

살모넬라와 황색포도상구균에 대한 시트랄의 항균효과

김정지 · 인예원 · 오세욱*

국민대학교 식품영양학과

Antimicrobial Activity of Citral against *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus*

Jung-Jee Kim, Ye-Won In, and Se-Wook Oh*

Department of Food and Nutrition, Kookmin University

Abstract The aim of this study was to investigate the antimicrobial characteristics of citral against *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial activities were determined according to the citral concentration and initial pH. The tested citral concentrations were 0-1,000 ppm in tryptic soy broth (TSB) and 0-5,000 ppm in *Angelica keiskei* juice (*NokJeup*). The initial pHs tested were 4-7. Antimicrobial activities increased as citral concentration increased. *S. aureus* was more susceptible than *S. Typhimurium* during culture in TSB. But *S. aureus* was less susceptible to pH changes. Citral caused about 1-2 log reduction of *S. aureus* and 2-5 log reduction of *S. Typhimurium* after 10 min exposure at different pHs. As the citral concentration in the *Angelica keiskei* juice increased, *S. aureus* was easily inactivated but *S. Typhimurium* was not inactivated.

Keywords: *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, citral, antimicrobial activity, pH

서 론

식품 보존 및 안전성 확보를 위하여 합성 보존료 사용, 방사선 조사, 냉동, 항균포장 등 다양한 방법이 이용되고 있다. 그 중 합성 보존료를 사용하는 방법이 가장 널리 이용되고 있지만 인체 유해 가능성이 제시되어 사용이 기피되고 있다. 최근 사회가 발달함에 따라 가공, 편의식품에 대한 사회적 관심이 증대되고 있으며 전반적으로 유기농, 무방부제 제품이 선호되고 있기 때문에 합성 항균제 보다는 천연항균제에 대한 소비자 요구도가 높아지고 있다(1).

시트랄은 천연항균제인 자몽종자 추출물(*grapefruit seed extract*)에 포함된 항균 성분이며 주로 자몽이나 레몬, 오렌지와 같은 감귤류에 함유되어 있는 모노테르펜의 일종으로 화학식은 $C_{10}H_{16}O$ 이다. 강한 레몬 냄새가 나는 유성(油性) 액체로, 물에는 녹지 않고, 알코올이나 에테르에 녹는다. 시스형과 트랜스형의 두 이성질체(β 및 α)로 존재하며 시중 판매되는 것은 이 두 가지 구조가 혼합된 형태이다(2). 시트랄은 FDA(Food and Drug Administration)에서 GRAS(generally recognized as safe)급으로 인체에 무해하다고 인정되는 식품첨가물이며(FDA GRAS, 21 CFR 18260), 우리나라 식품의약품안전청에서도 사용이 승인된 식품첨가물

다(3). 다른 essential oils과 마찬가지로 항균, 항진균 효과 및 향료로서의 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 항균특성으로는 그람 양성균인 *Listeria monocytogenes*에 대해 limonene, bergamot oil 보다 높은 항균효과를 나타낸다고 하였으며(4), 그람 음성균인 *Escherichia coli*와 *S. Typhimurium*에 대하여 citronellal, linalool와 같은 essential oils과 유사한 수준의 항균효과가 있다고 알려져 있다(5).

우리나라에서 90년대부터 상업적으로 유행한 녹즙은 비 가열처리 식품으로 열에 의한 영양성분 손상이 발생하지 않으며 또한 비타민, 미네랄 등이 풍부하여 건강에 유용한 것으로 알려지면서 녹즙 시장이 확대되고 있는 실정이다(6). 녹즙은 녹황색 채소가 갖는 영양소가 체내에서 소화 흡수될 수 있도록 착즙하여 제조하기 때문에 각종 항산화 성분(β -carotene, ascorbic acid, tocopherol, polyphenol 등)이 다량 함유되어 있어 간세포 보호 작용, free radical 감소효과, 항 혈전 효과, 면역 활성화 효과 등이 보고된 바 있다(7,8). 한편 녹즙은 제조 특성상 열처리를 하지 않기 때문에 유통기간 연장이 어려우며 또한 미생물적으로 안전한 제품 생산이 어려워 이러한 단점을 극복하기 위한 새로운 살균기술 개발이 요구되고 있는 실정이다(9). 최근 녹즙에 초고압처리(10), 감마선 조사(11) 등의 연구가 진행되었으나 녹즙의 관능적 품질저하 및 설치비용 과다 등의 이유로 아직까지 실용화 되지 못하고 있는 실정이다(12).

