

*Anna Kędzia¹, Andrzej W. Kędzia²

Aktywność olejku bergamotowego (*Oleum Bergamottae*) wobec grzybów drożdżopodobnych

The activity of bergamot oil (*Oleum Bergamottae*) against yeastlike fungi

¹Emerytowany profesor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

²Katedra Auksologii Klinicznej i Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik Katedry: dr hab. n. med. Andrzej W. Kędzia, prof. nadzw.

SUMMARY

Introduction. The *Citrus bergamia* is a member of the Rutaceae family. Bergamot orange is a pearl-shaped citrus fruit. The plant produced big green leaves and white flowers. The peel of the fruit is smooth, thin and aromatic. Pulp is slightly green-yellow with an acidic-bitter taste. The plants are cultivated in Italy, East Africa, Argentina, Brazil and Turkey. The fruits and its aromatic peels are used to produce an essential oil. The bergamot oil is widely used in the pharmaceutical, cosmetic, agricultural, food industries and candy making. The essential oil is a yellow-green liquid, obtained from peels of the fruit and consists of 93-96% volatile, e.g. limonene, linalool, linalyl acetate, also bergapten, bergamottin, citropten, α - and β -pinene, γ -terpinene and 4-7% a non-volatile fraction. Is very little scientific information on the antimicrobial properties of the essential oil of bergamot (*Oleum Bergamottae*).

Aim. The aim of this work was to determine the activity of bergamot oil against yeastlike fungi isolated from oral cavity.

Material and methods. The strains of yeastlike fungi, were isolated from oral cavity patients with candidosis. A total 66 strains of fungi isolated from patients and 5 reference strains were tested. The study included strains of *Candida albicans* (26 strains), *C. glabrata* (7), *C. guilliermondii* (3), *C. humicola* (1), *C. kefyr* (4), *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (3), *C. parapsilosis* (6), *C. tropicalis* (9), *C. utilis* (2), and 5 reference strains such as *C. albicans* ATCC 90028, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. kefyr* ATCC 4130, *C. parapsilosis* ATCC 22019 and *C. tropicalis* ATCC 750. The bergamot oil (ETJA, Elbląg) was used in these dates. The susceptibility (MIC) yeastlike fungi to essential oil was determined by means of plate dilution technique in Sabouraud's medium. The inoculum contained 10^5 CFU per spot was seeded with Steers replicator upon the surface of medium containing various oil concentrations and oil-free plates (the strains growth control). Incubation on the plates was conducted in aerobic conditions, in at 37°C for 24 hrs. The MIC were determined as the lowest concentrations of oil that inhibiting the visible growth of fungi on the agar plate.

Results. The results indicated, that studied bergamot oil was very active against the all yeastlike fungi. The most susceptible to the tested oil were the strains belonging to the genus of *C. guilliermondii* (MIC 0.5-2.0 mg/ml), and *C. utilis* (MIC = 1.0 mg/ml). The strains *C. humicola* also were good sensitive to bergamot oil (MIC = 2.0 mg/ml). The strains from genus of *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. tropicalis* was inhibited on the range of concentrations 0.5- \geq 2.0 mg/ml.

Conclusions. The bergamot oil was more active against strains yeastlike fungi from genus of *C. guilliermondii* and *C. utilis*. The strains of *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. tropicalis* were also good sensitive to oil. The tested bergamot oil showed high antifungal activity vs. the *Candida* strains.

Keywords: bergamot oil, sensitivity, yeastlike fungi, oral cavity

STRESZCZENIE

Wstęp. *Citrus bergamia* należy do rodziny Rutaceae. Wytwarza owoce kształtu perły. Roślina ma duże zielone liście i białe kwiaty. Skórka owocu jest gładka, cienka i ma aromatyczny zapach. Miąższ owoców jest barwy bladzielonej i ma kwaśnogorzki smak. Roślina hodowana jest we Włoszech, Wschodniej Afryce, Argentynie, Brazylii i Turcji. Owoce i ich aromatyczne skórki są wykorzystywane do produkcji olejku eterycznego. Wytwarzany olejek bergamotowy znalazł szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetyce, rolnictwie, przy produkcji żywności i cukierków. Olejek eteryczny otrzymywany ze skórki i owoców ma zielono-żółtą barwę i zawiera 93-96% substancji lotnych, tj. limonen, linalol, octan linalolu, bergapten, bergamotyne, cytropten, α - i β -pinen, γ -terpinen oraz 4-7% składników nielotnych. W piśmiennictwie niewiele jest informacji na temat przeciwdrobnoustrojowego działania olejku bergamotowego (*Oleum Bergamottae*).

