

OLEJKI ETERYCZNE JAKO SUBSTANCJE AKTYWNE LUB KONSERWANTY W KOSMETYKACH

ESSENTIAL OILS AS AN ACTIVE INGREDIENTS OR PRESERVATIVES IN COSMETICS

Michalina Adaszyńska, Maria Swarczewicz

*Zakład Syntezy Organicznej i Technologii Leków, Wydział Technologii i Inżynierii
Chemicznej, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,
Al. Piastów 42, 71-065 Szczecin
e-mail: michalina.adaszynska@gmail.com; mswar@zut.edu.pl*

Abstract

Wstęp

1. Olejki eteryczne – ogólne właściwości oraz metody otrzymywania
2. Olejki eteryczne jako potencjalne substancje aktywne w kosmetykach
 - 2.1. Promotory przejścia transepidermalnego
 - 2.2. Naturalne repelenty i biopestycydy
3. Konserwacja produktów kosmetycznych
 - 3.1. Tradycyjna konserwacja produktów kosmetycznych
 - 3.2. Olejki eteryczne jako naturalne układy konserwujące kosmetyki
 - 3.2.1. Aktywność mikrobiologiczna olejków eterycznych
 - 3.2.2. Aktywność antyoksydacyjna olejków eterycznych

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

mgr. inż. Michalina Adaszyńska, absolwentka kierunku technologia chemiczna na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. W 2010 roku uzyskała tytuł magistra inżyniera, pracę dyplomową wykonywała w Zakładzie Syntezy Organicznej i Technologii Leków. Obecnie jest słuchaczką Studium Doktoranckiego przy Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej ZUT w Szczecinie, gdzie wykonuje pracę doktorską pod kierunkiem dr hab. inż. Marii Swarczewicz. Prowadzone przez nią badania dotyczą związków naturalnych występujących w roślinach i ich wykorzystanie w kosmetykach i lekach.

dr hab. inż. Maria Swarczewicz, kierownik Zakładu Syntezy Organicznej i Technologii Leków w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie od 2005. Zainteresowania naukowe: ocena zagrożeń środowiska i metody ich ograniczania w wodzie i glebie ze szczególnym uwzględnieniem pestycydów; analiza jakościowa kosmetyków. Nowy kierunek badań zespołu to: związki naturalne w kosmetykach i lekach, ich synteza i wyodrębnianie; analiza składu chemicznego; opracowanie receptur kosmetycznych oraz badania aktywności przeciwutleniających i mikrobiologicznych ekstraktów roślinnych i olejków eterycznych; izolacja oraz identyfikacja allelozwiązków wybranych roślin.

ABSTARCT

An important trend in current cosmetic industry is increasing demand for new, biologically active compounds and preservatives of natural origin. These products constitute a major ingredients of natural (organic) cosmetics and usually may also be used in typical cosmetics as functional additives. This work summarizes the perspectives of the use of essential oils as active ingredients and preservatives in cosmetic products and as biopesticides. Brief characteristics of essentials oils, their preparation and biological activity is provided. Literature data suggests that essential oils exhibit broad therapeutic effects including antibacterial, antiseptic, antifungal and antioxidant activity, they can be also used as transdermal enhancers. On the other hand, in essential oil have been found compounds which can be use as a biopesticides.

The use of essential oils in cosmetic products is possible, but requires a detailed knowledge regarding their compatibility, active concentration as well as toxicological and skin irritant characteristics. The literature review, presented in this paper, shows the great potential of essential oils as a biologically active preservatives and antioxidants, repellents and transepidermal enhancers.

Keywords: essential oils, alternative and natural preservation, antimicrobial activity, antioxidant activity, biopesticides

Słowa kluczowe: olejki eteryczne, konserwacja alternatywna i naturalna, działanie przeciwdrobnoustrojowe, działanie antyoksydacyjne, biopestycydy.

WSTĘP

Produkty kosmetyczne są nieodłącznym atrybutem naszego życia. W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie kosmetykami naturalnymi, czyli według niesprecyzowanych jeszcze jednoznacznie standardów takimi kosmetykami, które zawierają minimum 95% składników pochodzenia naturalnego (z tego minimum 70% składników powinno pochodzić z upraw ekologicznych). Popularność takich kosmetyków narzuca konieczność znalezienia konserwantów spełniających te kryteria. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów naturalnych nie pozwala bowiem na zaniechanie stosowania środków konserwujących, ale dopuszcza konserwanty identyczne z naturalnymi, których odpowiedniki występują w przyrodzie. W kosmetykach naturalnych zabroniono stosowania, m.in. parabenów [1–2]. Głównym zadaniem substancji konserwujących jest przedłużenie trwałości kosmetyku, poprzez zabezpieczenie go przed rozkładem spowodowanym przez tlen i drobnoustroje. Obecność konserwantów skutkuje utrzymaniem jakości produktu poprzez brak zmiany zapachu kosmetyku, konsystencji oraz jego wyglądu, zapobiega również powstawaniu produktów przemiany materii mikroorganizmów, które mogą być przyczyną wystąpienia podrażnień skóry i błon śluzowych. Poszukiwanie nowych, naturalnych układów konserwujących oraz substancji aktywnych pochodzenia naturalnego wydaje się być w dużej mierze spowodowana pogłoskami o szkodliwych dla zdrowia składnikach dodawanych to tradycyjnych „chemicznych” kosmetyków. W Polsce obowiązuje lista substancji konserwujących dozwolonych do stosowania w kosmetykach, z podaniem ich ilości, zakresu i warunków stosowania (załącznik nr 4 do Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 marca 2005 roku w sprawie list substancji niedozwolonych lub dozwolonych z ograniczeniami do stosowania w kosmetykach). Obecnie lista ta obejmuje 55 substancji, które mogą być stosowane w kosmetykach, ale związków chemicznych jest znacznie więcej, gdyż wiele substancji to sole oraz estry [2, 91]. Lista ta nie obejmuje takich substancji o działaniu przeciwbakteryjnym jak naturalne olejki eteryczne, gdyż ich zastosowanie jako konserwanty kosmetyków nadal stanowią przedmiot badań. Jednak obszerna literatura dotycząca olejków eterycznych wyraźnie wskazuje na możliwość zastosowania ich w praktyce kosmetycznej, ze względu na działanie przeciwbakteryjne, antyseptyczne, przeciwgrzybicze oraz antyutleniające. Z drugiej strony wzrasta zainteresowanie zastosowaniem olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych jako biopestycydów.

Artykuł dokonuje przeglądu takich aktywności olejków eterycznych, które potencjalnie umożliwiłyby ich wykorzystanie jako substancji biologicznie aktywnych oraz konserwujących w preparatach kosmetycznych, a także biopestycydach. Nie bez znaczenia pozostają obecne trendy w wielu gałęziach przemysłu promujące stosowanie preparatów, zawierających **składniki pochodzenia naturalnego**. W niniejszym artykule przedstawiono przegląd badań nad właściwościami olejków eterycznych takimi jak: antyutleniające, antybakteryjne, antygrzybicze czy repelentne.

1. OLEJKI ETERYCZNE – OGÓLNE WŁAŚCIWOŚCI I SKŁAD CHEMICZNY

Produkty pochodzenia naturalnego mają powszechne zastosowanie w przemyśle kosmetycznym, perfumeryjnym, farmaceutycznym i ostatnio w rolnictwie. Do nich zaliczane są olejki eteryczne, czyli lotne mieszaniny substancji organicznych, wydzielane z roślin lub z ich części. Olejki eteryczne otrzymuje się głównie za pomocą destylacji z parą wodną, rzadziej przez wyłaczanie, ale także poprzez adsorpcję, ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi lub ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym [3, 4].