본 연구는 시트랄의 그람 양성균과 그람 음성균에 대한 항균 활성 특성을 파악하기 위하여 *S. aureus*와 *S. Typhimurium*를 대상으로 시트랄 농도와 pH에 따른 항균활성을 측정하였다. 또한 녹즙에 시트랄을 처리하여 저장기간에 따른 미생물 변화를 측정하여 천연항균제의 식품 적용가능성을 타진하였다.

*Corresponding author: Se-Wook Oh, Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea
Tel: 82-2-910-5778
Fax: 82-2-910-5249
E-mail: swoh@kookmin.ac.kr
Received July 22, 2011; revised September 22, 2011;
accepted September 23, 2011

재료 및 방법

실험 균주 및 배지

-80°C에서 보관중인 *Salmonella* Typhimurium 3종(ATCC 6994, PTU 302, ATCC 14028)과 *Staphylococcus aureus* 3종(ATCC 6538, ATCC 25923, ATCC 12600)을 해동한 뒤 tryptic soya agar (TSA; Oxoid, Hampshire, England)를 이용하여 37°C에서 배양하였다. 배양된 각 균주의 단일 콜로니를 tryptic soya broth(TSB; Oxoid) 100 mL에 1백금이 취하여 37°C에서 18시간 배양한 후 *S. Typhimurium*와 *S. aureus* 각 3종의 균을 동일한 농도로 혼합하여 cocktail을 제조하여 접종균으로 사용하였다. 시트랄 항균활성 측정 시 생균수 확인은 tryptic soya agar(TSA; Oxoid)를 사용하였고, 식품 모델 실험에서는 각 균주의 선택배지인 xylose lysine desoxycholate agar(XLD; Oxoid), baird-parker agar(BPA, with RPF supplement)를 사용하였다.

사용시약 및 재료

시트랄은 TCI(Tokyo Chemical Industry Co., Ltd, Tokyo, Japan) 제품을 구입하여 사용하였고, 시트랄 용해를 위해 사용한 유허제인 Triton X-100을 포함한 그 외의 모든 시약들은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 식품 모델로 사용한 녹즙의 주재료인 신선초(원산지: 국산)는 길음동 인근 마트에서 구입하였다.

시트랄 항균활성 측정

시트랄의 농도별 항균활성을 측정하기 위해 일반 배양배지인 TSB(pH 7.2)를 사용하였다. 유허제(Triton X-100) 0.125%(w/v)를 포함한 멸균 증류수로 용해시킨 시트랄 1 mL (최종농도: 0, 250, 500, 750, 1,000 ppm)을 8.9 mL의 TSB에 첨가한 후 실험 균주를 100 µL 접종하였다. 접종 후 37°C에서 0-5시간 방치시키며 1시간 간격으로 시료를 취하였다. pH에 대한 항균활성은 Mcvaine's buffer(0.1 M Citrate, 0.2M Na₂HPO₄)를 사용하여 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0으로 조정하였다. 각각의 pH로 조정된 buffer 8.9 mL에 시트랄 1 mL(최종농도: 500 ppm)을 넣은 후 실험 균주를 100 µL 접종하였다. 접종 후 25°C에서 0-10분까지 1분 간격으로 시료를 취하여 0.2% 펩톤수를 사용하여 10진 희석한 뒤 TSA에 도말하였다. 이후 37°C에서 24시간 배양 후 형성된 집락수를 계수하여 colony forming unit(CFU/mL)로 나타내었다.