Cel pracy. Celem pracy była ocena aktywności olejku bergamotowego wobec grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej.

Material i metody. Szczepy grzybów drożdżopodobnych pochodziły z jamy ustnej pacjentów z kandydozą. Ogółem zbadano 66 szczepów grzybów wyizolowanych od pacjentów i 5 szczepów wzorcowych. Doświadczeniem objęto szczepy: *Candida albicans* (26 szczepów), *C. glabrata* (7), *C. guilliermondii* (3), *C. humicola* (1), *C. kefyr* (4), *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (3), *C. parapsilosis* (6), *C. tropi-*

calis (9), *C. utilis* (2), a także 5 szczepów wzorcowych z gatunku *C. albicans* ATCC 90028, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. kefyr* ATCC 4130, *C. parapsilosis* ATCC 22019 i *C. tropicalis* ATCC 750. W badaniach wykorzystano olejek bergamotowy (ETJA, Elbląg). Wrażliwość (MIC) grzybów drożdżopodobnych na olejek bergamotowy oznaczono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Inokulum zawierające 10^5 CFU na kroplę nanoszono aparatem Steersa na powierzchnię podłoża z dodatkiem olejku lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację płytek prowadzono w warunkach tlenowych, w 37°C przez 24 godz. Za MIC uznawano takie najniższe rozcieńczenie olejku, które całkowicie hamowało wzrost grzybów na podłożu.

Wyniki. Wyniki badań wskazują, że badany olejek bergamotowy był bardzo aktywny wobec grzybów drożdżopodobnych. Najbardziej wrażliwe były szczepy należące do gatunku *C. guilliermondii* (MIC = 0,5-2,0 mg/ml) i *C. utilis* (MIC = 1,0 mg/ml). Wysoką wrażliwość na olejek wykazały też szczepy *C. humicola* (MIC = 2,0 mg/ml). Natomiast wzrost szczepów z gatunku *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. tropicalis* był hamowany przez stężenia olejku bergamotowego w zakresie 0,5- \geq 2,0 mg/ml.

Wnioski. Największą aktywność wykazał olejek bergamotowy wobec szczepów z gatunku *C. guilliermondii* i *C. utilis*. Szczepy *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. tropicalis* także były wysoce wrażliwe na olejek. Badany olejek bergamotowy wykazał dużą aktywność wobec wszystkich testowanych grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida*.

Słowa kluczowe: olejek bergamotowy, wrażliwość, grzyby drożdżopodobne, jama ustna

Wstęp

Olejek eteryczny wytwarzany przez drzewa *Citrus bergamia* (rodzina *Rutaceae*) jest otrzymywany ze skórek i owoców tej rośliny i ma przyjemny cytrusowy zapach. W XIX wieku jego właściwościami przeciwpalnymi zainteresował się lekarz Francesco Calabro, mieszkający w południowych Włoszech. Drzewo cytrusowca wytwarza białe kwiaty i okrągłe żółte owoce, o gładkiej, cienkiej skórce, miąższu bladzielonożółtym i kwaskowatogorzkwym smaku.

Drzewo bergamotowe hodowane jest w regionie Kalabrii w południowych Włoszech, a także na niewielkich plantacjach w Turcji, Argentynie, Brazylii i w Afryce Wschodniej. Olejek eteryczny ma cytrusowy zapach i gorzkawy smak. Kolor olejku waha się od ciemnożółtego do zielonego i zależy od sezonu, w którym jest on otrzymywany. Jego skład ustalono dopiero w latach 90. ubiegłego wieku (1). Olejek bergamotowy zawiera głównie 93-96% substancji lotnych, wśród których są wymieniane: limonen (40%), linalol (8%), octan linalolu (28%), a także: bergapten, bergamotyna, cytropten, α - i β -pinen, γ -terpinen oraz 4-7% składników nielotnych (1-5). Może też zawierać furanokumaryny (6). Skład olejku zależy od miejsca pochodzenia owoców (1-8).