Cechą charakterystyczną olejków eterycznych jest intensywny zapach i zróżnicowany skład. Olejki te zawierają w swym składzie nawet do kilkuset składników-związków chemicznych zwłaszcza z grupy terpenoidów. Najbardziej cennymi i charakterystycznymi ich składnikami są połączenia tlenowe: estry, alkohole alifatyczne lub terpenowe, aldehydy, ketony, tlenki (epoksydy) i laktony. Działanie olejków jest wielostronne i uwarunkowane, w dość dużym stopniu, właściwościami składnika dominującego. Olejki posiadają wiele cech wspólnych, m.in. są lotne z parą wodną, mają charakter lipofilny w temperaturze 18°C, są cieczami oraz są optycznie czynne [5, 6]. Olejki eteryczne mają bardzo skomplikowany skład chemiczny i w wielu przypadkach stanowią mieszaninę ponad 300 różnych substancji. Każdy typ olejku wykazuje nieco inny skład, jest to spowodowane zmianą takich czynników jak: temperatura, nasłonecznienie, wilgotność powietrza, itp. Zmienność ta jest także konsekwencją procesów metabolizmu w roślinach, które są dynamiczne, bo adaptują roślinę do konkretnych czynników środowiskowych. Metody badań oraz pobierania i przygotowywania próbek olejków eterycznych określa Polska Norma: PN-A-86948.

2. OLEJKI ETERYCZNE JAKO POTENCJALNE SUBSTANCJE AKTYWNE W KOSMETYKACH

Olejki eteryczne zawierające związki terpenowe wykazują działanie: przeciwzapalne, antyseptyczne, przeciwdrobnoustrojowe, relaksująco-uspokajające, rozgrzewające i wiele innych [5–8]. Terpeny mogą po aplikacji na skórę wywoływać efekt miejscowego znieczulenia. Szerokie spektrum działań olejków eterycznych może być także efektem synergistycznego lub antagonistycznego działania poszczególnych składników [5, 7]. Ze względu na charakterystyczną woń, olejki mogą także spełniać rolę substancji poprawiającej zapach. Należy pamiętać, iż mimo wielu korzyści związki terpenowe mogą wywoływać także podrażnienia, alergie kontaktowe i reakcje fotouczulające [9].

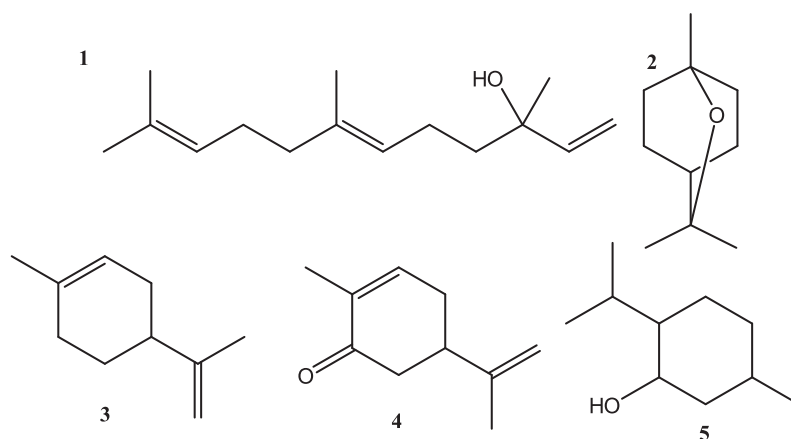
2.1. PROMOTORY PRZEJŚCIA TRANSEPIDERMALNEGO

Skóra jest narządem stanowiącym barierę chroniącą organizm przed penetracją substancji w jej głąb. Skóra zbudowana jest z naskórka (*epidermis*) z warstwą rogową (*stratum corneum*) oraz skóry właściwej (*dermis*). Główna bariera chroniąca przed większością substancji znajduje się w górnej warstwie skóry, czyli warstwie rogowej naskórka, której grubość, w zależności od stopnia uwodnienia wynosi 10–100 μm [10]. Przestrzenie międzykomórkowe warstwy rogowej wypełnione są lipidami ułożonymi w struktury laminarne, w których jednostką podstawową jest podwójna warstwa lipidowa [10, 11]. Lipidy warstwy rogowej to głównie ceramidy, cholesterol i jego estry oraz kwasy tłuszczowe.

Poprawa transdermalnego przenikania substancji w głąb skóry jest istotnym tematem badań w farmacji oraz w przemyśle kosmetycznym, ponieważ dostarcza substancję aktywną bezpośrednio w miejsce jej działania (głębsze warstwy skóry). Olejki eteryczne można wykorzystać w preparatach kosmetycznych, np. w składzie kremów – jako promotory przejścia transepidermalnego, czyli jako substancje pomocnicze odwracalnie zmieniające strukturę warstwy rogowej naskórka [12]. Warstwa rogową skóry ma taki charakter, który sprzyja przenikaniu substancji lipofilowych, niepolarnych, niezjonizowanych o niskiej masie cząsteczkowej, takich jak terpeny. Własności promotorów sorpcji posiadają niektóre składniki olejków, np. mentol, limonen czy terpineol [13]. Związki te należą do licznej grupy monoterenów, czyli związków o charakterze lipofilnym. Terpeny zmieniając strukturę warstwy rogową, zwiększają przepuszczalność skóry dla ich samych oraz innych substancji, które mogą być obecne w produkcie kosmetycznym. W przypadku promotorów lipofilowych mechanizm ich działania polega na zaburzeniu uporządkowanego układu lipidów w przestrzeniach międzykomórkowych, poprzez wbudowanie się pomiędzy ich łańcuchy [10, 14]. W przypadku braku terpenów lipidy są związane razem w warstwach przez boczne i poprzeczne wiązania wodorowe. Terpeny przerywają poprzeczne wiązania wodorowe, poszerzając przestrzeń hydrofilową (woda) blisko grup polarnych cząsteczek [15].

Badania składników olejków jako promotorów wchłaniania mają coraz więcej zwolenników ze względu na ich niewielką toksyczność oraz trendy rynkowe promujące substancje pochodzenia naturalnego. Jako promotory przejścia dla 5-fluorouracylu badano następujące olejki: eukaliptusowy (*Eukalyptus*), olejek z komosy piżmowej (*Chenopodium ambrosioides*) oraz olejek z jagodlina wonnego (*Cananga odorata*) [16–18]. W ostatnich latach prowadzone są eksperymenty dotyczące przezskórnego podawania leków z zastosowaniem terpenów pełniących rolę promotorów sorpcji (wchłaniania). Użycie terpenów jako substancji pomocniczych zmieniających strukturę warstwy rogową naskórka prowadzi do zwiększenia przepuszczalności skóry dla samych terpenów oraz substancji obecnych w danym preparacie [10, 19, 20]. Jako promotory przejścia badano następujące terpeny (Rys. 1): nerolidol (**1**), 1,8-cyneol (**2**), d-limonen (**3**) [12]. W innej pracy Krishnaiaha i współpracownicy badali takie terpeny jak: nerolidol (**1**), limonen (**3**) oraz karwon (**4**)

w połączeniu z hydroksypropylocelulozą (HPC) w formie żelu z chlorowodorkiem ondansetronu (lek przeciwwymiotny). Badania wykazały zwiększenie przepuszczalności skóry dla leku zawierającego terpeny [21]. Kolejnym przykładem jest l-mentol (**5**), który został użyty jako promotor wchłaniania chlorowodorku morfiny przez skórę szczura z dobrym wynikiem w badaniach *in vivo* [22]. Jako promotory przejścia transepidermalnego terpeny są aktywne w szczególności dla niesteroidowych leków przeciwzapalnych [20, 23].



Rysunek 1. Terpeny o właściwościach transepidermalnych.
Figure 1. Transepidermalnes properties of terpenes.

Dane na temat penetracji terpenów oraz promowania przez nie transportu substancji aktywnych w kosmetyce (w przeciwieństwie do zastosowań medycznych) niestety nie są kompletne [24, 25]. Dostępne dane dotyczą także preparatów, w których terpeny nie były jedynymi substancjami penetrującymi do skóry lub wpływającymi na proces przejścia transepidermalnego [20, 26]. Z tego powodu konieczne są ich szerokie badania w tym zakresie. Efekt działania terpenów w rozmieszczeniu warstwy lipidów przedstawiono w pracy Smitha i Maibacha w 2006 [15].

