜,日本日立(Hitachi)工机有限公司;JYD-650L 型超声波细胞粉碎机,上海五相仪器仪表有限公司;SPX-288 型生化培养箱,宁波江南仪器厂;TU1810 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;SW-CJ-1FD 型无菌超净工作台,苏州佳宝净化工程设备有限公司;SHA-2 型恒温振荡器,常州澳华仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株活化

大肠杆菌接种至营养琼脂培养基中,37℃,180 r/min 传代活化 18~24 h,将培养后的菌株用 0.9%的生理盐水冲洗形成菌悬液,采用麦氏比浊法调整菌液浓度至 $1 \times 10^5 \sim 10^6$ CFU/mL 后待用。

1.2.2 最小抑菌浓度(MIC)测定

参照 Filomena S 等人^[10]的方法,并略作调整。用

1% DMSO 将芳樟醇稀释至 25、50、100、200 $\mu\text{L/mL}$ 待用。分别取 2 mL 不同浓度的抑制液加入平板中,再将 18 mL 冷却至 50℃的营养琼脂培养基倒入平板中混匀,使芳樟醇终浓度为 2.5、5、10、20 $\mu\text{L/mL}$ 。并以加入 2 mL 无菌水和 1% DMSO 的平板作为空白对照和阴性对照,待培养基完全凝固之后加入 200 μL 稀释至 $1 \times 10^5 \sim 10^6$ CFU/mL 的大肠杆菌菌悬液,涂布均匀后 37℃倒置培养 24 h 观察,以 24 h 内无肉眼可见菌落形成的最小浓度为该细菌的最小抑菌浓度(MIC)。

1.2.3 生长曲线测定

将培养至对数期的大肠杆菌用 0.9%的生理盐水稀释至 $1 \times 10^5 \sim 10^6$ CFU/mL,按 1% (V/V)的接种量将大肠杆菌菌悬液接种至营养肉汤培养基中,并加入抑菌物质使其终浓度为 $1 \times \text{MIC}$ 、 $2 \times \text{MIC}$,以无菌水和 1% DMSO 为空白和阴性对照,放于 37℃,180 r/min 的恒温摇床中培养,取样间隔为 2 h,将取出的菌液于 600 nm 处测定吸光值,并绘制生长曲线。

1.2.4 扫描电镜(SEM)观察

细胞形态的观察参考 Yi L 等人^[11]的方法并作调整。将经 1.2.1 活化后培养至对数期的大肠杆菌菌悬液加入含有 $1 \times \text{MIC}$ 、 $2 \times \text{MIC}$ 芳樟醇的培养基中,并以无菌水和 1% DMSO 做空白和阴性对照。将培养至 4 h、6 h 的菌液取出,8000 r/min 离心 10 min,弃上清,收集菌体,0.01 mol/L PBS 洗三次,并用 30%、50%、70%、90%的乙醇进行梯度脱水,最后用无水乙醇洗脱三次,将处理后的样品置于-20℃预冷后冷冻干燥 12 h,取出菌体喷金观察。

1.2.5 细胞膜膜电位

膜电位的测定参考张赟彬^[12]的方法并略作修改。将经 1.2.1 活化后培养至对数期的大肠杆菌菌悬液加入含有 $1 \times \text{MIC}$ 、 $2 \times \text{MIC}$ 芳樟醇的培养基中,并以无菌水和 1% DMSO 做空白和阴性对照。将培养 0、2、4、6、8 h 的菌液取出,6000 r/min 离心 10 min,弃上清,收集菌体,0.01 mol/L PBS 洗三次,加入终浓度为 2 $\mu\text{g/mL}$ 的罗丹明 123,避光反应 30 min,将处理后的菌液用 PBS 洗三次,用荧光分光光度计测定吸光度。

1.2.6 胞内蛋白含量测定

采用 BCA 试剂盒测定胞内蛋白含量。将经 1.2.1 活化后培养至对数期的菌悬液加入含有 $1 \times \text{MIC}$ 、 $2 \times \text{MIC}$ 芳樟醇的培养基中,并以无菌水和 1% DMSO 做空白和阴性对照。以 2 h 为取样时间间隔,将取出的菌悬液 6000 r/min 离心 10 min,0.01 mol/L PBS 洗涤三次并重悬,将重悬后的菌体低温超声破碎(功率 300 W,间隔 1.1 s)后,8000 r/min 离心 10 min,取上