식품 적용 실험

신선초를 세척을 통해 이물질을 제거한 뒤 자연 탈수시켰다. 탈수된 신선초를 핸드블랜더(v-6000, Buwon, Korea)로 균질화하고 4겹의 멸균 거즈를 이용하여 거른 후 test tube로 옮겨 80°C에서 20분간 열처리하여 실험에 사용하였다. 각각의 시험관에 시트랄 1 mL(최종농도: 0, 500, 1,000, 3,000, 5,000 ppm)를 첨가하고 실험 균주를 100 µL 접종한 뒤 25°C에서 0-5시간 까지 반응시키면서 10시간 간격으로 시료를 취하였다. 10진 희석한 후 XLD, BPA에 도말하여 37°C에서 24시간 배양 후 형성된 집락수를 계수하였다.

통계 분석

실험은 3반복 실시하였으며 결과의 분석은 SPSS Inc.(version 14.0)의 ANOVA와 Turkey's test, 독립표본 T 검정을 사용하여 5% 유의수준($p < 0.05$)에서 각 처리구간의 유의적 차이를 분석하였다.

결과 및 고찰

시트랄 농도에 따른 항균활성

시트랄의 농도별 항균활성을 평가하기 위해 배양배지인 TSB에서 *S. Typhimurium*와 *S. aureus*의 생육 억제 효과를 측정하였다. *S. Typhimurium*와 *S. aureus*를 7 log CFU/mL 수준으로 초기 접종한 TSB에 시트랄을 0, 250, 500, 750, 1,000 ppm 농도로 첨가한 후 37°C에서 항균활성을 측정하여 그 결과를 Table 1에 나타내었다.

*S. Typhimurium*은 250 ppm 농도에서는 2시간 처리 시 초기 균수와 비교하여 약 0.6 log 수준으로 감소가 확인되었으나 초기 균수와 유의적 차이가 확인되지 않았으며 최종 5시간 까지 항균활성의 유의적 차이가 없었다($p < 0.05$). 시트랄 500 ppm 농도에서는 5시간 처리 시 약 1.2-1.8 log 수준의 감소효과가 있었으나 처리 시간에 따른 유의적 차이는 없었다($p < 0.05$). 750, 1,000 ppm 농도에서는 *S. Typhimurium*에 대하여 반응 1시간째 각각 약 3 log, 5 log 수준의 높은 저감효과가 있었으며 1시간부터 최종 5 시간까지 균수는 유의적 차이 없이 유지되었다($p < 0.05$).

*S. aureus*는 250 ppm, 500 ppm 농도에서 처리 시간이 증가함에 따라 균수가 유의적으로 감소하여 5시간 후 각각 약 4 log, 5 log 수준의 저감효과를 나타내었다. 시트랄 750 ppm, 1,000 ppm 농도에서는 *S. aureus*가 처리 1시간 후 초기 접종균주와 비교하여 약

Table 1. Antimicrobial effect of citral against *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* Unit: Microbial count (log CFU/mL)

| M/O | Citral (ppm) | Time (h) | | | | | |
|-----------------------|--------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>S. Typhimurium</i> | 0 | 7.27±0.25 ^{1)k2)} | 6.83±0.21 ^a | 7.05±0.36 ^a | 7.58±0.70 ^a | 7.67±0.22 ^a | 7.79±0.28 ^a |
| | 250 | 7.27±0.25 ^{ab} | 6.99±0.09 ^{ab} | 6.69±0.03 ^a | 7.44±0.66 ^{ab} | 7.61±0.09 ^b | 7.69±0.33 ^b |
| | 500 | 7.27±0.25 ^a | 5.61±0.65 ^a | 5.95±0.39 ^a | 6.06±0.71 ^a | 5.74±1.11 ^a | 5.49±0.92 ^a |
| | 750 | 7.27±0.25 ^b | 4.52±0.28 ^a | 3.95±0.57 ^a | 4.46±0.34 ^a | 4.77±0.20 ^a | 3.91±1.66 ^a |
| | 1000 | 7.27±0.25 ^b | 2.36±0.62 ^a | 2.28±0.48 ^a | 2.16±0.28 ^a | 2.32±0.55 ^a | 2.26±0.45 ^a |
| <i>S. aureus</i> | 0 | 7.35±0.06 ^a | 7.47±0.18 ^a | 7.42±0.69 ^a | 7.34±0.12 ^a | 7.36±0.10 ^a | 7.31±0.02 ^a |
| | 250 | 7.35±0.06 ^d | 5.68±0.04 ^c | 5.73±0.02 ^c | 5.52±0.07 ^c | 3.99±0.05 ^b | 3.12±0.34 ^a |
| | 500 | 7.35±0.06 ^d | 4.24±0.30 ^c | 3.34±0.37 ^{bc} | 2.52±0.66 ^{ab} | 2.16±0.28 ^a | 2.36±0.32 ^{ab} |
| | 750 | 7.35±0.06 ^b | 3.35±0.20 ^a | Nd ³⁾ | Nd | Nd | Nd |
| | 1000 | 7.35±0.06 ^b | 2.76±0.43 ^a | Nd | Nd | Nd | Nd |

