

柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究

Research on antimicrobial and antioxidant activities of major components of lemon peel essential oil

章斌¹ 侯小桢¹ 秦轶² 丁心² 邓其海² 黄林洁¹

ZHANG Bin¹ HOU Xiao-zhen¹ QIN Yi² DING Xin² DENG Qi-hai² HUANG Lin-jie¹

(1. 韩山师范学院食品工程与生物科技学院, 广东 潮州 521041; 2. 广东中兴绿丰发展有限公司, 广东 河源 517000)

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Hanshan Normal College, Chaozhou, Guangdong 521041, China;
2. Guangdong Zhongxing Lvfeng Development Co., Ltd., Heyuan, Guangdong 517000, China)

摘要:探讨尤力克柠檬果皮精油(LEO)的3个主要组分 *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇的单体物及其复配物的抗氧化与抑菌效果;主要测定该3个组分的DPPH自由基和羟自由基清除能力,以及其对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈大小及最低抑菌浓度(MIC)。结果表明, *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇对羟自由基有一定的清除效果,清除率为48.45%~77.94%;对DPPH自由基的清除效果均高于同浓度的LEO。抑菌活性试验结果表明 *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇对3种测试菌都表现出抑菌作用,但抑制效果均低于同浓度的LEO,其中 α -松油醇对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑制效果最好, MIC分别为3.9, 1.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$; *dl*-柠檬烯对金黄色葡萄球菌抑菌效果最好,最低抑菌浓度为1.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。*dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇的复配物较单体的抑菌作用更佳。表明作为主要组分的 *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇对LEO抗氧化与抑菌活性的表现有一定影响。

关键词:柠檬果皮精油; *dl*-柠檬烯; γ -萜品烯; α -松油醇; 抑菌; 抗氧化

Abstract: Antioxidant and antibacterial activities in vitro of three major components *dl*-limonene, γ -terpinene and α -terpineol contained

in Eureka lemon peel essential oil as well as its compound were explored in mainly in the determination of DPPH free radical as well as OH \cdot free radical scavenging ability and its bacteriostasis size and MIC against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* of the three major components. Results showed that *dl*-limonene, γ -terpinene, α -terpineol had certain scavenging effect on OH \cdot free radical with clearance rate between 48.45%~77.94%; and the scavenging effect of DPPH free radical was higher than that of LEO at the same concentration. Antibacterial activity test results indicated that *dl*-limonene, γ -terpinene, α -terpineol showed certain inhibitory effects against the three tested bacteria and lower than that of LEO at the same concentration, α -terpineol showed a best antibacterial effect on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* with MIC 3.9 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and 1.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ respectively, while *dl*-limonene had better antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* with MIC 1.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$; compound composed of *dl*-limonene, γ -terpinene, α -terpineol showed better antimicrobial effect than monomers. Overall experiment results showed that *dl*-limonene, γ -terpinene and α -terpineol had certain influence on LEO's antioxidant and antibacterial activity.

Keywords: lemon peel essential oil; *dl*-limonene; γ -terpinene; α -terpineol; antibacterial; antioxidant

基金项目:国家星火计划项目(编号:2015GA780044);广东省“扬帆计划”引进创新创业团队专项资助(编号:2015YT02H049);广东省科技计划项目(编号:2012A020603008);省部产学研项目(编号:2012B091000074);广东普通高校工程技术开发中心项目“粤东食品加工与安全控制工程技术开发中心”(编号:GCZX-A1415);潮州市重点农业科技项目(编号:201605);2017年广东省农业发展和农村工作专项资金(现代农业经营主体培育建设)(编号:粤财农[2017]100号)

作者简介:章斌(1981—),男,韩山师范学院副教授,硕士。
E-mail:zb811223@163.com

收稿日期:2017-09-19

柠檬果皮精油(lemon peel essential oil, LEO)是从柠檬果皮中提取的一种挥发性油状液体物质,富含 *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇、*E*-柠檬醛等成分,具有良好的抗氧化、抑菌、降血脂等功效;适用于食品、化妆品、香精香料等行业^[1-3]。受产地、品种、生态地理条件、植物年龄和采收期、提取方法与提取部位、提取溶剂种类等因素影响,植物挥发性精油的化学成分与含量差异较大,因而其功能活性存在一定差异的同时也表现出一定的波动性;另一方面,构成精油的醇类、醛类、烯类等化学组分因其含量和理化特性的差异,