清液,用BCA试剂盒测定样品的蛋白含量。

1.2.7 核酸浓度测定

核酸浓度的测定依据 Cui H 等人^[13]的方法并做出调整。将经 1.2.1 活化后培养至对数期的菌悬液 6000 r/min 离心 10 min,弃上清液,取菌体沉淀加入含有 1×MIC、2×MIC 芳樟醇的生理盐水中,并以无菌水和 1% DMSO 做空白和阴性对照。取样时间间隔为 3 h,将取出的菌悬液 6000 r/min 离心 10 min,取上清液于 260 nm 处测定吸光值。

1.2.8 ATP 含量测定

将经 1.2.1 活化后培养至对数期的菌悬液加入含有 1×MIC、2×MIC 芳樟醇的培养基中,并以无菌水和 1% DMSO 做空白和阴性对照。以 2 h 为取样时间间隔,将取出的菌悬液 6000 r/min 离心 10 min,0.01 mol/LPBS 洗涤三次并重悬,将重悬后的菌体低温超声破碎(功率 300 W,间隔 1.1 s)后,8000 r/min 离心 10 min,弃细胞残渣,取上清液,用 ATP 含量测试盒测定 ATP 含量。

1.3 数据处理

所有实验均重复 3 次,数据处理采用 DPS 软件进行差异显著性分析($p<0.05$),绘图采用 Origin 软件。

2 结果与分析

2.1 最小抑菌浓度 (MIC)

表 1 大肠杆菌最小抑菌浓度

Table 1 Minimum inhibitory concentration of *E. coli*

供试菌	对照组		芳樟醇浓度/(mL/L)				
	无菌水	1% DMSO	1.25	2.5	5	10	20
大肠杆菌	+++	+++	+++	+	-	-	-

注: -表示无菌落; +表示有较少菌落; +++表示大量菌落。

由表 1 可知,芳樟醇对大肠杆菌具有显著的抑菌作用,抑菌效果随芳樟醇浓度增大而增加,在芳樟醇浓度为 5 mL/L 时无大肠杆菌菌落生长,而 2.5 mL/L 时有较少菌落生长,所以芳樟醇对大肠杆菌的最小抑菌浓度为 5 mL/L,并且空白组和阴性对照组对大肠杆菌的生长无抑制作用。

2.2 芳樟醇对大肠杆菌生长的影响

菌液中菌体浓度可以由 600 nm 处的吸光值反映,吸光值越大菌体浓度越高,由此可以反映芳樟醇对大肠杆菌的抑制作用。由图 1 可知,空白组和阴性对照组细菌呈现典型的“S”型生长,说明细菌生长状况良好。0.2×MIC 组较空白组和阴性对照组 OD 值增长幅

度明显减小,而 1×MIC、2×MIC 组细菌 OD 值几乎无变化,说明芳樟醇可以有效减缓甚至完全抑制细菌的生长。这与沈妍^[14]的研究结论一致,柑橘精油(含 10.23% 芳樟醇)对大肠杆菌等菌种具有良好抑制作用。