2.2. NATURALNE REPELENTY I BIOPESTYCYDY

Olejki eteryczne można wykorzystać w preparatach kosmetycznych ze względu na swą lotność jako naturalne repelenty. Repelentami nazywamy związki chemiczne lub ich mieszaniny, których zadaniem jest odstraszenie owadów, np. komarów. W chwili obecnej dozwolone jest stosowanie środków chemicznych o właściwościach repelentnych, lecz budzi to pewne wątpliwości związane z ochroną środowiska i ich wpływem na zdrowie człowieka. Częste stosowanie syntetycznych środków repelentnych może działać niekorzystnie na system nerwowy i rozrodczy [27, 28], a także może powodować odczyny alergiczne. Alternatywą jest użycie naturalnych substancji, które wykazują dobrą skuteczność oraz są przyjazne dla środowiska.

Trend na „naturalność” można także zastosować w kosmetykach odstrasżających owady, gdyż jak pokazują liczne badania, olejki eteryczne mogą być substancjami repelentnymi a odpowiednio dobrane mogą uzupełniać receptury wielu produktów kosmetycznych. Spośród ogromnej gamy olejków eterycznych, niektóre z nich odstrasżają owady. Związki naturalne mają przewagę nad takimi znanymi związkami organicznymi jak: ftalan dimetylu, adypinian dibutyłu, estry kwasu migdałowego, indalon, *N,N*-dietyloamid kwasu *m*-tolilowego. Z grupy olejków eterycznych używanych jako repelenty należy wymienić olejek bazyliowy, cytrynowy i eukaliptusowy [29]. W roku 2008 w Argentynie zostały przeprowadzone badania nad właściwościami repelentnymi olejków eterycznych wobec komarów. Repelenty w oparciu o olejki eteryczne zostały zbadane celem zastosowania ich jako alternatyw dla DEET (*N,N*-dietylo-*m*-toluamid), skutecznego związku, którego wadami są rzadkie reakcje toksyczne oraz uszkodzenia tkanki. Badania olejków: eukaliptusowego, melisowego oraz rozmarynowego, wykazały największą skuteczność repelentną wobec komarów w stężeniu 12,5%. W eksperymencie porównano główne składniki badanych olejków i zasugerowano, iż największy wpływ na właściwości odstrasżające owady mają limonen i kamfora [30]. Kolejnym potwierdzeniem aktywności repelentnej olejków eterycznych jest praca Palssona i współpracowników, w której badano składniki repelentne olejku z wrotycza pospolitego (*Tanacetum vulgare* L.). Badania pokazały, iż związkami o najsilniejszym działaniu repelentnym są: 4-terpineol, 1- α -terpineol, α -tujon i β -tujon [31]. W innej pracy badano działanie odstrasżające olejku z oregano (*Origanum vulgare*). Wykazano, iż składniki tego olejku wykazują właściwości odstrasżające wobec trojszyka gryzącego (*Tribolium castaneum*) [32]. Zagadnienia te zawiera praca przeglądowa Nerio i współpracowników, w której przedstawiono aktywność repelentną olejków: eukaliptusowego, cytronellowego, bazyliowego oraz lawendowego. Największą aktywność wykazują olejki posiadające w swym składzie takie związki jak: α -pinen, limonen, cytronelol, cytronelal, kamforę oraz tymol [33]. Badania właściwości repelentnych ośmiu olejków eterycznych pochodzących z Chin, wobec karaczana (*Balattella germanica*) wykazały, iż najsilniejszymi repelentami okazały się olejek bazyliowy i kokosowy [34].

Olejki eteryczne są potencjalnymi składnikami preparatów o charakterze biopestycydów. W roku 2008 Hadian określił potencjał przeciwrzybiczy czterech olejków eterycznych, w tym olejku lawendowego z *Lavandula angustifolia*. Olejki były testowane przeciwko trzem rodzajom grzybów: *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* i *Aspergillus Niger*. Badania potwierdzają zastosowanie olejków eterycznych, jako alternatywy dla syntetycznych fungicydów [35]. Następnie, w 2009 roku Sfara, badał właściwości odstrasżające i oddymiające pięciu olejków eterycznych. Olejek lawendowy zaliczał się do grupy, w której czas, po upływie którego wyniszczona została połowa populacji *Rhodnius prolixus* Stahl wynosił ponad 540 minut. Osobne badania przeprowadzono także dla poszczególnych monoterpenów. Najlepsze rezultaty osiągnięto za pomocą linalolu – 50% redukcji po upływie 408,7 minut. Dodatkowo olejek lawendowy wykazał aktywność odstrasżającą przy stężeniu 400 mg/cm² [14]. W tym samym czasie Uremis i in., przetestowali właściwości kilku

lotnych związków pochodzenia roślinnego przeciwko trzem chwastom (*Xanthium strumarium* L., *Avena Sterilis* L., *Phalaris brachystachys* L.). Olejki testowane były w kilku stężeniach. Wyniki wykazały, iż olejek lawendowy z *L. angustifolia* (którego głównym związkiem był linalol) i wiele innych obecnych w powyższych badaniach, mogą być alternatywą dla syntetycznych herbicydów wstrzymujących kiełkowanie wyżej wspomnianych chwastów [36].

3. KONSERWACJA PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH

Olejki eteryczne lub czyste substancje z nich wyizolowane, mogą być alternatywą dla syntetycznych substancji konserwujących, gdyż wykazują silne działanie bakteriobójcze, grzybobójcze a także antyutleniające [92, 94, 95].

3.1. TRADYCYJNA KONSERWACJA PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH

Bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów kosmetycznych należy do jednych z podstawowych zainteresowań przemysłu kosmetycznego. Konserwacja kosmetyków ma na celu zachowanie wymaganej czystości mikrobiologicznej przez cały okres ich przydatności oraz ochronę gotowego produktu przed wtórnym zanieczyszczeniem i rozwojem drobnoustrojów podczas przechowywania lub pobierania z opakowań przeznaczonych do wielokrotnego użytku [2]. Konserwację zaleca się, gdy postać lub skład kosmetyku sprzyjają przeżyciu i rozwojowi drobnoustrojów. Zanieczyszczenie kosmetyku drobnoustrojami może spowodować rozkład zawartych w nim substancji czynnych, co może ograniczyć jego przydatność terapeutyczną.

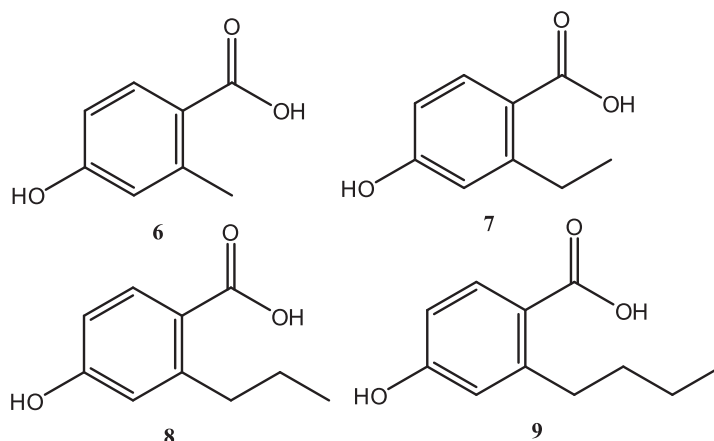
Dodawanie środków konserwujących nie może jednak zastępować Zasad Dobrej Praktyki Wytwarzania (GMP) [37]. Rozwój drobnoustrojów zależy od wielu czynników związanych z samym kosmetykiem, należy wśród nich wymienić skład kosmetyku, jak np. składniki pochodzenia biologicznego, postać – bakterie lepiej się rozmnażają w kosmetykach płynnych niż, np. w maści, a ich rozwój zależy od typu emulsji O/W lub W/O, oraz właściwości hydrofobowych. Ważnym czynnikiem są również warunki produkcji oraz stopień ochrony kosmetyku przed wtórnym zanieczyszczeniem mikrobiologicznym. Substancja konserwująca, musi odpowiadać określonym wymaganiom ustalonym z punktu widzenia bezpieczeństwa konsumenta i zachowania odpowiedniej jakości kosmetyku [2, 38]. Środki konserwujące obok barwników i związków zapachowych to jedne z najbardziej kontrowersyjnych składników kosmetycznych. Substancje te wywołują czasami alergie u użytkowników, dlatego konieczne jest ograniczenie ich zawartości do minimum, szczególnie w preparatach dla dzieci oraz tych mających kontakt ze śluzówką. Środek konserwujący powinien posiadać następujące cechy, wg [2, 39]:

- a) działanie na drobnoustroje: aktywność wobec szerokiego spektrum mikroorganizmów; małą zdolność adaptacyjną organizmów; działanie w niskich

stężeniach; szybkie działanie przeciwbakteryjne; trudności w wytwarzaniu form opornych;

- b) działanie na organizm człowieka: brak działania toksycznego/alergizującego w granicach stosowanych stężeń;
- c) ogólne cechy: aktywność w szerokim zakresie pH; rozpuszczalność w kosmetyku w wymaganym do konserwacji stężeniu; łatwość wprowadzania do preparatu, stabilność termiczną; trwałość w układzie – kompatybilność z innymi składnikami i opakowaniem; właściwości lipofilowe i hydrofilowe; brak zapachu, smaku i barwy.

