J. Sci. & Devel. 2015, Vol. 13, No. 2: 245-250 Tạp chí Khoa học và Phát triển 2015, tập 13, số 2: 245-250
www.vnua.edu.vn

KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA TINH DẦU LÁ TÍA TÔ

Nguyễn Thị Hoàng Lan[1*], Bùi Quang Thuật[2], Lê Danh Tuyên[3], Nguyễn Thị Ngọc Duyên[4]

[1]Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt nam
[2]Trung tâm Dầu, Hương liệu và Phụ gia thực phẩm, Viện Công nghiệp thực phẩm
[3]Viện Dinh dưỡng quốc gia
[4]Sinh viên K55, Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt nam

Email[*]: hoanglan27@yahoo.fr

Ngày gửi bài: 26.08.2014 Ngày chấp nhận: 10.03.2015

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô đối với 8 chủng vi khuẩn gây hư hỏng và ngộ độc thực phẩm (*Escherichia coli, Salmonella, P. fluorescens, P. aeruginosa* VTCC-B-657, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus feacium).* Kết quả cho thấy tinh dầu lá tía tô có khả năng kháng khuẩn đối với tất cả các chủng vi khuẩn nghiên cứu ngoại trừ *P. aeruginosa*. Tác động của tinh dầu lá tía tô lên vi khuẩn gram dương mạnh hơn lên vi khuẩn gram âm. Tinh dầu nguyên chất ức chế hoàn toàn 4 chủng vi khuẩn gram dương nghiên cứu là *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus feaium* (vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch) và 1 chủng vi khuẩn gram âm là *P. fluorescens.* Nồng độ tinh dầu tối thiểu ức chế sự phát triển của các chủng vi khuẩn nghiên cứu từ 1.024 - 4.096 µg/ml và cao hơn ở 2 chủng *Escherichia coli* và *Salmonella* là >8.192 µg/ml.

Từ khóa: Tinh dầu tía tô, kháng khuẩn, *Escherichia coli, Salmonella, P. fluorescens, P. aeruginosa, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus feacium.*

Study on the Anti-bacterial Activity of Essential Oils from Perilla Leaves

ABSTRACT

The experiment was carried out to examine the anti-bacterial effects of essential oil from perilla leaves on eight spoilage and food poisoning bacteria strains (*Escherichia coli, Salmonella, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas aeruginosa VTCC-B-657, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus feacium*). The results indicated that perilla essential oil had anti-bacterial effects against all the above bacterial strains, except *P. aeruginosa*. The effect of perilla essential oil on gram-positive bacteria was stronger than that on gram-negative bacteria. The pure essential oil completely inhibited four strains of gram-positive bacteria, including *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus and Streptococcus feacium,* and one strain of gram-negative bacteria, namely *P. fluorescens.* The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was more than 8192 µg/ml for both *Escherichia coli* and *Salmonella* and from 1024 µg/ml to 4096 µg/ml for the other five studied strains.

Keywords: Anti-bacterial activity, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, P. fluorescens, P. aeruginosa,* perilla essential oil, *Salmonella, Staphylococcus aureus, Streptococcus feacium.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm, mưa nhiều, cây cối tươi tốt quanh năm, thảm thực vật rất phong phú và đa dạng. Trong số hơn 550 loại cây có chứa tinh dầu ở nước ta thì tía tô là một trong những loại cây đang được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Lá tía tô chứa 0,3-1,3% lượng tinh dầu theo chất khô (Yu et al., 2010). Tinh dầu lá tía tô từ lâu đã được con người khai thác và sử dụng vào rất nhiều mục đích khác nhau. Loại tinh dầu này chứa một số thành phần chủ yếu là perillaldehyde, limonene, á-pinene, â-caryophyllene, linalool và perilla alcohol,… (Đỗ Tất Lợi, 2003; Yu et al., 2010). Chúng được sử dụng trong y học, sản xuất nước hoa, các loại mỹ phẩm, phụ gia thực phẩm. Tinh dầu chiết xuất từ lá tía tô có tác dụng kháng khuẩn, chống ngộ độc cua cá, giảm triệu chứng trầm cảm, chống ung thư, giải cảm…