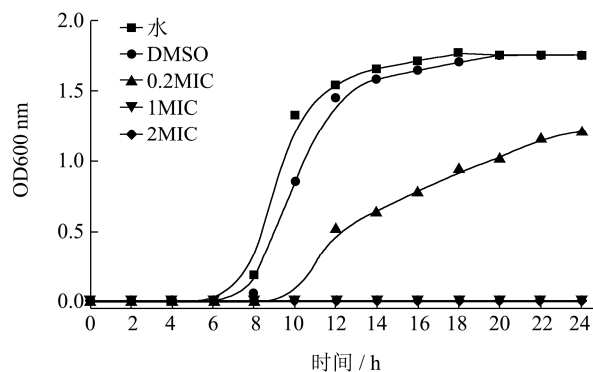


图 1 大肠杆菌生长曲线图

Fig.1 Growth curve of *E. coli*

2.3 芳樟醇对大肠杆菌细胞形态的影响

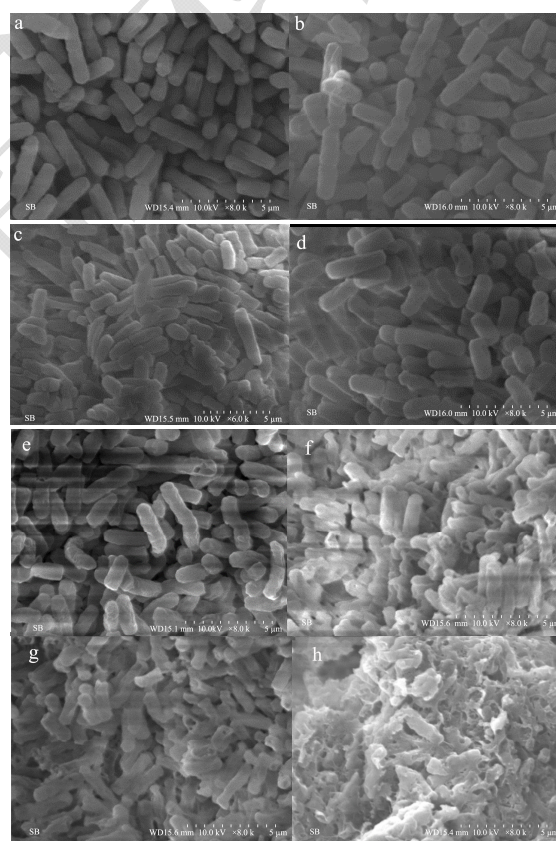


图 2 大肠杆菌扫描电镜图

Fig.2 Scanning electron microscopy of *E. coli*

注: a 无菌水组(4 h); b 无菌水组(8 h); c 阴性对照 1% DMSO 组(4 h); d 阴性对照 1% DMSO 组(8 h); e 1×MIC 组(4 h); f 1×MIC 组(8 h); g 2×MIC 组(4 h); h 2×MIC 组(8 h)。

为了更直观地显示细胞形态,采用扫描电镜对经芳樟醇处理后的大肠杆菌进行形态观察。根据扫描电镜结果图 2 可以看出,无菌水 a、b 组和 1% DMSO c、

d 组大肠杆菌细胞形态正常, 呈两端钝圆的短小杆菌状, 菌体表面平整无皱缩和破损。而经过芳樟醇处理 4 h 后的大肠杆菌 e、g 组菌体表面皱缩或有孔洞出现, 部分粘连, 细胞形态发生明显变化。随着处理时间的增长 f、h 组较 e、g 组细胞破坏更加严重, 皱缩加剧, 孔洞增大, 粘连情况加重。添加 2×MIC 芳樟醇的菌体相较于添加 1×MIC 的菌体呈现出更为严重的破坏情况, 孔洞和坍塌情况更多。有研究表明植物精油(EOs)的抗菌作用可能归因于 EOs 中某些成分可以破坏细胞膜^[15], 改变微生物细胞通透性、干扰细胞能量(ATP)生成系统、破坏质子动力, 抑制细胞功能特性, 导致细胞死亡。另一观点认为 EOs 及其组分由于疏水性, 使得 EOs 能够分离细菌细胞膜的脂质和线粒体, 并在此过程中使细菌细胞变得更具有渗透性从而导致胞内成分泄露并致死细胞^[16-20]。

2.4 芳樟醇对大肠杆菌细胞膜膜电位的影响

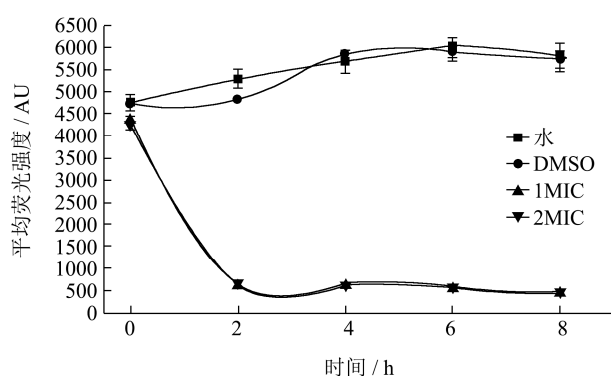


图3 大肠杆菌膜电位

Fig.3 Membrane potential of *E. coli*

膜电位是指细胞膜内外的电势差, 作为质子动力学的元素之一, 对 ATP 的产生及细胞功能具有重要意义^[12,21]。对于正常细胞来说, 罗丹明 123 是一种亲脂性染料, 它可以依赖跨膜电位进入大肠杆菌细胞基质对其染色, 但对于凋亡细胞来说, 质膜完整性破坏, 转运孔开放, 引起跨膜电位的崩溃, 膜电位降低则代表细胞发生去极化, 会影响 ATP 生成, 导致细胞代谢异常^[22,23]。试验结果表明(图 3), 在加入抑菌物质后, 1×MIC 的平均荧光强度在 2 h 内从 4372.90 AU 骤降至 649.65 AU。当芳樟醇浓度为 2×MIC 时, 平均荧光强度下降了 3594.9145 AU。可能是由于芳樟醇处理后对大肠杆菌细胞膜的结构与功能造成影响, 从而引起细胞膜电位降低, 细胞发生去极化, 影响 ATP 生成, 导致代谢异常, 这与 Nguyen H V 所得结论一致^[24]。