Olejek bergamotowy ma szereg właściwości leczniczych, dzięki którym znalazł zastosowanie w terapii jako środek przeciwdrobnoustrojowy w przypadku zapaleń gardła, migdałków, w grypie i jako środek przeciwkaszlowy (1, 2, 7-14). Badania wykazały też korzystne działanie na system nerwowy, sercowo-naczyniowy i wątrobę (1, 2). Olejek ma też właściwości przeciwutleniające (7-15). Może być stosowany do masażu (14). Ze względu na przyjemny zapach olejek wykorzystywany jest w przemyśle spożywczym (herbata Earl Grey, cukierki), do produkcji kosmetyków oraz w rolnictwie (2, 5, 15-19).

Olejek bergamotowy działa na bakterie, grzyby, dermatofity i wirusy (1, 2, 7, 9-15, 20-28). Wykorzystując do badań wrażliwości metodę krążkowo-dyfuzyjną, aktywność olejku wobec szeregu bakterii wykazali Kirbaslar i wsp. (15), Brenes i Roura (24), Chao i wsp. (22, 29) oraz Maruzzella i Sicurella (21). Strefy zahamowania wzrostu występowały w przypadku drobnoustrojów, tj. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgaris*, *Listeria monocytogenes* i *Mycobacterium smegmatis*. Uzyskane strefy wynosiły od 11 do 76 mm. Chao i wsp. (29) także wykazali znaczną aktywność olejku bergamotowego wobec szczepów z gatunku *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecalis* oraz Gram-ujemnych pałeczek, tj. *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* i *Alcaligenes faecalis*. Natomiast brak działania wykazano wobec pałeczek *Pseudomonas aeruginosa*. Chao i wsp. (22) także stwierdzili brak aktywności olejku w przypadku szczepu *Staphylococcus aureus* MRSA (rozcieńczenia 30:1), a Maruzzella i Sicurella (21) wobec *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhosa* ser. 2 oraz wysoką wrażliwość szczepu *Mycobacterium avium*.

Badając oddziaływanie olejku bergamotowego na różne drobnoustroje metodą rozcieńczeń seryjnych w podłożu płynnym (MIC), Hammer i wsp. (23) udowodnili aktywność wobec takich bakterii, jak: *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas sobria*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens* i *Staphylococcus aureus*. Mandalari i wsp. (8) oceniali wrażliwość bakterii na kilka frakcji olejku bergamotowego i stwierdzili działanie w przypadku *Escherichia coli* K-12, *Salmonella enterica* ser. *typhimurium* LT 2 oraz *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 795.

Na inne badane drobnoustroje, tj. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (poza jedną frakcją), *Listeria monocytogenes* ATCC 33090, *Lactobacillus lactis* MG 1614 i *Staphylococcus aureus* F 110139, olejek nie wykazał działania. W nielicznych publikacjach opisano także działanie tego olejku na grzyby drożdżopodobne.

Cel pracy

Celem pracy było oznaczenie aktywności olejku bergamotowego wobec grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej.

Materiał i metody

Grzyby drożdżopodobne zostały wyhodowane z materiałów pobranych z jamy ustnej od pacjentów, u których stwierdzono kandydozę. Pobrane jałowo wymazy posiewano na podłoże Sabourauda. Hodowlę prowadzono w temp. 37°C przez 24-48 godz. w warunkach tlenowych. Identyfikację wyizolowanych szczepów przeprowadzono z uwzględnieniem cech morfologicznych komórek, wyglądu kolonii, wzrostu na podłożu CHROMagar Candida (BioRad) oraz cech biochemicznych określonych testem API 20 C AUX (bio-Mérieux) i zdolności do wytwarzania chlamydospor. Badaniu wrażliwości poddano łącznie 71 szczepów, w tym 66 szczepów grzybów wyizolowanych od pacjentów, które należały do następujących gatunków: *Candida albicans* (26 szczepów), *C. glabrata* (7), *C. guilliermondii* (3), *C. humicola* (1), *C. kefyra* (4), *C. krusei* (5), *C. lusitaniae* (3), *C. parapsilosis* (6), *C. tropicalis* (9), *C. utilis* (2), a także 5 szczepów wzorcowych

z gatunku *C. albicans* ATCC 90028, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. kefyra* ATCC 4130, *C. parapsilosis* ATCC 22019 i *C. tropicalis* ATCC 750.