对精油特定生理活性的贡献度也存有较大差异:如柠檬烯有较好的抗菌^[4-5]、促伤口愈合^[6]等功效,萜品烯可有效杀灭伊氏锥虫^[7]和氧化皮肤过敏原^[8],松油醇可通过诱导细胞凋亡而抑制肿瘤细胞生长^[9]。

目前,国内外对包括柠檬精油在内的多种植物挥发性精油的抗氧化与抑菌作用已有较多报道^[3],不同植物精油复配后的抗氧化与抑菌作用也有一定报道^[10-11];但有关精油主要组分的抗氧化与抑菌研究较少,且现有的研究^[10]均是侧重于单一组分开展;而有关栽培面积最广的尤力克(Eureka)品种柠檬的LEO主要组分的抗氧化与抑菌研究未见报道,且有关精油主要组分在抗氧化与抑菌方面的复配协同效应亦未见报道。因此,针对LEO良好的抗氧化与抑菌作用,在前期采用GC-MS法检测尤力克柠檬(产地河源)果皮精油的化学组成基础上^[3],着重探讨LEO中 dl -柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇3个主要成分及其复配物的抗氧化与抑菌作用,以期为更好地开发利用LEO提供一定参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

dl -柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇:西陇化工股份有限公司;

卵磷脂、PBS、TCA、 $FeSO_4$ 、 H_2O_2 、丙酮、冰乙酸、二甲胺、柠檬酸、磷酸氢二钠、琼脂、牛肉膏、蛋白胨、氯化钠等:分析纯,广东环凯微生物科技有限公司;

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*):韩山师范学院微生物实验室提供;

LEO:前期测得其 dl -柠檬烯、 γ -萜品烯和 α -松油醇含量分别为42.93%,8.41%,6.39%,广东中兴绿丰农业科技发展有限公司;

电热恒温水浴锅:HWS-12型,上海一恒科学仪器有限公司;

电子分析天平:JA2003型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

无菌操作台:BOXUN型,广州嘉东实验室设备有限公司;

紫外可见分光光度计:UFJ-7200型,上海尤尼科仪器有限公司;

精密量具电子数显游标卡尺:SYNTEK型,0~150 mm,太欣半导体股份有限公司;

数显恒温生化培养箱:BS-4G型,常州市凯航仪器有限公司;

立式电热压力蒸汽灭菌锅:LD2X-30KA型,上海申安医疗器械厂;

电热恒温培养箱:DHP-9162型,上海捷呈实验仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 抗氧化活性试验

(1) DPPH 自由基清除能力的测定:根据文献^[3]所述

方法进行测定,并按式(1)计算清除率。

$$R_1 = \frac{A_1 - (A - A_0)}{A_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R_1 ——DPPH 自由基清除率,%;

A ——样液与 DPPH 液反应后的吸光度值;

A_0 ——样液与 95%乙醇反应后的吸光度值;

A_1 ——95%乙醇与 DPPH 液反应后的吸光度值。

(2) 羟自由基清除能力测定:根据文献^[3]所述方法进行测定,并按式(2)计算清除率。

$$R_2 = \frac{A - A_0}{A_1 - A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_2 ——羟自由基清除率,%;

A ——结晶紫溶液、 $FeSO_4$ 溶液与 H_2O_2 溶液反应后的吸光度值;

A_0 ——结晶紫溶液与 $FeSO_4$ 溶液反应后的吸光度值;