2.5 芳樟醇对大肠杆菌胞内蛋白含量的影响

有机大分子蛋白质是细胞的基本有机物和生命活

动的关键要素。由图 4 可知, 随着培养时间的增长, 无菌水组和 1% DMSO 组由于细胞生长, 菌体浓度增大, 蛋白质含量增加, 而加入抑菌物质的 1×MIC 和 2×MIC 组则由于细胞破坏, 内容物溢出, 导致胞内蛋白含量在 1~6 h 急剧减少至 394.99 $\mu\text{g/mL}$, 2×MIC 组相较于 1×MIC 组蛋白质含量降低更快, 说明芳樟醇对大肠杆菌细胞壁和细胞膜具有破坏作用, 并且随着芳樟醇浓度的增加对细菌的破坏作用更大。这些细菌细胞的变化可能是由于芳樟醇对细胞膜的通透性和完整性的破坏所引起的膜的裂解和转化, 使得细胞具有裂解倾向, 内容物质丢失^[25]。

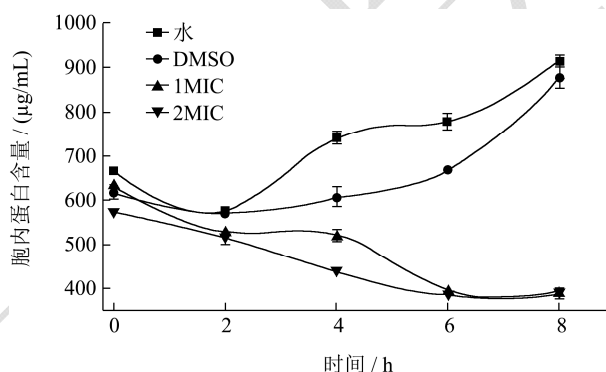


图4 大肠杆菌胞内蛋白含量

Fig.4 Intracellular protein content of *E. coli*

2.6 芳樟醇对大肠杆菌核酸泄露的影响

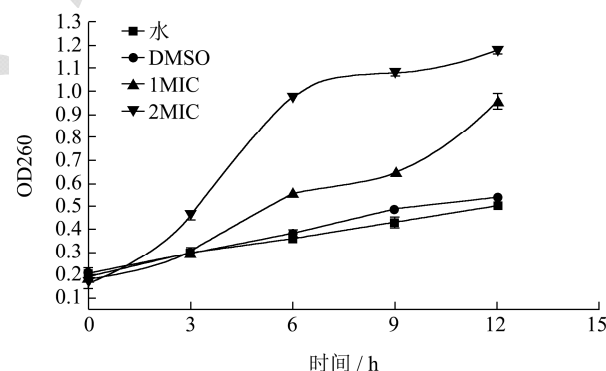


图5 大肠杆菌核酸泄露量

Fig.5 Nucleic acid leakage of *E. coli*

细胞膜是保护细胞的重要屏障, 当细胞膜被破坏时, 小分子首先被释放, 然后是大分子, 如 DNA、RNA 等^[26]。因此, 胞内物质的外渗是评价细胞膜完整性的良好指标。DNA 和 RNA 在 260 nm 处具有很强的吸收能力, 称为 260 nm 吸收物质。到目前为止, 260 nm 吸收物质的检测已被广泛应用于细胞膜完整性的测定^[27,28]。由图 5 可知, 随着培养时间的增长, 由于细菌正常生长凋亡导致无菌水组和 1% DMSO 组的核酸泄露量有所增长, 但是 1×MIC 在 260 nm 处的吸光值从 0.177 上升到 0.948, 2×MIC 则更为明显从

0.058 上升到 1.173, 表明细胞内容物大量渗出。这些结果表明, 细胞质膜可能发生不可逆的损伤, 导致细胞成分如 DNA 和 RNA 一些必需分子的丢失, 导致细胞死亡^[29]。此外 Hatice Z 等人在研究芳樟醇对大肠杆菌的抗菌活性中发现芳樟醇会导致细胞壁结构的改变, 并释放包括 DNA 在内的成分^[9]。