Wrażliwość oceniano metodą seryjnych rozcieńczeń (MIC) w agarze Sabourauda. Olejek bergamotowy (ETJA, Elbląg) najpierw rozpuszczano w DMSO (Serva), a następnie w jałowej wodzie destylowanej, uzyskując rozcieńczenia w zakresie: 2,0, 1,0, 0,5, 0,25, 0,12 i 0,06 mg/ml. Zawiesinę, zawierającą 10⁵ jednostek tworzących kolonie grzybów (jtk) na kroplę, nanoszono aparatem Steersa na powierzchnię podłoża zawierającego odpowiednie rozcieńczenie olejku lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Posiewy hodowano przez 24 godz. w 37°C w warunkach tlenowych. Za najmniejsze stężenie hamujące (MIC) przyjmowano takie, przy którym następowało całkowite zahamowanie wzrostu testowanych szczepów grzybów drożdżopodobnych.

Wyniki i ich omówienie

Wyniki badań wrażliwości na olejek bergamotowy różnych gatunków grzybów drożdżopodobnych, należących do rodzaju *Candida*, zamieszczono w tabeli 1, a szczepów wzorcowych w tabeli 2.

Uzyskane wyniki wskazują, że 59% badanych szczepów wykazało wrażliwość na niskie stężenia olejku w zakresie 0,5-2,0 mg/ml. Wśród nich były najliczniej reprezentowane grzyby z gatunku *C. albicans*, z których 17 (65%) szczepów wymagało do zahamowania wzrostu stężeń wynoszących 1,0-2,0 mg/ml. Wśród grzybów najwyższą wrażliwością charakteryzowały

Tab. 1. Wrażliwość grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej na olejek bergamotowy

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące (MIC) (mg/ml)						
		≥ 2,0	2,0	1,0	0,5	0,25	0,12	0,06
<i>Candida albicans</i>	26	9	12	5				
<i>Candida glabrata</i>	7	3	2	1	1			
<i>Candida guilliermondii</i>	3		1	1	1			
<i>Candida humicola</i>	1		1					
<i>Candida kefyra</i>	4	2	1	1				
<i>Candida krusei</i>	5	3	1	1				
<i>Candida lusitaniae</i>	3	2	1					
<i>Candida parapsilosis</i>	6	4	2					
<i>Candida tropicalis</i>	9	4	2	3				
<i>Candida utilis</i>	2			2				
Rodzaj <i>Candida</i> ogółem	66	27	23	14	2	0	0	0

Tab. 2. Wrażliwość szczepów wzorcowych grzybów drożdżopodobnych na olejek bergamotowy

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)						
		≥ 2,0	2,0	1,0	0,5	0,25	0,12	0,06
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	1		1					
<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032	1		1					
<i>Candida kefyr</i> ATCC 4130	1	1						
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	1			1				
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	1			1	0	0	0	0

się szczepy gatunku *C. guilliermondii* (MIC = 0,5-2,0 mg/ml). Ponadto dużą aktywność wykazał olejek bergamotowy wobec szczepów z gatunku *C. utilis*. Ich wzrost hamowało stężenie wynoszące 1,0 mg/ml. Jednak 27 (41%) spośród wszystkich badanych szczepów wymagało do zahamowania wzrostu użycia wyższych stężeń (> 2,0 mg/ml). Niskie stężenia w zakresie 0,5-2,0 mg/ml także były aktywne wobec 57% szczepów z gatunku *C. glabrata*. W przypadku badanych kolejnych 3 gatunków, w tym *C. krusei*, *C. tropicalis* i *C. kefyr*, wartości MIC dla 40-56% szczepów wynosiły od 1,0 do 2,0 mg/ml.