Tinh dầu lá tía tô có tác dụng kháng khuẩn *in vitro* đối với các vi sinh vật sau đây theo thứ tự hoạt tính giảm: tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*), trực khuẩn lỵ Flexner, trực khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*), liên cầu tan máu, trực khuẩn coli, phế cầu. Perillaldehyd citral có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm. Các hợp chất perillaldehyde, phenylpropanoid và â-caryophyllene,… trong tinh dầu tác dụng ức chế các loại vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm như: *Sallmonell*a, tụ cầu khuẩn, trực khuẩn lị, trực khuẩn đại tràng (Đỗ Huy Bích và cs., 2004). Geraniol trong tinh dầu lá tía tô thể hiện hoạt tính tốt đối với một số chủng vi khuẩn kháng thuốc gram (-) (Solórzano-Santos et al., 2012). Các hợp chất: linalool, limonene, perilla aldehyde, perilla alcohol, β-caryophyllene,... trong tinh dầu lá tía tô có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm, chống nhiễm trùng rất hiệu quả (Bumblauskien et al., 2009). Tinh dầu lá tía tô có khả năng ngăn chặn các độc tố đường ruột và triệu chứng ngộ độc do *Staphylococcus*. Kết quả nghiên cứu của Yu và cộng sự (2010) cho thấy tinh dầu lá tía tô ức chế khả năng tiết độc tố của vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, các độc tố sinh ra từ *Staphylococcus aureus* như á-toxin, SEA, SEB,TSST-1 đều giảm bởi tinh dầu lá tía tô và tinh dầu có hiệu quả kháng khuẩn đáng kể với các chủng vi khuẩn thử nghiệm như *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MRSA 2985, MRSA 3701. Cho đến nay đã có một số nghiên cứu trong nước về tinh dầu lá tía tô nhưng các tác giả mới chỉ tập trung vào việc xác định thành phần mà chưa có nghiên cứu nào được thực hiện về khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô Việt Nam, một loại rau thơm phổ biến của ẩm thực nước ta đồng thời là vị thuốc cổ truyền của y học Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Tinh dầu lá tía tô (*Perilla frutescens)* được chưng cất từ nguyên liệu lá tía tô thu hái tại Vân Nội – Đông Anh vào thời điểm lúc cây ra hoa rộ. Nguyên liệu được thu hái trong điều kiện khô ráo, không bị sâu bệnh và được chưng cất tại xưởng thực nghiệm - Trung tâm Dầu và Phụ gia thực phẩm, Viện Công nghiệp thực phẩm. Các chủng vi khuẩn được cung cấp bởi Khoa Công nghệ sinh học, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và Bảo tàng giống chuẩn Vi sinh vật, Đại học Quốc gia Hà Nội. Các chủng vi khuẩn được sử dụng: *Escherichia coli, Salmonella, P. fluorescens, P. aeruginosa* VTCC-B-657, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Streptococcus feacium.* Môi trường MHA (Mueller-Hilton Agar), xuất xứ Đức được dùng làm môi trường thử nghiệm. Thành phần môi trường: Infusion from meat 2 g/l, casein hydrolysate 17,5 g/l, NaCl 1,5 g/l, agar 17 g/l, pH (25°C) = 7,3 ± 0,2. Môi trường TSB (Trypticase Soy Broth) dùng làm môi trường tăng sinh vi khuẩn thử nghiệm. Thành phần môi trường: trypticase peptone 17 g/l, phytone peptone 3 g/l, NaCl 5 g/l, K_2HPO_4 2,5 g/l, glucose 2,5 g/l, pH (25°C) = 7,3 ± 0,2. Đĩa giấy đường kính 6mm do công ty TNHH Nam Khoa sản xuất đạt tiêu chuẩn quốc tế.

2.2. Phương pháp (Mahesh et al., 2008)

2.2.1. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

- Chuẩn bị dịch vi khuẩn

+ Cấy ria tạo khuẩn lạc trên môi trường thạch MHA, vi khuẩn được tồn trữ trong ống thạch nghiêng và bảo quản lạnh ở 4°C. Từ ống tồn trữ, chọn 2-3 khuẩn lạc đưa vào ống nghiệm chứa 5ml môi trường TSB đã khử trùng, nuôi cấy tĩnh ở 37°C (riêng *P. fluorescens* nuôi ở 30°C) trong 16 - 18h (riêng *Staphylococcus aureus* nuôi trong 24h).