A_1 ——样液与结晶紫溶液、 $FeSO_4$ 溶液、 H_2O_2 溶液反应后的吸光度值。

1.2.2 抑菌试验

(1) 抑菌圈大小的测定:制备浓度为 10^6 CFU/mL 的菌悬液并取 0.1 mL 加入装有培养基的平皿中,待混匀凝固后,在培养基表面垂直放置 3 个牛津杯并分别加入纯 LEO、 α -松油醇、 γ -萜品烯、 dl -柠檬烯和 3 种单体成分的复配物各 50 μ L,于 37 $^{\circ}C$ 恒温培养 24 h 后测量抑菌圈大小。抑菌圈试验判定标准^[12]:极敏,直径 >20 mm;高敏,15~20 mm;中敏,10~15 mm;低敏,7~9 mm;不敏感,直径 <7 mm;“—”表示未测出抑菌圈。

(2) 最低抑菌浓度(MIC)的测定:用丙酮配制一定浓度的 LEO、 α -松油醇、 γ -萜品烯、 dl -柠檬烯和 3 种单体成分的复配物溶液,使其在混匀后的培养基中浓度分别为 250.0, 125.0, 62.5, 31.25, 15.6, 7.8, 3.9, 2.0, 1.0 μ L/mL, 然后进行平板划线并于 37 $^{\circ}C$ 恒温培养 24 h,以能明显抑制供试菌生长的最低浓度为 3 种单体物质的 MIC。

(3) 单体成分复配的抑菌试验:将浓度为 1 μ L/mL 的 dl -柠檬烯、 γ -萜品烯和 α -松油醇按一定体积比复配,再按 1.2.2(1)和 1.2.2(2)进行抑菌试验。

1.3 数据处理

试验结果以平均值士标准偏差 SD 表示,进行 3 次平行试验,并用 Excel 和 SAS 8.1 统计软件进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 抗氧化活性

2.1.1 对羟自由基($OH\cdot$)的清除作用 萜烯类化合物含有 2 个或 2 个以上的双键,具有较强的反应活性,可与 $OH\cdot$ 结合加成为二级基团,从而具有一定的 $OH\cdot$ 清除作用。

由图 1 可知,试验浓度下的 LEO 对 $OH\cdot$ 清除率为 98.08%~99.63%,清除效果良好且远强于其主要组分 dl -柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇的;陈思佳等^[13]研究 LEO、柠檬烯清除 $OH\cdot$ 的结果表明:LEO 的 $OH\cdot$ 清除能力(IC_{50} 为

0.013 mg/mL) 强于柠檬烯 (IC_{50} 为 0.004 mg/mL) 的, 与本试验的研究结论一致。这说明精油中还有酚类、酮类、醛类等成分同样具有抗氧化活性^{[14][31-32][15]}, 如 Mário 等^[16] 的研究证实除单萜外, 某些非挥发性化合物可能有助于增强柠檬烯及其生物转化提取物等挥发性成分的抗氧化活性, 从而使精油的抗氧化性能高于单体物质。

同时, 图 1 表明 *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇对 $OH\cdot$ 的清除率较为接近, 并均随浓度增大而快速上升, 且单体物质的浓度超过 4 mg/mL 后, α -松油醇相比 γ -萜品烯和 *dl*-柠檬烯对 $OH\cdot$ 的清除效果更佳。由此, 可初步推断三者对 LEO 清除 $OH\cdot$ 的作用有着大小接近的贡献度, 且 α -松油醇在高浓度下的贡献权重可能更大。

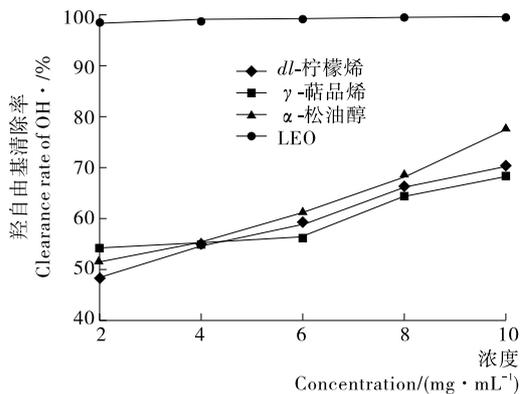


图 1 *dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯、 α -松油醇和 LEO 清除 $OH\cdot$ 能力