Do chwili obecnej nie znaleziono związku chemicznego, który w pełni odpowiadałby wszystkim tym wymaganiom, każdy ze stosowanych ma pewne ograniczenia. Niektóre ze znanych związków przeciwbakteryjnych są bliższe powyższym wymaganiom i znalazły zastosowanie w konserwacji kosmetyków, ale dalsze badania podają sprzeczne informacje na temat ich działania. W tej grupie znajdują się kontrowersyjne parabeny (Rys. 2), m.in. metyloparaben (6), etyloparaben (7), propyloparaben (8) oraz butyloparaben (9).



Rysunek 2. Struktury chemiczne parabenów.
Figure 2. Chemical structures of parabenes.

Środki konserwujące wywodzą się z grupy substancji o działaniu przeciwbakteryjnym, stosowanych w dezynfekcji, antyseptyce, a niekiedy także w chemioterapii. Należą do różnych grup chemicznych i różny jest zakres ich działania. W konserwacji kosmetyków spełniają podstawowe zadania – uniemożliwiają rozwój drobnoustrojów, czyli działają bakteriostatycznie lub zabijają drobnoustroje – działają bakteriobójczo [2, 40].

Środki konserwujące wykazują różną aktywność i różny zakres działania przeciwdrobnoustrojowego, co jest to związane z ich budową chemiczną i mechanizmem działania na żywą komórkę. Konserwanty mogą być skuteczne w stosunku do pewnych grup drobnoustrojów w zależności od różnego pH, lub różnego składu środo-

wiska. Stopień aktywności zależy także od stężenia danego konserwantu. Drobnoustroje charakteryzują się określonymi właściwościami gatunkowymi wynikającymi z cech ich metabolizmu oraz obecnych w nich enzymów i to decyduje o stopniu i rodzaju wrażliwości na niszczące je związki chemiczne. Z punktu widzenia potrzeb konserwacji różnych grup kosmetyków najważniejsza wydaje się aktywność w stosunku do następujących mikroorganizmów: *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Candida albicans*; *Aspergillus niger*.

3.2. OLEJKI ETERYCZNE JAKO NATURALNE UKŁADY KONSERWUJĄCE

Obecnie istnieje znaczące zainteresowanie produkcją kosmetyków pozbawionych konserwantów syntetycznych. Rosnący sceptycyzm konsumentów w stosunku do bezpieczeństwa stosowania chemicznych środków konserwujących zmusza przemysł kosmetyczny do poszukiwania alternatywnych środków konserwujących. Trend stosowania produktów pochodzenia naturalnego, w ciągu ostatnich kilku lat, rozwija się bardzo intensywnie. Naturalne konserwanty to substancje pochodzenia roślinnego, które zapobiegają rozkładowi gotowego produktu kosmetycznego. Tryb działania substancji naturalnych o działaniu konserwującym związany jest z zahamowaniem wzrostu mikroorganizmów, utleniania i pewnych enzymatycznych reakcji występujących w produktach kosmetycznych [38, 94, 95]. Rosnąca świadomość konsumentów, dotycząca aspektów zdrowotnych oraz bezpieczeństwa stosowania substancji chemicznych powiększyła zainteresowanie produktami naturalnymi, jako alternatywy w zabezpieczaniu mikrobiologicznym różnych produktów [41, 96]. W związku z tym, poszukiwane są naturalne substancje konserwujące. Trend ten uległ przyspieszeniu po doniesieniach o obecności parabenów w tkance piersiowej kobiet chorujących na raka, a także udowodnieniu estrogennego działania butyloparabenu [42]. Blisko dziesięć lat temu opublikowano pracę, która przedstawia zależność występowania nowotworów piersi u kobiet stosujących antyperspiranty zawierające parabeny. W 2004 roku zespół Darbre zbadał bowiem próbki raka piersi pobrane od 20 pacjentek. Parabeny wykryto we wszystkich próbkach, w średnim stężeniu 20,6 ng/g tkanki. Związki te wykryto w niezmienionej formie (tj. w formie estrów), co oznacza, że przedostały się do nich przez skórę z pominięciem układu pokarmowego [43]. Innym efektem działania substancji imitujących estrogeny jest ich wpływ na obniżenie płodności mężczyzn. Niezależnie od wyników dalszych badań nad estrogennym działaniem parabenów, producenci powinni rozważyć ograniczenie użycia tych związków w kosmetyce. Do dziś nauka nie potwierdza tej zależności, ani jej bezsprzecznie nie odrzuca, dlatego parabeny są dość kontrowersyjnymi środkami konserwującymi [43, 44]. Zaproponowano, iż inne chemiczne klasy środków konserwujących mogą mieć szkodliwe działanie na organizm ludzki. Nie ma jednak badań, które w sposób jednoznaczny wskazywałyby na szkodliwość wymienionych związków. Nasilające się dyskusje i krytyka dotycząca konserwantów chemicznych, powodują, że w przemyśle kosmetycznym dąży się do uzyskania pro-

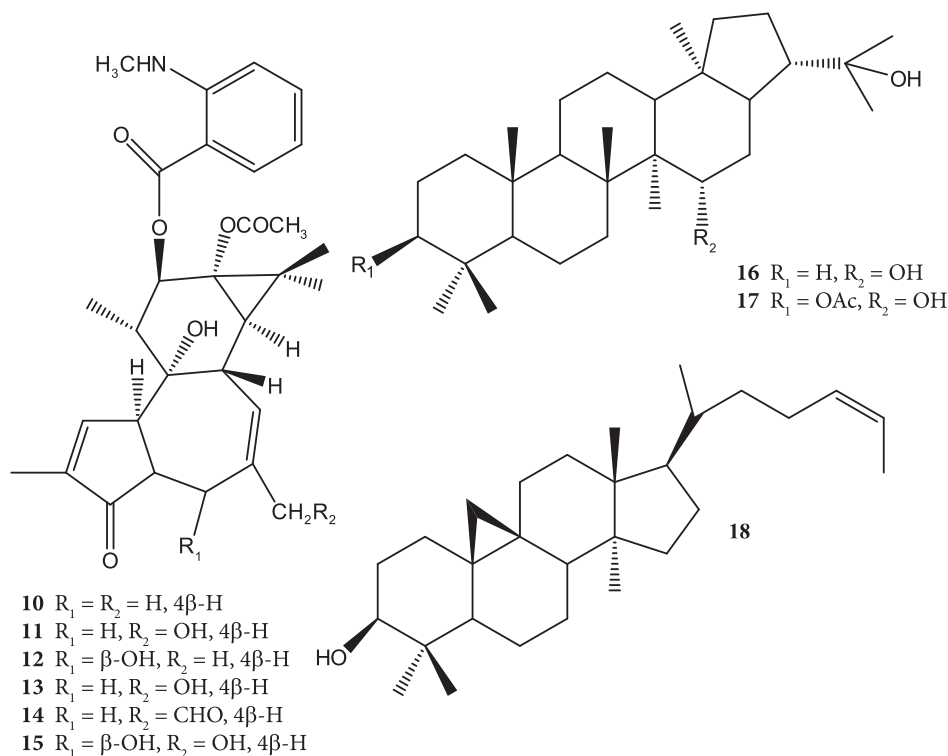
duktów bezpiecznych i trwałych, a jednocześnie pozbawionych surowców pochodzenia petrochemicznego i syntetycznego. Natura oferuje obszerną grupę naturalnych konserwantów, wykazujących spektrum mechanizmów obronnych przeciw zanieczyszczeniom mikrobiologicznym. Biorąc pod uwagę fakt, iż alergię po użyciu kosmetyków występują coraz częściej, co może to być powiązane z obecnością syntetycznych środków konserwujących, uzasadnione jest poszukiwanie odpowiedników pochodzenia naturalnego, takich jak olejki eteryczne [2, 39, 45, 46], które nie są wprowadzone ustawowo zgodnie z VI aneksem Dyrektywy 76/768/EEC o dozwolonych chemicznych środkach konserwujących. Próba stworzenia kosmetyków bez użycia konserwantów syntetycznych, polega na doborze naturalnych związków chemicznych lub ich mieszanin, które powinny być bezpieczne oraz aktywne wobec mikroorganizmów obecnych na skórze człowieka.