+ Mật độ vi khuẩn sau khi nuôi cấy trong môi trường TSB được xác định theo phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 625nm

- Tiến hành

+ Dùng pipet man hút 100µl vi khuẩn mỗi loại (mật độ tế bào 10^6 CFU/ml), sau đó chang đều trên mặt thạch MHA đã khô ổn định, chờ khô bề mặt. Đĩa giấy 6mm vô trùng được thấm bão hòa tinh dầu nguyên chất, dung dịch 5% tinh dầu và chờ khô rồi đặt lên mặt thạch đã chang vi khuẩn, đè nhẹ để đĩa giấy cố định trên mặt thạch. Đĩa giấy ở giữa thấm dung dịch đối chứng, các đĩa xung quanh thấm tinh dầu nguyên chất và dung dịch 5% . Chuyển các đĩa petri vào tủ lạnh (10°C) khoảng 4 - 8h để tinh dầu khuếch tán ra thạch. Sau đó đem nuôi ở 37°C trong 16 - 18h, riêng *Staphylococcus aureus* nuôi trong 24h, *P. fluorescens* nuôi ở 30°C/16 - 18h. Đọc kết quả và ghi nhận đường kính vòng vô khuẩn. Đường kính vòng vô khuẩn (D-d) được xác định bằng đường kính vòng kháng ngoài trừ đi đường kính đĩa giấy.

+ Dung dịch 5% tinh dầu: tinh dầu được hòa tan trong DMSO 2%, sử dụng chất nhũ hóa là Tween 80 0,2%.

+ Dung dịch đối chứng gồm DMSO 2%, sử dụng 0,2% chất nhũ hóa là Tween 80 trong nước cất.

2.2.2. Xác định MIC(Minimum Inhibitory Concentration) theo phương pháp hòa tan trong môi trường lỏng TSB

- Pha dung dịch đối chứng và pha tinh dầu thành dãy nồng độ cần thử. Dãy nồng độ tinh dầu cần thử: 128 µg/ml, 256 µg/ml, 512 µg/ml, 1.024 µ g/ml, 2.048 µg/ml, 4.096 µg/ml, 8.192 µg/ml.

- Dùng pipet man hút tinh dầu đã pha loãng theo dãy nồng độ thử và dung dịch đối chứng vào các ống nghiệm đã chuẩn bị sẵn môi trường. Lắc đều cho tinh dầu và dung dịch đối chứng hòa tan đều vào môi trường. Dùng pipet man hút 20µl dịch vi khuẩn đã chuẩn bị đưa vào các ống nghiệm. Nuôi ở 37oC trong 16 - 18h, riêng Staphylococcus aureus nuôi trong 24h, P. fluorescens nuôi ở 30oC/16 - 18h. Đọc kết quả, tìm MIC của tinh dầu cho từng loại vi khuẩn.

- Cách xác định nồng độ MIC:

Nồng độ MIC được tính ở ống nghiệm có nồng độ tinh dầu thấp nhất có thể ức chế được sự phát triển của vi khuẩn. So sánh với ống nghiệm trước khi đem nuôi, ống nghiệm nào đục chứng tỏ ở nồng độ tinh dầu đó vi khuẩn vẫn phát triển, ống nghiệm nào trong như trước khi nuôi chứng tỏ ở nồng độ tinh dầu đó vi khuẩn không phát triển. Ở nồng độ thấp nhất vi khuẩn không phát triển thì kết quả được ghi nhận là nhỏ hơn hoặc bằng nồng độ đó (≤). Trong trường hợp đến nồng độ cao nhất mà vẫn thấy vi khuẩn mọc thì kết quả được ghi nhận là lớn hơn nồng độ đó (>).

2.3. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên và được lặp lại 03 lần. Số liệu thí nghiệm thu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2007. Phân tích phương sai và so sánh các trung bình ở mức ý nghĩa á = 5% bằng phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

Kết quả định tính sơ bộ khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô nguyên chất, dung dịch tinh dầu lá tía tô 5% được thể hiện ở bảng 1 và bảng 2, hình 1 và hình 2.