Figure 1 Ability of *dl*-limonene, γ -terpinene, α -terpineol and LEO to remove $OH\cdot$

2.1.2 对 DPPH 自由基的清除作用 植物挥发性精油中的酚类、烯类、醇类化合物^[17] 可阻断氧化反应的自由基链, 一定程度上可清除 DPPH 自由基; 如 γ -萜品烯含有的非共轭二烯可直接清除 DPPH 自由基^[18]。由图 2 可知, α -松油醇、 γ -萜品烯、*dl*-柠檬烯对 DPPH 自由基的清除作用均随浓度增大而有较平缓的增强, 且三者的清除作用强弱顺序表现为 *dl*-柠檬烯 > α -松油醇 > γ -萜品烯, γ -萜品烯在 2 mg/mL 浓度下的清除率最低为 31.68%; LEO 则对 DPPH 自由基的清除作用随浓度增大而有较大幅度的增强, 且在高浓度的试验条件下, LEO 的 DPPH 自由基清除作用逐渐接近其主要组分的单体物质。黄娜娜^{[14][33]} 研究发现柑橘精油中的 γ -萜品烯在 100 μ L/mL 浓度下的 DPPH 自由基清除率达 75.8%, 远高于同浓度的柠檬烯 (DPPH 自由基清除率 9.7%)、 α -松油醇 (DPPH 自由基清除率 4.1%) 等其它成分。Choi H 等^[15] 测得 γ -萜品烯 (浓度为 227.9 mg equiv. Trolox/mL) 的 DPPH 自由基清除率为 84.7%, 高于 *d*-柠檬烯和 α -松油醇的 8.8%~16.5% 清除率, 并测得尤力克柠檬、里斯本柠檬、塔提希岛酸橙等 34 种柑橘类精油的 DPPH 自由基清除率为 17.7%~64.0%, 低于同浓度的 γ -萜品烯, 却高于同浓度的 *d*-柠檬烯和 α -松油醇; 且其研究还表明含 γ -萜品烯越多的精油有越强的 DPPH 自由基清除作用。陈思佳等^[13] 测得

6 mg/mL 柠檬烯对 DPPH 自由基清除率仅为 56.08%, 远低于 2.25 mg/mL 柠檬精油 99.47% 的 DPPH 自由基清除率, 说明柠檬精油中存在其它具有清除自由基作用的成分, 且这些成分对精油的抗氧化活性可能存在相互促进或抑制的内在关系。因此, 鉴于本试验结论与上述研究结论的异同, 对植物精油和其组分间的抗氧化活性比较, 还需进一步从单体纯度、单体结构 (如柠檬烯有 *d*-柠檬烯、*l*-柠檬烯、*dl*-柠檬烯 3 种不同结构形式)、单体相互间的作用等方面进行多因素探讨。

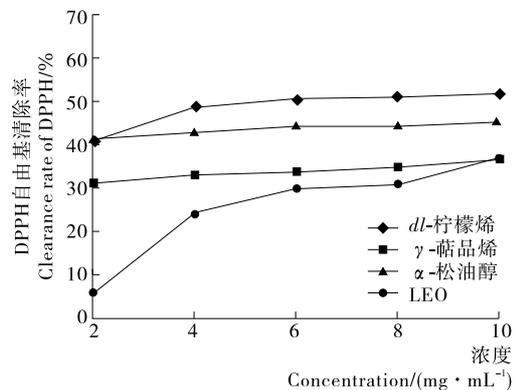


图 2 α -松油醇、 γ -萜品烯、*dl*-柠檬烯和 LEO 清除 DPPH 自由基能力

Figure 2 Ability of α -terpineol, γ -terpinene, *dl*-limonene and LEO scavenging DPPH