3.2.1. Aktywność mikrobiologiczna olejków eterycznych

Badania dotyczące właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych olejków eterycznych prowadzone były od dawna. Głównymi składnikami olejków eterycznych są związki terpenoidowe, które wykazują szerokie spektrum właściwości biologicznych. Aktywność mikrobiologiczna terpenów i terpenoidów jest zainteresowaniem wielu badaczy. Udowodniona została ich aktywność przeciwbakteryjna [47–60, 93] oraz przeciwgrzybicza [46, 61–66, 75]. W pracy Cantrella i współpracowników opisano 118 związków terpenoidowych pochodzenia naturalnego i syntetycznego, o udowodnionym działaniu antymikrobiologicznym przeciwko pałeczkom gruźlicy [58]. Najlepsze efekty działania terpenoidów w niszczeniu pałeczek gruźlicy zebrał i opisał zespół pod kierownictwem Okunade. Silnie działającymi terpenoidami (Rys. 3) były estry forbolu (**10–15**), dustanina (**16**), 15-acetoksydustanina (**17**), cykloartenol (**18**) [57].

Wiele znanych olejków eterycznych wykazuje właściwości antymykobakteryjne. Przykładem są olejki otrzymywane z: rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*) [67], lawendy lekarskiej (*Lavandula officinalis*) [68], tymianku pospolitego (*Thymus vulgaris*) [69], eukaliptusa (*Eukalyptus globulus*) oraz szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) [39]. Interesujące wyniki uzyskano stosując olejek z drzewa herbacianego, a więc mieszaninę takich monoterpenów jak: terpinen-4-ol, α -terpineol, 1,8-cyneol oraz linalol. Związki te okazały się mieć znaczące działanie na szczepy zarówno bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych [70]. Badano wrażliwość szczepów *Staphylococcus aureus* na olejek drzewa herbacianego, uzyskując wartości MIC w przedziale od 0,16 do 0,32% [71]. Porównywano aktywność składników olejku z drzewa herbacianego wobec grzybów z rodzajów: *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Saccharomyces*. Najwyższą przeciwgrzybiczą aktywnością wykazał się terpinen-4-ol i α -terpineol (wartości MIC od 0,008 do 0,25%). Dla dermatofitów uzyskano niższe wartości MIC w porównaniu z innymi grzybami [72]. Z kolei, w badaniach przeprowadzonych

w 2009 roku, wartości MIC olejku drzewa herbacianego dla klinicznych szczepów *Staphylococcus aureus* mieściły się w granicach od 0,125 do 0,5% [73].



Rysunek 3. Terpenoidy o działaniu antymykobakteryjnym.
 Figure 3. Antimycobacterial activity of terpenoides.

W roku 2002 zespół pod kierownictwem Muyima wykonał badania dotyczące aplikacji niektórych olejków eterycznych, jako naturalnych składników ochronnych w emulsjach. Jednym z nich był olejek lawendowy *Lavandula officinalis*. Przedmiotem badań była ocena zdolności ochronnych przeciw zanieczyszczeniom mikrobiologicznym badanych olejków. Testy przeprowadzono wobec: *Escherichia coli* ATCC 35218, *Staphylococcus aureus* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus Niger* ATCC 16404, *Ps. Aeruginosa* i *Ralstonia pickettii*. Olejki z badanych roślin uzyskano przeprowadzając destylację z parą wodną świeżych liści badanych gatunków. Wykorzystany krem odpowiadał wymogom *British Pharmacopoeia*, zawierającego EDTA, jako chelator. Wśród wszystkich przetestowanych mikroorganizmów jedynie bakterie szczepu *Pseudomonas aeruginosa* wykazywały wrażliwość na olejki [45].

W 2005 roku naukowcy z Iranu przeprowadzili badania dotyczące aktywności antybakteryjnej kilku olejków eterycznych, w których składzie pojawiły się takie związki jak: tlenek kariofilenu, α - i β -pineny, limonen, linalol i jego pochodne oraz

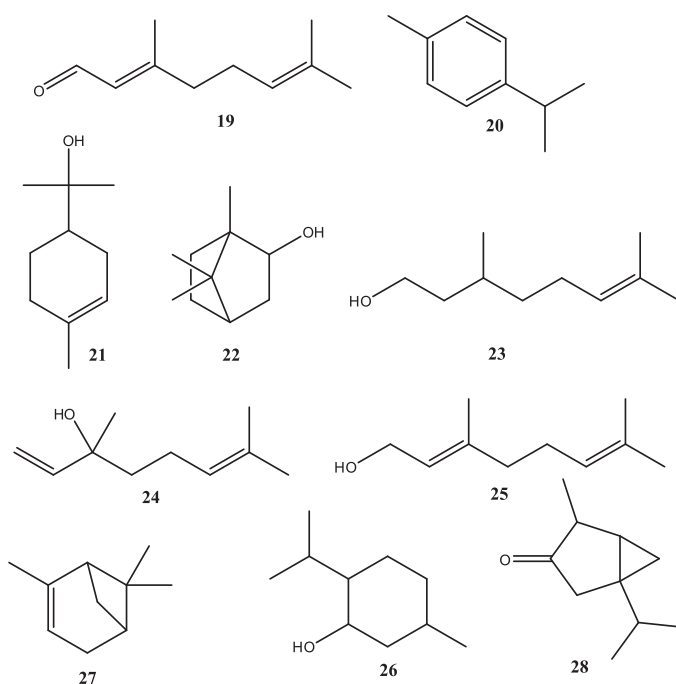
wiele innych. Według uzyskanych wyników największą aktywność wykazywał olejek z przewłoki czarnej (*Smyrniium olusatrum*), w którym składnikami głównymi były: tlenek kariofilenu i β -pinen. Hamował on rozwój przede wszystkim bakterii Gram-dodatnich, takich jak *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.sarprophyticus* [74]. Następnie w roku 2007 zbadano właściwości przeciwgrzybiczne ośmiu olejków eterycznych z różnych odmian lawendy, a także trzech destylatów lawendowych. Badania wykazały, iż żadne z destylatów nie miały wpływu na którykolwiek z czterech wykorzystanych grzybów (*Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* oraz *Sclerotinia sclerotiorum*). W stosunku do *Aspergillus nidulans* najlepsze wyniki uzyskano przy zastosowaniu olejku z *L. amgustifolia* oraz *L. x intermedia*. Podobnie było w przypadku *Trichophyton mentagrophytes*. Olejek z *L. stoechas* wywierał największy wpływ hamujący w stosunku do *Sclerotinia sclerotiorum*. Nie wszystkie olejki wykazywały aktywność grzybobójczą wobec *Leptosphaeria maculans* [75]. Flora i in. (2008) badali aktywność mikrobiologiczną olejków eterycznych przeciw takim mikroorganizmom jak: bakterie szczepów *E.coli*, *Staphylococcus aureus* oraz *Listeria innocua*. Olejki zastosowano w sześciu różnych stężeniach (w tym również nierozcieńczone olejki). W postaci czystej praktycznie wszystkie wykazywały aktywność w stosunku do każdego ze szczepów bakteryjnych. Olejek lawendowy wykazał się aktywnością przeciwbakteryjną nawet przy stężeniu 5% w stosunku do *S. aureus* oraz *E. coli*. W czystej postaci, a także przy stężeniu 10% działał bakteriobójczo na *L. innocua* [76].