3.1.1. Tinh dầu nguyên chất

Với thử nghiệm tinh dầu nguyên chất, kết quả cho thấy 5/8 chủng vi khuẩn khảo sát bị ức chế hoàn toàn (vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch). Điều này có thể được giải thích bởi khả năng khuếch tán khá mạnh của tinh dầu trên bề mặt thạch cùng với đặc tính dễ bay hơi của tinh dầu ở nhiệt độ thường, hơi của tinh dầu nguyên chất không thoát ra khỏi đĩa petri đã làm ức chế hoàn toàn sự phát triển của đa số các vi khuẩn khảo sát.

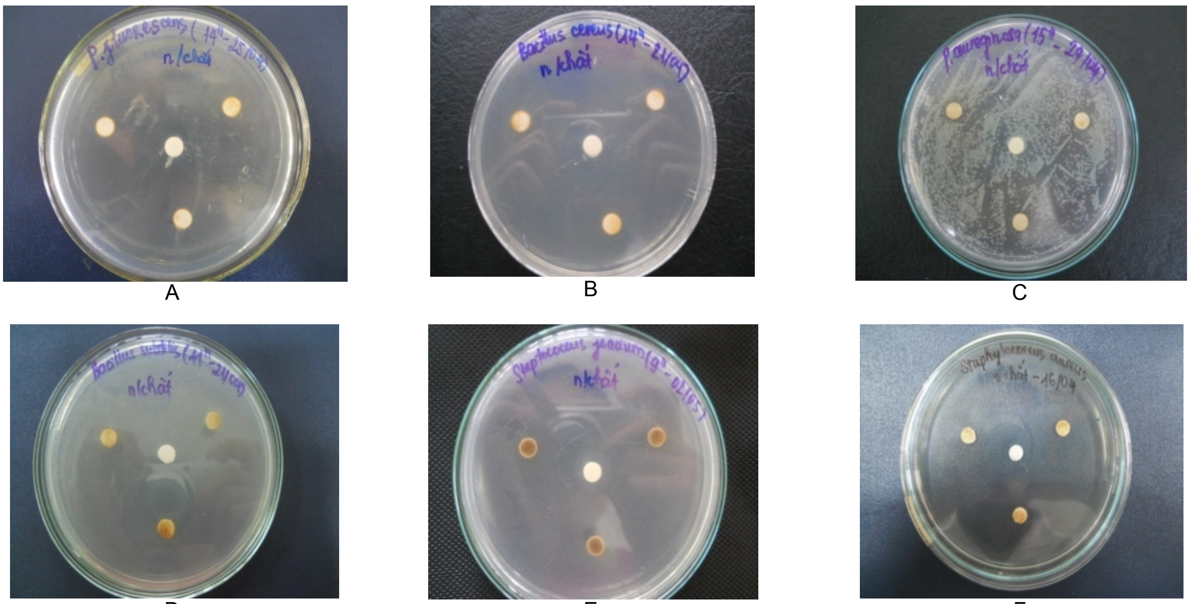
Các chủng *Escherichia coli*, *Salmonella*, *P. aeruginosa* mọc bình thường, tại những vị trí đặt đĩa giấy tẩm tinh dầu nguyên chất hình thành vòng kháng khuẩn, riêng *P. aeruginosa* không hình thành vòng kháng. Vòng kháng khuẩn đo được tương đối nhỏ và đồng đều nhau ở mỗi lần thử nghiệm, với *Escherichia coli* đường kính vòng kháng đo được là 5,26mm, với *Salmonella* đường kính vòng kháng đo được là 4,3mm.

Kết quả bước đầu cho thấy tác động của tinh dầu lên vi khuẩn gram dương mạnh hơn lên vi khuẩn gram âm. Tất cả các vi khuẩn gram dương bị ức chế hoàn toàn bởi tinh dầu lá tía tô nguyên chất (vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch). Điều này có thể được giải thích bởi sự khác nhau của thành tế bào của hai loại vi khuẩn gram âm và vi khuẩn gram dương . Thành tế bào gram dương gồm một lớp Peptidoglycan dày bao bên ngoài màng sinh chất (Plasma membrane). Thành tế bào gram âm phức tạp hơn với lớp Peptidoglycan mỏng, cách một lớp không gian chu chất (Periplasmic space) và tới lớp màng ngoài (Outer membrane) là phức hợp lipoprotein và lipopolysaccharide. Chính cấu trúc nhiều lớp này đã bảo vệ tế bào vi khuẩn gram âm trước tác động của tinh dầu và khoảng không gian chu chất chứa độc tố và enzyme có thể làm mất tác dụng của tinh dầu trước khi tác dụng lên màng sinh chất. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Yu và cộng sự (2010) về khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô trên một số chủng *Staphylococcus aureus*.