¹⁾All values are mean±SD of three replications.

²⁾Means with different superscripts within a row indicate significant difference ($p < 0.05$).

³⁾Nd=Not detected

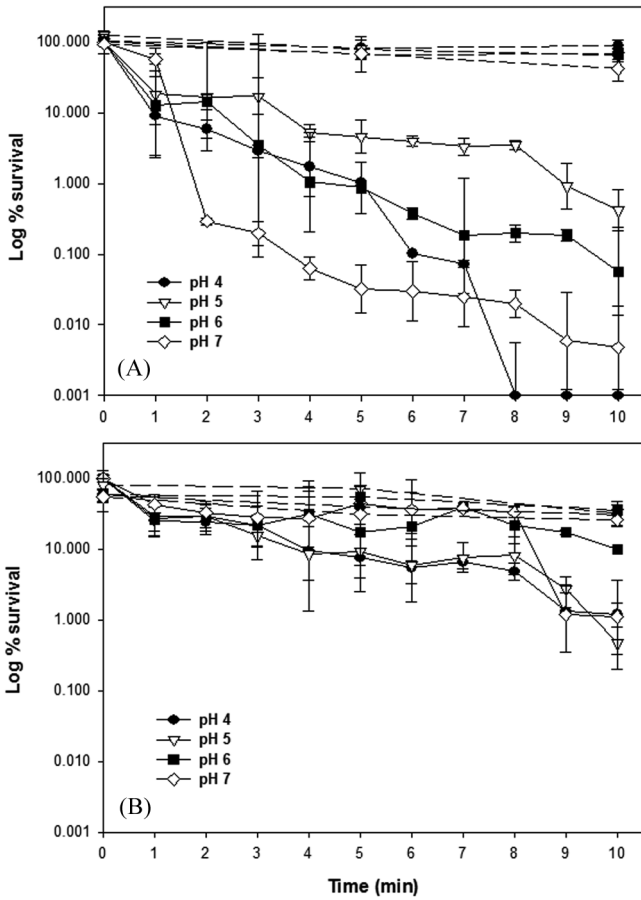


Fig. 1. Survival of *Salmonella* Typhimurium (A) and *Staphylococcus aureus* (B) in different pH buffers at 25°C with 500 ppm of citral. Dashed line, control; Solid line, 500 ppm of citral. Results are means of three observations±standard deviations (error bars).

4 log, 5 log 수준의 큰 저감효과를 나타내었으며 2시간 이후부터 실험균주는 검출되지 않았다(검출한계: 2.0 log CFU/mL). 따라서 그람 양성균인 *S. aureus*를 제어하기 위해서는 적은 농도의 시트랄도 효과적임을 알 수 있었으며 농도를 500 ppm 이상으로 높일 경우 단시간 내 제어도 가능할 것으로 생각되었다.