2.2 抑菌活性

醇类、酚类、萜烯类、酮类及其衍生物等是挥发性精油的主要抑菌成分^[19], 但因其结构上的差异, 对微生物的抑菌作用有较大差别^[20-21]。

2.2.1 单体成分的抑菌效果 细胞壁干扰和破坏细胞膜完整性的建议性机制表明: 柠檬烯刺激基因表达与细胞壁完整性信号通路有关; 因此, *d*-柠檬烯可改变细胞壁特性和干扰隔膜形成, 引起细胞分裂, 从而起到抑菌或杀菌的作用^[22]。 α -松油醇也可通过破坏细胞壁、抑制细菌酶活性、抑制某些调节基因产物的翻译而发挥抗菌作用^[23]。总体来说, 精油不同单体成分的抑菌活性会因抑菌条件、微生物类型 [如细菌 (致病菌、非致病菌)、酵母、霉菌] 等因素影响而表现出千差万别。

LEO 主要成分单体物质的抑菌效果见表 1。由表 1 可知, 纯 LEO 对 3 种供试菌表现出较强的抑制作用, 相比其 3 种主要组分的单体物质有更好的抑菌效果, 与 Hong L^[24]、Antonio B^[25] 等的研究结论一致, 说明植物精油中具抑菌效果的化学组分种类较多, 需对不同成分间的相互影响开展深入探讨。就 LEO 单体物质而言, α -松油醇较 *dl*-柠檬烯和 γ -萜品烯对 3 种供试菌有更佳的抑菌效果, 且其抑制作用的强弱次序为大肠杆菌 > 枯草芽孢杆菌 > 金黄色葡萄球菌; *dl*-柠檬烯对枯草芽孢杆菌的抑制作用最佳, 其次为金黄色葡萄球菌; γ -萜品烯在试验条件下仅对枯草芽孢杆菌表现出一定的抑菌作用。但也有研究^[26] 表明, 5 mg/m³ 浓度的松油醇 (由 α -松油醇 65% + β -松油醇 10% + γ -松油醇 20% 组成) 可使空气中的细菌数量减少 68%, 高于 γ -萜品烯的 40% 灭菌率。

表1 α -松油醇、*dl*-柠檬烯、 γ -萜品烯和 LEO 的抑菌效果

Table 1 Antimicrobial effects of α -terpineol, *dl*-limonene, γ -terpinene and LEO

成分	大肠杆菌		枯草芽孢杆菌		金黄色葡萄球菌	
	抑菌圈直径/mm	MIC/($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/mm	MIC/($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/mm	MIC/($\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$)
α -松油醇	13.94±0.10	3.9	12.39±0.73	1.0	8.98±0.24	1.0
<i>dl</i> -柠檬烯	9.19±0.64	2.0	9.78±0.26	1.0	9.44±0.27	1.0
γ -萜品烯	—	—	11.12±0.57	3.9	—	—
LEO	22.17±0.41	1.0	20.18±0.25	2.0	19.24±0.31	15.6

2.2.2 单体成分复配的抑菌效果 精油单体成分在一定条件下的抑菌作用会受到其它单体成分的影响,并表现出协同或弱化 2 种截然相反的作用:如百里香精油具有广谱抗真菌活性可能是因其所含的 35.7% α -松油醇所致,也可能是 α -松油醇与其所含的其它成分协同作用的结果^[27];而柚子精油和甜橙精油中的某些成分会降低 *dl*-柠檬烯抑制黄曲霉的能力^[28]。在前期单体复配物的抑菌试验基础上,选取浓度为 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的 α -松油醇、*dl*-柠檬烯和 γ -萜品烯按一定体积比复配后的抑菌效果分别见表 2~4。

表2 复配物对枯草芽孢杆菌的抑菌效果

Table 2 Antimicrobial effects of compound combined with α -terpineol, *dl*-limonene and γ -terpinene on *Bacillus subtilis*

复配形式	抑菌圈直径/mm
γ -萜品烯+ α -松油醇	13.34±0.93
γ -萜品烯+ <i>dl</i> -柠檬烯	11.34±0.60
α -松油醇+ <i>dl</i> -柠檬烯	12.58±0.28
γ -萜品烯+ α -松油醇+ <i>dl</i> -柠檬烯	11.04±0.11

表3 复配物对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

Table 3 Antimicrobial effects of compound combined with α -terpineol, *dl*-limonene and γ -terpinene on *Staphylococcus aureus*