Bảng 1. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô nguyên chất

Vi khuẩn gram âm	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	Vi khuẩn gram dương	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
Escherichia coli	$5{,}26^{a} \pm 0{,}72$	*Bacillus cereus*	Vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch
Salmonella	$4{,}3^{a} \pm 1{,}03$	*Bacillus subtilis*	Vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch
P. fluorescens	Vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch	*Staphylococcus aureus*	Vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch
P. aeruginosa	-	*Streptococcus feacium*	Vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch

Ghi chú: Số liệu có chữ ở mũ giống nhau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0,05
"-" : không hình thành vòng kháng xung quanh đĩa giấy.



Hình 1. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô nguyên chất

Ghi chú: A: P. fluorescens; B: Bacillus cereus; C: P. aeruginosa; D: Bacillus subtilis; E: Streptococcus feacium; F: Staphylococcus aureus

3.1.2. Tinh dầu 5%

Tiến hành thử nghiệm với dung dịch tinh dầu 5%, tất cả các chủng vi khuẩn nghiên cứu mọc bình thường và mọc đều trên mặt thạch. Tại những chỗ đặt đĩa giấy tẩm dung dịch tinh dầu lá tía tô 5% không hình thành vòng kháng đối với 3/4 chủng vi khuẩn gram âm nghiên cứu, riêng *P. fluorescens* hình thành đường kính vòng kháng tương đối lớn là 9,58mm. Tất cả các chủng vi khuẩn gram dương nghiên cứu đều hình thành vòng kháng. Tuy nhiên đường kính đo được tương đối nhỏ nhưng đồng đều ở mỗi lần thử nghiệm. Đường kính vòng kháng khuẩn đối với *Bacillus cereus* là 4,43mm, *Bacillus subtilis* là 4,21mm, *Streptococcus feacium* là 5,2mm. Dung dịch tinh dầu 5% có tác dụng mạnh đối với *Staphylococcus aureus*, đường kính vòng kháng khuẩn đo được lớn nhất là 14,42mm.

Các kết quả trên đây cho thấy một lần nữa sự tác động của tinh dầu lá tía tô lên vi khuẩn gram âm và vi khuẩn gram dương là khác nhau. Tác động của tinh dầu lá tía tô 5% lên vi khuẩn gram dương mạnh hơn vi khuẩn gram âm.

3.2. Xác định MIC của tinh dầu tía tô

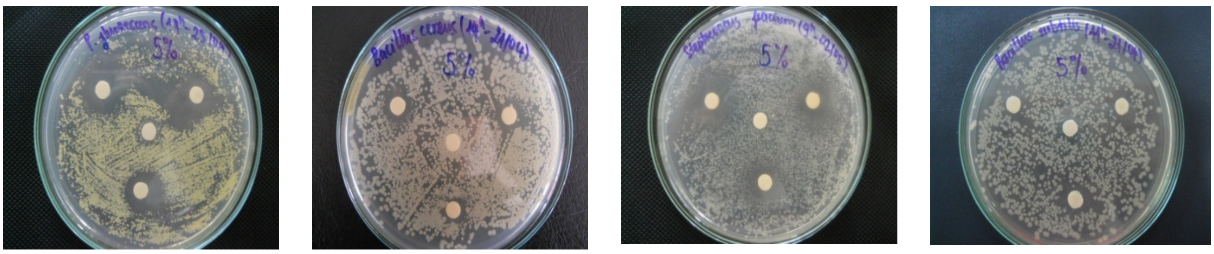
Chúng tôi tiến hành xác định MIC cho tất cả các chủng vi khuẩn nghiên cứu, loại trừ *P. aeruginosa* vì tinh dầu nguyên chất đã không kháng được. Kết quả chỉ có ý nghĩa khi ống nghiệm đối chứng vi khuẩn mọc bình thường. Giá trị MIC của tinh dầu lá tía tô trên các chủng vi khuẩn nghiên cứu được thể hiện trên bảng 3 và bảng 4.