2.7 芳樟醇对大肠杆菌 ATP 含量的影响

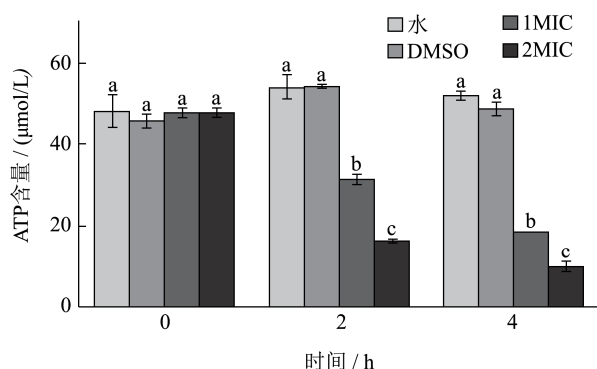


图 6 大肠杆菌 ATP 含量

Fig.6 ATP content of *E. coli*

注: 不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

ATP 是细菌细胞中的能量因子, 为大肠杆菌的代谢和活力提供能量和动力。由芳樟醇对大肠杆菌 ATP 含量的影响(图 6)可知, 无菌水组和 DMSO 组的 ATP 含量无明显变化, 而实验组随芳樟醇处理时间的增长, ATP 含量显著降低, 1×MIC 在 4 h 的 ATP 含量仅为 18.46 μmol/L, 而 2×MIC 的 ATP 含量则低至 9.91 μmol/L, 说明芳樟醇的加入对细菌 ATP 的合成或消耗产生了影响。Cui Y 等人在研究鼠尾草精油(74.56% 乙酸芳樟酯和 13.26% 的芳樟醇)对大肠杆菌的影响中发现鼠尾草精油会影响细胞膜的通透性, 并导致 ATP 的释放^[30]。也有研究表明当细胞受到外界环境刺激凋亡时, 细胞水解速率加快呼吸受到抑制, 为保证细胞的质子动势平衡, 细胞内的 ATP 含量会急剧下降^[31]。

3 结论

在本研究中, 芳樟醇对大肠杆菌具有非常显著的抑制作用, MIC 为 5 μL/mL; 通过对生长曲线、细胞形态、细胞膜电位、胞内蛋白含量、核酸泄露量及 ATP 含量的测定, 发现芳樟醇对大肠杆菌的抑制作用首先是从细胞膜开始的, 芳樟醇的疏水作用使其聚集在细胞膜上, 破坏大肠杆菌细胞形态, 造成细胞表面皱缩, 破坏细胞壁和细胞膜形成孔洞, 进而影响细胞膜的结构和功能, 改变大肠杆菌细胞膜通透性, 使细胞内容物溢出, 干扰细胞能量(ATP)生成系统, 破坏质子动力, 抑制细胞功能特性, 导致细胞死亡, 并且破坏程度随

时间和芳樟醇浓度的增大而增加。目前还没有以高纯度芳樟醇为试材进行抑菌机制研究的报道, 本研究结果有助于对芳樟醇天然抗菌剂的开发提供理论依据。

参考文献

- [1] 姜冬梅, 朱源, 余江南, 等. 芳樟醇药理作用及制剂研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(18): 3530-3533
JIANG Dong-mei, ZHU Yuan, YU Jiang-nan, et al. Advances in research of pharmacological effects and formulation studies of linalool [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(18): 3530-3533
- [2] Zhao G, Li Y, Sun G, et al. Antibacterial actions of glycinin basic peptide against *Escherichia coli* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65: 5173-5180
- [3] Aijuka M, Buys EM. Persistence of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli* in the agricultural and food production environment: Implications for food safety and public health [J]. Food Microbiology, 2019, 82: 363-370
- [4] Rabin G, Ibrahim SA. Natural products as antimicrobial agents [J]. Food Control, 2014, 46: 412-429
- [5] Prakash B, Kedia A, Mishra PK, et al. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - Potentials and challenges [J]. Food Control, 2015, 47(47): 381-391
- [6] Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils [J]. Flavour & Fragrance Journal, 2015, 13(4): 235-244
- [7] 吴克刚, 林雅慧, 柴向华. 芳樟油对大肠杆菌气相杀菌机制研究 [C]. 广东省食品学会第六次会员大会暨学术研讨会论文集, 2012
WU Ke-gang, LIN Ya-hui, CHAI Xiang-hua. Mechanisms of vapor-phase antibacterial action of essential oil from cinnamomum camphora var. linaloofera fujita against *Escherichia coli* [C]. Proceedings of the Sixth General Meeting and Academic Seminar of Guangdong Food Society, 2012
- [8] Kalily E, Hollander A, Korin B, et al. Mechanisms of resistance to linalool in *Salmonella* Senftenberg and their role in survival on basil [J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(11): 3673-3688
- [9] Hatice Z, Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy [J]. Molecules,