Przeprowadzone przez innych autorów badania wskazują, że aktywność olejku bergamotowego wobec grzybów drożdżopodobnych jest zróżnicowana. W doświadczeniach Hammera i wsp. (23) szczep *C. albicans* wykazał wrażliwość na 10,0 mg/ml olejku bergamotowego. Kolejni badacze, Romano i wsp. (11), wskazują na niższą aktywność olejku. Oceniane szczepy z gatunku *C. albicans* okazały się wrażliwe w zakresie 2,5-10,0 mg/ml, *C. glabrata* – 0,62-10,0 mg/ml, *C. krusei* – 2,5-5,0 mg/ml, *C. tropicalis* – 5,0 mg/ml i *C. parapsilosis* w stężeniu 1,25 mg/ml. Poza szczepami *C. parapsilosis* i pojedynczymi szczepami z gatunku *C. glabrata* uzyskane przez autorów wartości MIC były wyższe od uzyskanych przez nas stężeń olejku. Ci sami badacze wykorzystali także do doświadczeń ekstrakt z rośliny *Citrus bergamia* otrzymany drogą destylacji i sprawdzili jego działanie na te same gatunki grzybów drożdżopodobnych. Okazało się, że ten wyciąg jest znacznie bardziej aktywny i testowane szczepy są bardziej wrażliwe niż na olejek eteryczny. W przypadku gatunku *C. albicans* wartości MIC mieściły się w granicach 0,62-2,5 mg/ml, *C. glabrata* – 0,31-1,25 mg/ml, *C. krusei* – 0,62-1,2 mg/ml, *C. tropicalis* – 0,62-1,25 mg/ml i *C. parapsilosis* w stężeniu 0,62 mg/ml.

Kirbaslar i wsp. (15) oceniali wrażliwość różnych grzybów na olejek bergamotowy metodą krążkowo-

-dyfuzyjną. Dla szczepów *C. albicans* strefa zahamowania wzrostu wynosiła 13 mm, dla *Rhodotorula rubra* (obecnie *R. mucilaginosa*) 15 mm, *Hanseniaspora guilliermondii* – 12 mm i *Debaryomyces hansenii* – 15 mm. Natomiast Mandalari i wsp. (8) wykazali wrażliwość szczepu *Saccharomyces cerevisiae* na olejek bergamotowy. Wartość MIC była wyższa od 1,0 mg/ml. Z kolei olejek nie był aktywny wobec ocenianych szczepów dermatofitów. Poza tym brak działania olejku bergamotowego wobec szczepów *Malassezia furfur* i *Malassezia pachydermatis* opisali Lee i wsp. (27, 28). Także Inouye i wsp. (26) wykazali niewrażliwość szczepu *Trichophyton mentagrophytes* na ten olejek. Natomiast badana przez Sanguinetti i wsp. (9) esencja bergamotowa działała w niskich stężeniach na dermatofity. Dla szczepów *Trichophyton mentagrophytes* zakres MIC wynosił 0,15-1,25 mg/ml, *Trichophyton rubrum* – 0,15-0,62 mg/ml, *Trichophyton interdigitale* – 0,31-1,25 mg/ml, *Trichophyton tonsurans* – 2,5 mg/ml, *Microsporum canis* – 0,15-0,62 mg/ml, *Microsporum gypseum* – 2,5 mg/ml, a dla *Epidermophyton floccosum* – 0,15-0,31 mg/ml.

Powyższe wyniki badań wskazują, że olejek bergamotowy obejmuje działaniem szereg gatunków grzybów chorobotwórczych, w tym z rodzaju *Candida*, oraz niektóre dermatofity.

Wnioski

1. Oceniany olejek bergamotowy wykazał dużą aktywność wobec testowanych grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej.
2. Największą wrażliwością na olejek charakteryzowały się szczepy z gatunku *C. guilliermondii* i *C. utilis*. Poza tym olejek wykazał wysoką aktywność wobec szczepów *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. tropicalis*.
3. Najmniej wrażliwe na olejek bergamotowy okazały się szczepy z gatunku *C. lusitaniae* i *C. parapsilosis*.