Aktywność przeciwdrobnoustrojową wykazuje także olejek cedrowy. Przeprowadzono badania oceniające wrażliwość grzybów drożdżopochodnych na olejek cedrowy [77]. Badania wykazały, iż spośród wszystkich ocenianych grzybów drożdżopodobnych największą wrażliwość na olejek cedrowy wykazały szczepy z gatunku *Candida parapsilosis* i *C. utilis*.

Kolejnym olejkiem eterycznym o potencjalnym działaniu konserwującym jest olejek z lebidki pospolitej (*Origanum vulgare L.*). Daferera i współ. potwierdzili grzybobójcze właściwości olejku lebidkowego, związane z wysoką zawartością karwakrolu oraz tymolu. W badaniach *in vitro* wykazano też, że olejek ma działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec licznych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, włączając bakterie odporne na antybiotyki [78, 79]. Lopez i współ., porównali aktywność przeciwdrobnoustrojową olejku lebidkowego z olejkiem cynamonowym i tymiankowym. Olejek z lebidki wykazywał najsilniejsze działanie wobec bakterii Gram-dodatnich, tj.: *S. aureus* (MIC – 13,1 μ l/l), *E. faecalis* (MIC – 34,9 μ l/l), *L. monocytogenes* (MIC – 26,2 μ l/l) oraz *B. cereus* (MIC – 17,5 μ l/l) [80]. Aktywność mikrobiologiczną olejku cynamonowego badały zespoły Gupty i Ranasinghe. Eksperymenty wykazały, iż ma on silne działanie wobec następujących bakterii: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginos* oraz grzybów: *Alternaria sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.* [52, 81]. W roku 2009 badacze z Pol-

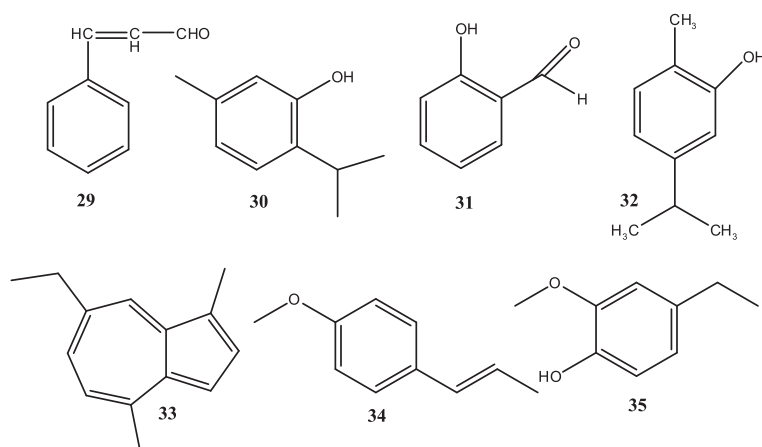
ski przetestowali aktywność mikrobiologiczną handlowych olejków: lawendowego, cytrynowego oraz olejku z drzewa herbacianego w emulsjach typu O/W. Badano także możliwość wykorzystania olejków eterycznych w układach z syntetycznymi środkami konserwującymi, np. hydantoiną (DMDM, hydantoin), EDTA czy 3-jodo-2-propylokarbaminianem butylu. Hamująca aktywność badanych olejków ustalona na podstawie wartości MIC była następująca: olejek drzewa herbacianego > olejek lawendowy > olejek cytrynowy. Tym samym wrażliwość drobnoustrojów była następująca: *Asp. niger* > *Candida sp.* > *Staph. aureus* > *Ps. aeruginosa*. W związku z tym, w eksperymencie *in vitro* drożdże i pleśnie były bardziej wrażliwe niż bakterie. Olejki eteryczne bez syntetycznych środków konserwujących działały jak aktywny system konserwujący przeciwko bakterii *Staphylococcus aureus*. Działanie zaproponowanych systemów wprowadzonych w eksperymencie do lotionów i płynów do mycia, wydaje się być dość obiecujące. Jednakże możliwość interakcji pomiędzy składnikami olejku, syntetycznymi środkami konserwującymi a komponentami danego kosmetyku są trudne do przewidzenia. W związku z tym konieczne są dalsze badania każdego układu konserwującego w konkretnym preparacie kosmetycznym [46]. W innej pracy badano biodegradowalne surowce kompleksujące i wykazano, w kilku testach, ich korzyści stosowania, w przypadku receptur pozostających na skórze po aplikacji [82]. Istnieje więc możliwość połączenia takich surowców z olejkami eterycznymi i wykorzystania ich jako odrębne układy konserwujące.

Należy pamiętać, iż chemiczne kompozycje zapachowe mogą odgrywać kluczową rolę w przeciwdrobnoustrojowej aktywności olejków eterycznych pozyskiwanych ze źródeł naturalnych. Do najbardziej aktywnych związków należą różne aldehydy i alkohole (zarówno alifatyczne, jak i aromatyczne), terpeny oraz kwasy organiczne. Przykładem mogą być takie mieszaniny związków zapachowych, jak: linalol, alkohol fenyloetylowy oraz octan benzylu, które już w 1990 roku zostały zaproponowane jako alternatywne środki konserwujące w celu zmniejszenia ilości używanych parabenów w produktach kosmetycznych [83]. W roku 2010 zbadano działanie składników olejkowych z trzech grup monoterpenu na wzorcowe szczepy bakterii i grzybów. Wykazano (Rys. 4), iż najsilniejsze działanie na wszystkie szczepy wywierały: cytral (**19**), *p*-cymen (**20**), α -terpineol (**21**), borneol (**22**). W niektórych przypadkach wykazano także silne działanie takich substancji olejkowych jak: cytronelol (**23**), linalol (**24**), geraniol i jego octan (**25**), mentol (**26**), α -pinen (**27**), oraz tujon (**28**). Oprócz monoterpenu aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą wykazują także niektóre seskwiterpeny (Rys. 5), aldehydy, alkohole oraz dicykliczne etery. Silne działanie przeciwdrobnoustrojowe wykazuje: aldehyd cynamonowy (**29**), tymol (**30**), aldehyd salicylowy (**31**), karwakrol (**32**), chamazulen (**33**), anetol (**34**) oraz eugenol (**35**) (MIC w przedziale 50–250 $\mu\text{g/ml}$). [65].



Rysunek 4. Budowa chemiczna monoterpenowych składników olejkowych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candidia albicans*.

Figure 4. Chemical structure of monoterpenoids as ingredients of essential oil with anti-bacterial activity against of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candidia albicans*.



Rysunek 5. Budowa chemiczna wybranych składników olejkowych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej o charakterze seskwiterpenów, aldehydofenoli, fenoli prostych.

Figure 5. Chemical structures of chosen ingredients of essential oil with anti-bacterial activity from sesquiterpenoids, phenolic aldehydes and phenols.