- 2014, 19(11): 17773-17798
- [10] Filomena S, Susana F, Queiroz JOA, et al. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry [J]. Journal of Medical Microbiology, 2011, 60(10): 1479-1486
- [11] Yi L, Jing D, Zhang L, et al. Purification, characterization and bactericidal mechanism of a broad spectrum bacteriocin with antimicrobial activity against multidrug-resistant strains produced by *Lactobacillus coryniformis* XN8 [J]. Food Control, 2016, 67: 53-62
- [12] 张赞彬,刘笑宇,姜萍萍,等.肉桂醛对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用及抑菌机理研究[J].现代食品科技,2015, 31(5):31-35
- ZHANG Yun-bin, LIU Xiao-yu, JIANG Ping-ping, et al. Mechanism and antibacterial activity of cinnamaldehyde against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(5): 31-35
- [13] Cui H, Zhang X, Zhou H, et al. Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil [J]. Botanical Studies, 2015, 56(6): 1-8
- [14] 沈妍,傅瑜,陈健初,等.柑橘精油在食品中的抗菌应用[J].食品工业科技,2009,9:310-313
- SHEN Yan, FU Yu, CHEN Jian-chu, et al. Application of citrus essential oils in food preservation as antimicrobials [J]. Modern Food Science and Technology, 2009, 9: 310-313
- [15] Calo JR, Crandall PG, O'Bryan CA, et al. Essential oils as antimicrobials in food systems-A review [J]. Food Control. 2015, 54: 111-9
- [16] Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 94(3): 223-253
- [17] Fisher K, Phillips C. The mechanism of action of a citrus oil blend against *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 106(4): 1343-1349
- [18] Carson CF, Mee BJ, Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(6): 1914-1920
- [19] Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol [J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 91(3): 453-462
- [20] Moreira MR, Ponce AG, Valle CED, et al. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen [J]. LWT-Food Science and Technology, 2005, 38(5): 565-570
- [21] 乔支红,程永强,鲁战会,等.乳酸对三种食源性致病菌的抑菌及杀菌作用[J].食品科技,2008,10:187-191
- QIAO Zhi-hong, CHENG Yong-qiang, LU Zhan-hui, et al. Antibacterial and bactericide activity of lactic acid against three strains of food-borne pathogenic bacteria [J]. Food Science and Technology, 2008, 10: 187-191
- [22] Dimroth P, Kaim G, Matthey U. Crucial role of the membrane potential for ATP synthesis by F(1)F(o) ATP synthases [J]. Journal of Experimental Biology, 2000, 203(1): 51-59
- [23] Xu C, Li J, Yang L, et al. Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of *Lachnum* YM30 melanin against *Vibrio parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus* [J]. Food Control, 2017, 73: 1445-1451
- [24] Nguyen H V, J C Meile, Lebrun M, et al. *Litsea cubeba* leaf essential oil from Vietnam: Chemical diversity and its impacts on antibacterial activity [J]. Letters in Applied Microbiology, 2018, 66(3):207-214
- [25] Cui H, Zhang C, Li C, et al. Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes* [J]. Food Control. 2018, 94: 140-146
- [26] Chen CZ, Cooper SL. Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes [J]. Biomaterials, 2002, 23(16): 3359-3368
- [27] Shen S, Zhang T, Yuan Y, et al. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane [J]. Food Control, 2015, 47(47): 196-202
- [28] Weerakkody NS, Caffin N, Turner MS, et al. *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria [J]. Food Control, 2010, 21(10): 1408-1414
- [29] Diao W, Hu Q, Zhang H, et al. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) [J]. Food Control. 2014, 35(1): 109-116
- [30] Cui Y, Zhao Y, Tian Y, et al. The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli* [J]. Biomaterials, 2012, 33(7): 2327-2333
- [31] Sánchez E, García S, Heredia N. Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae* [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2010, 76(20): 6888-6894