Thông qua kết quả khảo sát có thể nhận thấy rằng MIC của tinh dầu lá tía tô đối với 2 chủng vi khuẩn gram âm là *Escherichia coli* và *Salmonella* > 8.192 µg/ml, với các chủng khác và cao hơn so với tinh dầu lá kinh giới. Riêng đối với *Staphylococcus aureus*, một loại vi khuẩn gram dương gây ngộ độc thực phẩm, chỉ cần một nồng độ tinh dầu lá tía tô khá thấp khoảng 1.024 µg/ml là có thể ức chế được. Các chủng còn lại có MIC từ 2.048 - 4.096 µg/m

Bảng 2. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô 5%

Vi khuẩn gram âm	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	Vi khuẩn gram dương	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
Escherichia coli	-	*Bacillus cereus*	$4,43^{a} \pm 0,36$
Salmonella	-	*Bacillus subtilis*	$4,21^{a} \pm 0,4$
P. fluorescens	$9,58 \pm 0,88$	*Staphylococcus aureus*	$14,42^{b} \pm 0,28$
P. aeruginosa	-	*Streptococcus feacium*	$5,2^{a} \pm 1,58$

Ghi chú: Số liệu có chữ ở mũ giống nhau thì không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0,05
"-": không hình thành vòng kháng xung quanh đĩa giấy.



A B C D

Hình 2. Đường kính vòng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô 5%

Ghi chú: A: P. fluorescens; B: Bacillus cereus; C: Streptococcus feacium; D: Bacillus subtilis

Bảng 3. Giá trị MIC của tinh dầu lá tía tô

Vi khuẩn gram âm	Nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn (µg/ml)	Vi khuẩn gram dương	Nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn (µg/ml)
Escherichia coli	>8.192	*Bacillus cereus*	2.048
Salmonella	>8.192	*Bacillus subtilis*	4.096
P. fluorescens	2.048	*Staphylococcus aureus*	1.024
		Streptococcus feacium	2.048

4. KẾT LUẬN

Tinh dầu lá tía tô có khả năng kháng khuẩn đối với tất cả các chủng vi khuẩn nghiên cứu ngoại trừ *P. aeruginosa*. Tác động của tinh dầu lá tía tô lên vi khuẩn gram dương rõ hơn lên vi khuẩn gram âm. Tinh dầu nguyên chất ức chế hoàn toàn 4 chủng vi khuẩn gram dương nghiên cứu là *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus feaium* (vi khuẩn không mọc trên toàn đĩa thạch) và chỉ ức chế hoàn toàn được 1 chủng vi khuẩn gram âm nghiên cứu là *P. fluorescens.*

Tinh dầu lá tía tô 5% ức chế mạnh các chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *P. fluorescens* với đường kính vòng kháng tương đối lớn lên đến 14,12mm và 9,58mm, trong khi đó lại có tác dụng kém hơn trên các chủng vi khuẩn *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* và *Streptococcus feaium* với đường kính vòng kháng tương đối nhỏ.

Nồng độ tinh dầu tối thiểu ức chế sự phát triển của các chủng vi khuẩn nghiên cứu chủ yếu nằm trong dãy nồng độ tinh dầu thử nghiệm, từ 1.024 - 4.096 µg/ml. Riêng MIC của 2 chủng *Escherichia coli* và *Salmonella* là > 8.192 µg/ml, nằm ngoài dãy nồng độ thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bumblauskien L., J. Vandas., J. Valdimaras., M. Ramute and R. Ona (2009). Preliminary analysis on essential oil composition of Perilla L. Cultivated in Lithuania. Acta Poloniae Pharmaceutica, Drug Research, 66(4): 409-413.

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 2. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, tr. 943-949.

Đỗ Tất Lợi (2003). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kĩ thuật, Hà Nội, tr. 648-649.

Mahesh, B., Satish S. (2008). Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. World J Agric Sci., 4[S]: 839-843.

Solórzano-Santos F and M. G. Miranda-Novales (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Food biotechnology- Plant biotechnology*, 23(2): 136-141.

Yu H-C., K. Kenichi., M. Haga (2010). Perilla: The Genus Perilla. Taylor & Francis, 206p.