3.2.2. Aktywność antyoksydacyjna olejków eterycznych

Kolejnym interesującym zagadnieniem są właściwości antyoksydacyjne olejków eterycznych. Właściwości przeciwutleniające polegają na spowalnianiu lub uniemożliwianiu powstawania niepożądanych zmian, w innych substancjach, na skutek utleniania. Niektóre olejki mogą być wykorzystane w preparatach kosmetycznych jako substancje chroniące pozostałe składniki kosmetyku przed utlenieniem, np. oleje i tłuszcze. W ostatnich latach prowadzone są badania, między innymi, nad właściwościami antyoksydacyjnymi olejków lawendowych. W roku 2009 badacze z Portugalii [85] przeprowadzili badania dotyczące właściwości antyoksydacyjnych olejków z różnych odmian lawendy. Bez względu na sposób prowadzenia oznaczenia, najlepsze wyniki wykazały olejki odmiany *L. luisieri*, w których głównymi składnikami są 1,8-cineol (26–34%), oraz octan *trans- α -necrodyłu* (11–18%). W roku 2010 kilkakrotnie badano właściwości antyoksydacyjne lawendy. Badacze z Afryki [47] przeprowadzili test metodą rodankową. Jak pokazały wyniki, aktywność przeciwutleniająca olejku wykazywała tendencję wzrostową w miarę wzrostu stężenia. Najwyższy procent hamowania tworzenia grup nadtlenkowych przez kwas linolowy wynosił 87,9% przy stężeniu 4 mg/ml olejku. W tym samym roku inni badacze prowadzili podobny eksperyment, jednak obiektem badań była lawenda odmiany *L. dentata*. Uzyskali oni podobnie zadowalające wyniki, wykazując dodatkowo różnicę pomiędzy właściwościami zmiatania wolnych rodników (przeprowadzono analizę za pomocą rodnika DPPH*) przez olejki eteryczne otrzymane z napowietrznych części rośliny oraz przez te, uzyskane z kwiatów lawendy [86]. W latach 2006–2007 prowadzono badania nad aktywnością antyoksydacyjną olejków eterycznych uzyskanych z różnych gatunków i odmian mięty. Oceniane, w doświadczeniu, olejki eteryczne otrzymane z różnych gatunków i odmian mięty różniły się aktywnością antyoksydacyjną. Istotnie, największą aktywnością antyoksydacyjną olejku charakteryzowała się mięta kędzierzawa (29%) [87]. Kolejnym olejkiem o zbadanych właściwościach antyoksydacyjnych jest olejek z tymianku (*Thymus caramanticus*). Jak wykazały badania, działanie przeciwrodnikowe olejku z tej rośliny jest na tyle wysokie, że może stać się naturalnym źródłem antyoksydacyjnych substancji, które mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym. Olejek eteryczny wykazuje znaczącą inhibicję procesu autooksydacji kwasu linolowego – 79% [88]. Innym testem aktywności antyoksydacyjnej olejków eterycznych były badania przeprowadzone przez irańskich badaczy. Wykazali oni, iż najwyższą zdolność redukcji rodnika DPPH* miał olejek mięty długolistnej (*Mentha longifolia*) – 93% oraz olejek cząbrzu ogrodowego (*Satureja mutica*) – 93% [89]. W roku 2011 zbadana została aktywność antyoksydacyjna olejku eterycznego z kwiatów pokrzywca (*Acalypha hispida*). Badania wykazały, iż aktywność antyoksydacyjna olejku wynosiła 26% [90]. Jak pokazują powyższe badania olejki eteryczne mogą pełnić ważną rolę w zmniejszeniu uszkodzeń oksydacyjnych wynikających ze stylu życia, procesów chorobotwórczych, czy z zanieczyszczeń powietrza. Zapewnia to dalszą drogę badań w wykorzystaniu ich jako substancji aktywnych w kosmety-

kach a także substancji pełniących funkcję ochronną składników danego produktu kosmetycznego.

PODSUMOWANIE

Olejki eteryczne wykazują szerokie spektrum właściwości biologicznych w tym farmakologicznych, przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych, repelentnych, biopestycydowych oraz antyutleniających. Główne składniki olejków eterycznych – terpeny są obiecującymi substancjami w zastosowaniu jako promotory przejścia transepidermalnego w preparatach kosmetycznych, ze względu na stosunkowo bezpieczny potencjał ich stosowania. Dzięki różnym kierunkom działania biologicznego olejki eteryczne mogą być pożądanymi składnikami preparatów kosmetycznych, a także biopestycydów. Należy podkreślić, iż stosowanie mieszanin olejków eterycznych lub wyizolowanych związków terpenoidowych może działać synergistycznie. Olejki eteryczne mają wysoki potencjał zapewniając efektywny i bezpieczny efekt odstraszający (repelentny). Mieszaniny układów olejków eterycznych mogą zostać zastosowane do wspomaganie konserwowania preparatu kosmetycznego, dodatkowo odpowiednio dobrane mogą pełnić rolę środka zapachowego. Wadą takich układów jest wzrost kosztów produkcji oraz częste niezgodności z recepturą kosmetyczną.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Siekierski, SOFW J. Edycja Polska, 2008, 1, 2.
- [2] M. Sikora, *Konserwanty – konieczność stosowania, kosmetyki tradycyjne, kosmetyki naturalne*, Mat. Konferencyjne Bezpieczeństwo mikrobiologiczne preparatów kosmetycznych. Nowoczesne konserwanty, Warszawa, 2011.
- [3] Z. Jerzmanowska, *Substancje roślinne – metody wyodrębniania*, PWN, Warszawa 1970.
- [4] R. Kasprzykowska, A. Kołodziejczyk, K. Stachowiak, E. Jankowska, *Preparatyka i analiza związków naturalnych*, Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2009.
- [5] S. Kohlmünzer, *Farmakognozja, podręcznik dla studentów farmacji*, PZWL, Warszawa 2003.
- [6] J. Góra, A. Lis, *Najcenniejsze olejki eteryczne*, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń, 2007.
- [7] R.D. Camp, *J. Invest. Dermatol.*, 2005, 123, 18.
- [8] A. Zhiri, D. Baudox, *Chemotyped essential oils and their synergies*, Inspier development, Luxemburg, 2005.
- [9] B.M. Hausen, *Dermatitis*, 2003, 15, 2.
- [10] A.C. Williams, *Transdermal and topical drug delivery*, Pharmaceutical Press, London, Chicago, 2003.
- [11] D.A. Burns, S.M. Breathnach, N.H. Cox, *Rook's textbook of dermatology*, Blackwell Science, Oxford, 2004.
- [12] A.C. Williams, B.W. Barry, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004, 56, 603.
- [13] S.T. Narishetty, R. Panchagnula, *J. Control. Release*, 2005, 202, 59.
- [14] V. Sfara, *J. Medical Entomology*, 2009, 46, 511.