시트랄은 TSB에서 *S. Typhimurium*와 *S. aureus* 두 가지 균주에 대하여 농도가 높아질수록 항균활성이 증가하였으나 그람 음성균인 *S. Typhimurium*에 비하여 양성균인 *S. aureus*에 대하여 항균활성이 더 높은 것으로 측정되었다. 이는 citrus oils과 essential oils이 그람 음성 균보다 양성균에 대한 항균활성이 더 높았다고 보고된 Smith-Palmer 등(13)과 Lis-Balchin 등(14)의 보고와 일치하는 결과였다.

Helander 등(15)은 essential oils의 carvacrol과 thymol의 페놀성 화합물이 세포 외막을 파괴하여 미생물 사멸을 유도한다고 보고하였으며 Smith-Palmer 등(13)은 그람 음성균 외막은 양성균에 비해 상대적으로 침투하기 어렵기 때문에 그람 양성균이 essential oils의 항균작용에 더 민감하다고 보고하였다. 본 실험에서 사용된 시트랄은 모노테르펜 알데하이드의 일종으로 다른 essential oils과 마찬가지로 실험균주의 세포막 파괴를 유도하여 항균활성을 나타냈을 것으로 추측되며 그람 양성균인 *S. aureus*의 세포막과 비교하여 상대적으로 화합물의 침투성이 낮은 그람 음성균인 *S. Typhimurium*에 대하여 항균활성이 낮게 측정된 것으로 생각되었다.

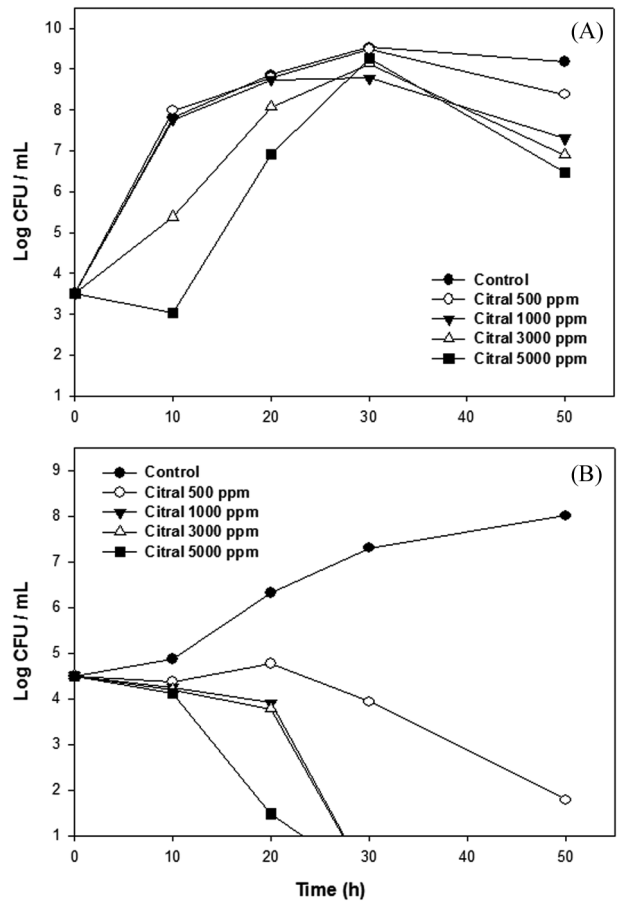


Fig. 2. Survival of *Salmonella* Typhimurium (A) and *Staphylococcus aureus* (B) in *Angelica keiskei* juice. Results are means of three observations±standard deviations (error bars).

pH에 따른 항균활성

산성 및 알칼리 식품에 시트랄 적용 시 항균활성 유효성을 높이기 위해 pH에 따른 항균활성을 조사하였다. *S. Typhimurium*와 *S. aureus*을 약 7 log CFU/mL 수준으로 접종시킨 buffer(pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0)에 시트랄을 500 ppm 농도로 상온에서 10분 처리한 후 1분 간격으로 시료를 취해 pH에 따른 항균활성을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다.

*S. Typhimurium*은 최종 10분에 도달했을 때 pH 4.0에서 검출 한계 이하로 저해되었으며 pH 7.0에서 4 log 이상의 큰 감소효과가 있었다. pH 7.0에서는 6분 이전까지 pH 4.0 보다 감소율이 약 1 log 정도 높았으나 7분부터는 유의적 차이가 없었다($p < 0.05$). 이는 *E. coli*를 대상으로 pH 4.0, 7.0에서 시트랄의 항균활성을 측정된 Somolinons 등(16)의 보고와 유사한 결과였다.