复配形式	抑菌圈直径/mm
γ -萜品烯+ α -松油醇	8.06±0.30
γ -萜品烯+2 <i>dl</i> -柠檬烯	9.48±0.19
α -松油醇+2 <i>dl</i> -柠檬烯	9.54±0.20
γ -萜品烯+ α -松油醇+2 <i>dl</i> -柠檬烯	9.63±0.06

表4 复配物对大肠杆菌的抑菌效果

Table 4 Antimicrobial effects of compound combined with α -terpineol, *dl*-limonene and γ -terpinene on *E. coli*

复配形式	抑菌圈直径/mm
γ -萜品烯+2 <i>dl</i> -柠檬烯	9.40±0.34
γ -萜品烯+3 α -松油醇	13.86±0.40
2 <i>dl</i> -柠檬烯+3 α -松油醇	13.98±0.23
γ -萜品烯+2 <i>dl</i> -柠檬烯+3 α -松油醇	14.00±0.21

对比表 1 中各单体物的抑菌圈测定结果,表 2~4 的测定结果表明单体复配物较单体本身对各供试菌的抑菌效果总体上更佳。尤其是试验条件下对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌不具抑制作用的 γ -萜品烯与 *dl*-柠檬烯和 α -松油醇复配后,能进一步增强 *dl*-柠檬烯和 α -松油醇的抑制效果。另一方面,3 种单体物质按一定比例两两复配后对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用弱于三者复配的;而两两复配的单体物质对枯草芽孢杆菌的抑制作用则明显强于三者复配的。

3 结论

(1) α -松油醇、 γ -萜品烯、*dl*-柠檬烯与 LEO 对 OH· 的清除效果较为接近,但这 3 种单体成分较 LEO 有更强的 DPPH 自由基清除作用;由此可推断精油化学成分间某些形式和某种程度的组合会在一定程度上降低精油本身的抗氧化活性,这需要今后进一步研究证实。

(2) α -松油醇、 γ -萜品烯和 *dl*-柠檬烯对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制强弱次序不一,且对这 3 种测试菌的抑制效果均弱于 LEO;而三者间的组合物较其单体的抑菌作用更佳。对于这 3 种单体物质更大范围比例组合后的抑菌效果,以及与其它精油组分复配后的抑菌效果、作用方式、作用机制等,则需更深入地探讨研究,以更好地阐释不同精油成分间的内在关联,为更精准地筛选精油具抗氧化、抑菌等生理活性的主要目标成分提供更好的试验参考和理论依据。

参考文献

[1] YAGHMAEI P, PARIVAR K, SAVAR M H. Investigation on the effect of lemon peel essential oil in blood level lipids number of differential leukocytes of Wistar rats[J]. Journal of the Neurological Sciences, 2009, 283(1/2): 297-297.

[2] FISHER K, PHILLIPS C A. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems[J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 101(6): 1 232-1 240.

[3] 章斌, 侯小桢, 秦轶, 等. 柠檬果皮精油的化学组成、抗氧化及抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(5): 126-131.

[4] ZAHIR Z, HATTAB M.E., LIANG Hao, et al. Enhancing the antimicrobial activity of *d*-limonene nanoemulsion with the inclusion of ϵ -polylysine[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 18-23.