- [15] E.W. Smith, E.I. Maibach, *Percutaneous Penetration Enhancers*, CRC Press, 2006.
- [16] A.C. Williams, B.W. Barry, *Int. J. Pharm.*, 1989, **57**, 7.
- [17] A.C. Williams, B.W. Barry, *Pharm. Res.*, 1991, **8**, 17.
- [18] A.C. Williams, B.W. Barry, *Int. J. Pharm.*, 1991, **74**, 157.
- [19] I.B. Pathan, C.M. Setty, *Trop. J. Pharm. Res.*, 2009, **8**, 173.
- [20] M. Rizwan, M. Aqil, S. Talegaonkar, A. Azeem, Y. Sultana, A. Ali, *Recent Patents on Drug Delivery and Formulation*, 2009, **3**, 105.
- [21] Y.S.R. Krishnaiah, V.B. Raju, Rama B., V. Raghuramurthy, K.V. Ramana K.V., *Pharm. Develop. Technol.*, 2008, **13**, 77.
- [22] H. Morimoto, Y. Wada, T. Seki, K. Sugibayashi, *Biol. Pharm. Bull.*, 2002, **25**, 134.
- [23] A. Nokhodchi, K. Sharbiani, M.R. Rashidi, *Int. J. Pharm.*, 2007, **20**, 97.
- [24] P. Karande, S. Mitragotri, *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 2009, **1788**, 2362.
- [25] M. Saeedi, K. Morteza-Semnani, *J. Essential Oil-Bearing Plants*, 2009, **12**, 728.
- [26] I. Sing, P. Sri, *Asian J. Pharm.*, 2010, **2**, 92.
- [27] S. Selim, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1995, **25**, 95.
- [28] T.G. Osimitz, J.V. Murphy, *J. Toxicol. Clin.*, 1997, **35**, 435.
- [29] R. Glinka, *Receptura kosmetyczna*, MA Oficyna Wyd. Łódź 2003.
- [30] Y.G. Gillij, R.M. Gleiser, J.A. Zygadlo, *Bioresource Technology*, 2008, **7**, 2507.
- [31] K. Palsson, T.G.T. Jaensen, P. Baekstrom, A.K. Borg-Karlson, *J. Med. Entomology*, 2008, **45**, 88.
- [32] S.I. Kim, J.S. Toon, J.W. Jung, K.B. Hong, Y.J. Ahn, H.W. Kwon, *J. Asia-Pacific Ethnology*, 2010, **13**, 369.
- [33] L.S. Nerio, J. Olivero-Vorbel, E. Stashenko, *Bioresource Technology*, 2010, **101**, 372.
- [34] Z. Liu, X. Yu, X.M. Li, T. Wan, S.S. Chu, *Rec. Natur. Prod.*, 2011, **5**, 176.
- [35] J. Hadian, *J. Essential oil – Bearing Plants*, 2008, **11**, 553.
- [36] I. Uremis, *Asian Journal of Chemistry*, 2009, **21**, 3199.
- [37] M. Aleksandrowicz, *Higiena produkcji. Monitorowanie warunków środowiska*, Mat. Konferencyjne Bezpieczeństwo mikrobiologiczne preparatów kosmetycznych. Nowoczesne konserwanty. Warszawa, 2011.
- [38] M.R. Meena, V. Sethi, *Indian Food Packer.*, 2007, **25**, 38.
- [39] A.M. Maccioni, C. Anchisi, A. Sanna, C. Sardu, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2002, **24**, 53.
- [40] D. Streinberg, *Preservatives for Cosmetics*, Second Edition, Allured 2006.
- [41] A. Varvaresou, E. Tzirivas, E. Tsaoula, *Rev. Clin. Pharmacol. Pharmacokinet.*, 2005, **19**, 105.
- [42] E.J. Routledge, J. Parker, J. Odum, J. Ashby, J.P. Sumpter, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1998, **153**, 12.
- [43] P.D. Darbre, A. Aljarrah, W.R. Miller, N.G. Coldham, M.G. Sauer, *J. Appl. Toxicol.*, 2004, **24**, 5.
- [44] C. Lemini, R. Jaimez, M.E. Avila, F. Larea, A.E. Lemus, *Toxicol. Ind. Health*, 2003, **26**, 69.
- [45] N.Y.O. Muyima, *Flavour Fragr. J.*, 2002, **17**, 258.
- [46] A. Kunicka-Styczyńska, M. Sikora, D. Kalemba, *J. Appl. Microbiol.*, 2009, **107**, 1903.
- [47] L. Hui, L. He, L. Huan, L. XiaoLan, Z. AiGuo, *Afri. J. Microbiol. Res.*, 2010, **4**, 309.
- [48] M. Sokovic, J. Glamoclija, P.D. Marin, D. Brki, *Molecules*, 2010, **15**, 7532.
- [49] Y. Zu, H. Yu, L. Liang, Y. Fu, T. Efferth, X. Liu, *Molecules*, 2010, **15**, 3200.
- [50] H. Hafedh, B.A. Fethi, S. Mejd, N. Emira, B. Amina, *Afri. J. Microbiol. Res.*, 2010, **4**, 1122.
- [51] V. Patrone, R. Campana, E. Vittoria, W. Baffone, *Curr. Microbiol.*, 2010, **60**, 237.
- [52] Ch. Gupta, P.A. Garg, R.C. Uniyal, A. Kumari, *Afri. J. Microbiol. Res.*, 2008, **2**, 247.
- [53] A. Kędzia, *Post. Fitoter.*, 2009, **2**, 71.
- [54] M.D. Sokovic, J. Vukojevic, P.D. Marin, D.D. Brki, V. Vajs, *Molecules*, 2009, **14**, 238.
- [55] V.F. Romeo, S. De Luca, A. Piscopo, M. Poina, *J. Essent. Oil Res.*, 2008, **20**, 373.
- [56] A. Kędzia, *Post. Fitoter.*, 2007, **4**, 182.
- [57] A.L. Okunade, P.F. Elvin-Lewis, W.H. Lewis, *Phytochemistry*, 2004, **65**, 1017.

- [58] C.L. Cantrell, S.G. Franzblau, N.H. Fischer, *Planta Med.*, 2001, **67**, 685.
- [59] W. Dymowski, *Wiad. Ziel.*, 1995, **2**, 11.
- [60] A. Ahmed, H.J. Mahmoud, A.I. Williams, J.H. Scott, *J. Nat. Prod.*, 1993, **56**, 1276.
- [61] A. Bertoli, C. Cirak, J.A. Teixeira de Silva, *Med. Aromat. Plant Sci. Biotech.*, 2011, **5**, 29.
- [62] O. Motiejunaite, D. Peciulyte, *Medicina (Kaunas)*, 2004, **4**, 787.
- [63] J.F. Ayafor, M.H.K. Tchuendem, B. Nyasse, *J. Nat. Prod.*, 1994, **57**, 917.
- [64] G. Harrigan, A. Ahmad, N. Baj, T.E. Glass, A.A.L. Gunatilaka, *J. Nat. Prod.*, 1993, **56**, 921.
- [65] E. Holderna-Kędzia, *Post. Fitoter.*, 2010, **1**, 3.
- [66] I. Kubo, H. Muroi, M. Himejima, *J. Nat. Prod.*, 1993, **56**, 220.
- [67] T. Mangena, N.Y. Muyima, *J. Lett. Appl. Microbiol.*, 1999, **28**, 291.
- [68] K.A. Hammer, C.F. Carson, T.V. Riley, *J. Appl. Microbiol.*, 1999, **86**, 985.
- [69] I. Manou, L. Bouillard, M.J. Develeeschouwer, A.O. Barel, *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **84**, 368.
- [70] A. Raman, U. Weir, S.F. Bloomfield, *Letters in Appl. Microbiol.*, 1995, **21**, 242.
- [71] G.K.F. Elsom, D. Hide, *J. Antimicrob. Hemothe.*, 1999, **43**, 427.
- [72] K.A. Hammer, C.F. Carson, T.V. Riley, *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **95**, 853.
- [73] J. Kwieciński, E. Sigrun, K. Wójcik, *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2009, **33**, 343.
- [74] S. Masoudi, *J. Essent. Oil Res.*, 2005, **17**, 691.
- [75] T. Moon, *J. Essent. Oil Res.*, 2007, **19**, 171.
- [76] V.R. Flora, *J. Essent. Oil Res.*, 2008, **20**, 373.
- [77] A. Kędzia, *Post. Fitoter.*, 2010, **1**, 9.
- [78] M. Kivanc, A. Akgul, A. Dogan, *Int. J. Food Microbiol.*, 1991, **13**, 81.
- [79] D.J. Daferera, B.N. Ziogas, M.G. Polissiou, *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2576.
- [80] P. López, C. Sanchez, R. Batlle, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 4348.
- [81] L. Ranasinghe, B. Jayawardena, K. Abeywickrama, *J. Lett. Appl. Microbiol.*, 2002, **35**, 208.
- [82] W. Siegert, *SOFW J. Edycja Polska*, 2008, **1**, 8.
- [83] J.M. Blakeway, *SOFW J.*, 1990, **116**, 357.
- [85] F. Matos, *J. Essent. Oil Res.*, 2009, **21**, 327.
- [86] I. Bouchra, *World J. Chem.*, 2010, **5**, 103.
- [87] M. Grzeszczuk, D. Jadczyk, *Herba Pol.*, 2009, **3**, 195.
- [88] I. Ghomi, M. Ebrahimabadi, *J. Food Chem.*, 2009, **115**, 1524.
- [89] S.M. Motamed, F. Naghibi, *Food Chem.*, 2010, **119**, 1637.
- [90] P.A. Onocha G.K. Oloyede, Q.O. Afolabi, *Inter. J. Pharmacol.*, 2011, **1**, 144.
- [91] Dziennik Ustaw Nr 72 poz. 642 z dnia 30 marca 2005 r., załącznik 4.
- [92] S. Anupama, K. Pramod, G. Garima, *Internat. J. Pharm. Bio. Sci.*, 2010, **1**, 601.
- [93] L. De Martino, V. De Feo, F. Nazzaro, *MoleculeS*, 2009, **14**, 4213.
- [94] S. Papageorgiou, A. Varvaresou, E. Tsirivas, C. Demetzos, *J. Cosmet. Sci.*, 2010, **61**, 107.
- [95] A. Varvaresou, P. Papageorgiou, E. Tsirivas, E. Protopapa, *Int. J. Cosm. Sci.*, 2009, **31**, 163.
- [96] B. Sapra, S. Jain, A.K. Tiwary, *AAPS J.*, 2008, **10**, 120.

Praca wpłynęła do Redakcji 27 października 2011