*S. aureus*는 pH에 따라 균의 감소율은 큰 차이를 보이지 않았으며 pH 4.0과 pH 5.0에서 유의적 차이를 나타내지 않았다 ($p < 0.05$). 최종 10분 처리시 pH 4.0-7.0 전 구간에서 균의 생존 감소율은 2 log 이하 이었고 pH 4.0에서 중성 범위로 갈수록 항균활성이 저하되는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

TSB와는 다르게 buffer 조건에서 시트랄은 그람 음성균인 *S. Typhimurium*에 대하여 단시간에 큰 항균효과를 나타냈으며 *S. aureus*는 *S. Typhimurium*과 비교하여 pH 조건에 안정적인 경향을 나타내었다. 이는 pH buffer와는 달리 TSB에 존재하는 영양 성분이 그람 양성균과 음성균에 서로 다르게 작용하여 서로 다

른 항균력을 나타낸 것으로 생각되었다. 이와 같이 시트랄은 pH에 따라 상이한 항균활성을 나타낼 수 있으므로 식품에 시트랄을 적용하고자 할 때 목적 균주와 대상 식품의 pH를 고려해야 할 것으로 생각되었다.

식품 적용 실험

신선초를 착즙하여 제조한 녹즙에 시트랄을 0, 500, 1,000, 3,000, 5,000 ppm 농도로 처리하여 25°C에서 일정 시간 반응시키면서 *S. Typhimurium*와 *S. aureus* 균수 변화를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다.

*S. Typhimurium*는 3.5 log CFU/mL 수준으로 접종하였으며 10 시간 간격으로 최종 50시간 까지 반응시켰다. 5,000 ppm 농도로 시트랄을 첨가한 시료에서 10시간 쯤 약 0.5 log 수준의 감소효과가 있었지만 30시간 경과 후 모든 시료에서 8-9 log CFU/mL 수준으로 균수가 증가하였다. 5,000 ppm 농도를 제외한 나머지 농도에서는 30시간까지 균수는 점차 증가하였지만 30시간 이후부터 시트랄 처리 농도가 높아짐에 따라 감소율이 조금씩 증가하는 경향을 나타내었고 각각의 농도처리 구간에서 최종 균수는 6.46-9.18 log CFU/mL로 측정되었다.

그람 양성균인 *S. aureus*을 4.5 log CFU/mL 수준으로 접종하여 위와 동일한 조건으로 시트랄을 처리하였을 때 20시간 경과 시 대조구를 제외한 나머지 처리구에서 균이 성장하지 못하였으며 시트랄 처리 농도가 증가할수록 빠르게 균이 저감되는 것으로 측정되었다. 30시간 이후 1,000 ppm 이상 농도에서는 균이 관찰되지 않았다. 500 ppm 처리 구는 30시간과 50시간 경과 후 초기 균주와 비교하여 각각 0.6 log, 2.8 log 수준의 저감효과를 나타내었다.

녹즙 실험결과 그람 양성균인 *S. aureus*는 그람 음성 균인 *S. Typhimurium*과 비교하여 시트랄에 대한 항균활성이 높게 측정되었다. Fisher와 Phillips(4)는 닭 껍질에서 그람 양성 균주인 *S. aureus*에 대한 시트랄의 항균활성이 없었지만 배춧잎에서 약 4 log 수준의 항균활성이 있다고 하여 식품 성분에 따라 항균활성이 다르게 나타날 수 있음을 알 수 있었으며 본 실험에 사용된 녹즙에서는 배춧잎과 유사한 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다.

녹즙은 제조공정상 열을 이용한 미생물관리가 어렵기 때문에 기존에 연구된 초고압처리(10), 감마선조사(11) 등의 비가열살균 기술과 더불어 천연항균제를 병행처리 하면 미생물적 안전성을 높일 수 있을 것으로 생각되었다.