Piśmiennictwo

- Costa R, Dugo P, Navarra M i wsp. Study on the chemical composition variability of some processed bergamot oil (*Citrus bergamia*) essential oils. *Flavour Fragr J* 2010; 25:4-20.
- Karaca M, Ilhan F, Altan H i wsp. Evaluation of hepatoprotective activity of Bergamot Orange in rats. *Eastern J Med* 2005; 10:1-4.
- Moufilda S, Marsouk B. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochem* 2003; 62:1283-9.
- Svoboda K, Greenway RI. Lemon scented plants. *J Aromater* 2003; 13:23-32.
- Sanchez-Gonzales L, Pastor C, Vargas M i wsp. Effect of hydroxypropylmethylcellulose, and chitosan coating with an without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biol Technol* 2011; 60:57-63.
- Gardana C, Natalin F, Simoneti P. Evaluation of flavonoids and furocoumarins from *Citrus bergamia* (Bergamot) juice and identification of new compounds. *Molecules* 2008; 13:220-8.
- Statti G, Conforti F, Sacchetti G i wsp. Chemical and biological diversity of Bergamot (*Citrus Bergamia*) in relation to environmental factors. *Fitoterapia* 2004; 75:212-6.
- Mandalari G, Benett RN, Bisignano G i wsp. Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a by-produced of the essential oil industry. *J Appl Microbiol* 2007; 103:2056-64.
- Sanguinetti M, Posteraro B, Romano L i wsp. *In vitro* activity of *Citrus bergamia* (bergamot) oil against clinical isolates of dermatophytes. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:305-8.
- Fischer K, Phillips C. Potential antimicrobial used of essential oil in food: is citrus the answer? *Trends Food Sci Technol* 2008; 19:156-64.
- Romano L, Battaglia F, Masucci L i wsp. *In vitro* activity of bergamot natural essence and furocoumarin-free and distilled extracts, and their associations with boric acid against clinical yeast isolates. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55:110-4.
- Fisher K, Phillips CA. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* and in food system. *J Appl Microbiol* 2006; 101:1232-40.
- Pizzimenti FC, Mondello MR, Giampa M i wsp. *In vivo* morphological and antifungal study of the activity of a bergamot essential oil by-product. *Flavour Fragr J* 2006; 21:585-91.
- Mansley F, Kerr KG. Microbiological safety of essential oils used in complementary therapies and the activity of these compounds against bacterial and fungal pathogens. *Support Care Cancer* 1999; 7:100-2.
- Kirbaslar TG, Tavman A, Dulger B i wsp. Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pak J Bot* 2009; 41(6):3206-12.
- Cum G, Kunkar C, Kunkar A. Supercritical CO₂ extraction of *Citrus bergamia* Risso oil. Proceedings of the 9th Symposium on Plant Original Crude Drugs. 16-19 May, 1991. Eskisehir, Turkey.
- Benavente-Garcia O, Castillo J, Martin FR i wsp. Uses and properties of citrus flavonoids. *J Agric Food Chem* 1997; 45:4505-15.
- Benavente-Garcia O, Castillo J, Martin FR i wsp. Uses and properties of citrus flavonoids and Pine bark phenolic for health related effects. *J Agric Food Chem* 2005; 53:5922-31.
- Verzera A, Trozzi A, Gazea F i wsp. Effects of rootstock on the composition on the of bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poitean) essential oil. *J Agric Food Chem* 2003; 51:206-10.
- Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* 2003; 10:813-29.
- Maruzzella JC, Sicurella NA. Antibacterial activity of essential oil vapors. *J Am Pharm Assoc* 1960; 49:692-4.
- Chao S, Young G, Oberg C i wsp. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. *Flavour Fragr J* 2008; 23:444-9.
- Hammer KA, Carson FC, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 86(6):985-90.
- Brenes A, Roura E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Sci Technol* 2010; 158:1-14.
- Gunasekar M, Geemon K, Marwiwala ST. Health benefits of bioactive molecules from spices and aromatic plants. *J Spices Arom Crops* 2012; 21(2):87-101.
- Inouye S, Uchida K, Abe S. Vapor activity of essential oils against a *Trichophyton mentagrophytes*. *J Infect Chem* 2006; 12:210-16.
- Lee J-H, Lee J-S. Chemical composition and antifungal activity of plant essential oils against *Malassezia furfur*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 2010; 38:315-21.
- Lee J-H, Lee J-S. Inhibitory effect of plant essential oils on *Malassezia pachydermatis*. *Am Appl Biol Chem* 2010; 53(3):184-8.
- Chao SC, Young DC, Oberg CJ. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *J Essent Oil Res* 2000; 12:639-49.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 13.06.2017

zaakceptowano/accepted: 20.07.2017

Adres/address:

*prof. dr hab. n. med. Anna Kędzia
ul. Małchowskiego 5/5
80-262 Gdańsk Wrzeszcz
e-mail: anak@gumed.edu.pl