- [5] LOKU U A, BECERRA N, KOHLI P, et al. Antimicrobial efficacy of liposomes containing *d*-limonene and its effect on the storage life of blueberries[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2017, 128: 130-137.
- [6] KESKIN I, GUNAL Y, AYLAL S, et al. Effects of *Foeniculum vulgare* essential oil compounds, fenchone and limonene, on experimental wound healing[J]. *Biotechnic and Histochemistry*, 2017, 92(4): 274-282.
- [7] MATHEUS D Baldissera, THIRSSA H Grando, CARINE F Souza, et al. In vitro and in vivo action of terpinen-4-ol, γ -terpinene, and α -terpinene against *Trypanosoma evansi*[J]. *Experimental Parasitology*, 2016, 162: 43-48.
- [8] RUDBUCK J, BERGSTRM M A, BURJE A, et al. α -Terpinene, an antioxidant in tea tree oil, autoxidizes rapidly to skin allergens on air exposure[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2012, 25(3): 713-721.
- [9] WU Zi-li, YIN Zhong-qiong, DU Yong-hua, et al. γ -terpineol inhibits cell growth and induces apoptosis in human liver cancer BEL-7402 cells in vitro[J]. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, 17(22): 5 686-5 689.
- [10] PRIYANKA S, RAVINDRA S, BHANU P, et al. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, *dl*-limonene[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48(6): 1 734-1 740.
- [11] MARTUCCI J F, GENDE L B, NEIRA L M, et al. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films[J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 71: 205-213.
- [12] 李悦, 侯滨滨, 赵婧. 柑橘类精油抗菌活性的研究[J]. *食品研究与开发*, 2011, 32(6): 190-192.
- [13] 陈思佳, 刘雅丽, 张晨, 等. 柠檬精油抗氧化活性的研究[J]. *实用口腔医学杂志*, 2015, 31(3): 343-346.
- [14] 黄娜娜. 柑橘精油抗氧化特性及对皮肤细胞氧化损伤的保护作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [15] CHOI H, HEE S, HIROYUKI U, et al. Radical-scavenging activities of *citrus essential oils* and their components: Detection using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(9): 4 156-4 161.
- [16] MÁRIO R M J, THOMAZ A A R S, GILBERTO C F, et al. Antioxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(1): 8-12.
- [17] YONATHAN A, IKUKO T, SAYURI I, et al. Volatile aroma components and antioxidant activities of the flavedo peel extract of unripe shiikuwasha (*Citrus depressa hayata*)[J]. *Journal of Food Science*, 2012, 77(4): C469-C475.
- [18] LI Guo-xiang, LIU Zai-qun. Unusual antioxidant behavior of α - and γ -terpinene in protecting methyl linoleate, DNA, and erythrocyte[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(9): 3 943-3 948.
- [19] PIETRO L C, VELLASAMY S, NICOLA S I. Antibacterial activity of essential oil components and their potential use in seed disinfection[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(20): 9 454-9 461.
- [20] ÜNAL Mustafa Ümit, UÇAN Filiz, ŞENER Aysun, et al. Research on antifungal and inhibitory effects of DL-limonene on some yeasts[J]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2012, 36(5): 576-582.
- [21] MARINA D S, DEJAN D B, ANA M D, et al. Chemical composition and antifungal activity of *Salvia desoleana* Atzei & Picci essential oil and its major components[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2009, 24(2): 83-87.
- [22] AROSHA U, NATHALIE B, PUNIT K, et al. Antimicrobial efficacy of liposomes containing *d*-limonene and its effect on the storage life of blueberries[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2017, 128: 130-137.
- [23] PARK S N, LIM Y K, FREIRE M O, et al. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria[J]. *Anaerobe*, 2012, 18(3): 369-372.
- [24] LI Hong, YANG Tian, LI Fei-yan, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of *Monarda punctata* essential oil and its main components against common bacterial pathogens in respiratory tract[J]. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 7(11): 7 389-7 398.
- [25] ANTONIO B, MARIA R, MILENA S. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of eugenol, limonene, and citrus extract against bacteria and yeasts, representative of the spoiling microflora of fruit juices[J]. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(5): 888-894.
- [26] KEI S, SABINE K, GERHARD B. Antimicrobial effect of vapours of geraniol, linalool, terpineol, γ -terpinene and 1, 8-cineole on airborne microbes using an airwasher[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, 22(5): 435-437.
- [27] EUGÊNIA P, MARIA G, PAULA P, et al. Activity of *Thymus caespitosus* essential oil and α -terpineol against yeasts and filamentous fungi[J]. *Industrial Crops & Products*, 2014, 62: 107-112.
- [28] PRIYANKA S, RAVINDRA S, BHANU P, et al. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, *dl*-limonene[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48(6): 1 734-1 740.