요 약

본 연구는 그람 양성균과 음성균인 *S. aureus*와 *S. Typhimurium*를 대상으로 시트랄의 농도와 pH에 따른 항균활성 특성 및 식품 적용 가능성을 조사하였다. 농도별 항균활성은 TSB에 시트랄을 0-1,000 ppm 농도로 처리하였으며, pH는 buffer를 이용하여 pH 4.0에서 pH 7.0로 조정하여 측정하였다. 시트랄 농도 별 항균활성 실험에서는 두 균주 모두 시트랄 농도가 높아질수록 항균활성이 증가하였다. *S. Typhimurium*는 250 ppm 처리구에서 대조구

와 유의적 차이가 없었으나 *S. aureus*는 약 3 log 수준으로 감소되었다. pH에 따른 항균활성은 10분이 경과 후 *S. aureus*는 약 1-2 log의 감소효과를, *S. Typhimurium*는 약 2-5 log의 감소효과를 나타내었다. TSB와는 다르게 buffer 조건에서 그람 양성 균주인 *S. aureus*는 *S. Typhimurium*와 비교하여 pH 조건에 안정적인 경향을 나타내었다. 녹즙에 적용한 시트랄은 그람 음성균인 *S. Typhimurium*에 대한 항균활성은 미미하였으나 양성균인 *S. aureus*에 대하여 농도가 증가할수록 효과적으로 항균활성이 증가하였다.

문 헌

1. Cho KH, Park SG. Antibacterial effects on *Bacillus stearothermophilus* by adding natural grapefruit seed extracts in soymilk. J. Korean Ind. Eng. Chem. 16: 139-143 (2004)
2. Wikipedia. <http://en.wikipedia.org/wiki/Citral>. Accessed April 19, 2011.
3. Kim CH, Lee MS, Lee KH, Ko SH, Hong HS. Antimicrobial activity of DF-1000 (grapefruit seed extract) and its substitutional effect of preservatives in meat products. Korean J. Food Sci. An. 14: 47-52 (1994)
4. Fisher K, Phillips CA. 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. Appl. Microbiol. 101: 1232-1240 (2006)
5. Kim JG, Marshall MR, Wei C-i. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogen. J. Agr. Food. Chem. 43: 2893-2845 (1995)
6. Lee DH, Ji GH. The growth strategy of pulmuone green juice. Strateg. Manage. J. 7: 51-74 (2004)
7. Chung SY. Antioxidant nutrients of green yellow vegetable juices and nitrite scavenging effect. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 8: 37-44 (2003)
8. Shin CK. Present and prospect of fresh vegetable - extract juice industry. Food Ind. Nutr. 8: 1-7 (2003)
9. Kim MJ, Kim JH, Yook HS, Lee KH, Byun MW. Sanitizing effect of γ -irradiation on fresh vegetable-extract juices. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 378-382 (1999)
10. Martens B, Knorr D. Developments of non-thermal processes for food preservation. Food Technol. -Chicago 46: 124-129 (1992)
11. Knorr D. Effects of high-hydrostatics pressure processes on food safety and quality. Food Technol. -Chicago 47: 156-162 (1993)
12. Kwon SC, Choi GH, Yu KW, Lee KH. Microbiological and physicochemical changes of vegetable juices (*Angelica keiskei* and *Brassica loeracea* var. acephala) treated by UV Irradiation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1030-1037 (1999)
13. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Lett. Appl. Microbiol. 26: 122-188 (1998)
14. Lis-Balchin M, Buchbauer G, Ribisch K, Wenger MT. Comparative antibacterial effects of novel pelargonium essential oils and solvent extracts. Lett. Appl. Microbiol. 27: 135-141 (1998)
15. Helander IM, Aladomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, Wright AV. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. J. Agr. Food Chem. 46: 3590-3595 (1998)
16. Somolinons M, Garcia D, Condon S, Mackey B, Pagan R. Inactivation of *Escherichia coli* by citral. J. Appl. Microbiol. 108: 1928-1939 (2009)