

*Anna Kędzia¹, Elżbieta Holderna-Kędzia², Marcin Szymański³

Działanie olejku tatarakowego (*Calami aetheroleum*) na grzyby drożdżopodobne

The activity of Calamus oil (*Calami aetheroleum*) on yeastlike fungi

¹Emerytowany profesor dr hab. n. med. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

²Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu – Państwowy Instytut Badawczy
Dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Małgorzata Łochyńska, prof. IWNiRZ

³Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Dyrektor Centrum: prof. dr hab. n. chem. Bronisław Marciniak

SUMMARY

Introduction. The rhizomes and leaves of calamus (*Acorus calamus* L.) contain essential oil, the composition of which varies depending on the variety. Characteristic are α - and β -azarones, other ingredients are, among others: acorin, spatulenol, borneol, isoazarone, caryophyllene, geranyl acetate, isoeugenol, eugenol, linalool, camphor and cineol. Extracts and essential oil have antimicrobial properties.

Aim. Determination of sensitivity to calamus oil (*Semifarm*) of yeast-like fungi isolated from the oral cavity and estimation of the chemical composition of the oil.

Material and methods. Strains of yeast-like fungi isolated from the oral cavity belonged to the species: *Candida albicans* (7 strains), *C. glabrata* (6), *C. guilliermondii* (1), *C. krusei* (4), *C. lusitaniae* (1), *C. parapsilosis* (4), *C. tropicalis* (3), *C. utilis* (1), *Geotrichum candidum* (1), *Rhodotorula rubra* (2) and *Saccharomyces cerevisiae* (1). 8 reference strains were also included in the experiments. The susceptibility of fungi determined by the plate dilution method in Sabouraud agar. Concentration of the oil (*Semifarm*) were: 4.0, 2.0, 1.0, 0.5, 0.25 i 0.12 mg/ml. The inoculum, which contained 10^5 CFU/drop, was applied by a Steers apparatus to the medium with appropriate concentration of the oil or without of the oil (strain growth control). The incubation carried out at 37°C for 24-48 hrs in aerobic conditions. The MICs determined as the lowest concentration of oil inhibiting the growth of yeastlike fungi on the agar. The composition of the tested oil was determined using the GC-MS method.

Results. The results showed, that all tested strains of yeastlike fungi were susceptible to calamus oil in concentrations 0.5- \leq 0.12 mg/ml. The strains from genus of *Candida albicans* in 57% were susceptible to low concentrations the oil in ranges \leq 0.12-0.25 mg/ml. The fungi from genus *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. tropicalis* were less sensitive (MIC \leq 0.12-0.5 mg/ml). The oil showed the lowest activity (MIC = 0.5 mg/ml) against strains of the species *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* and *C. utilis*. The tested oil contains 66 chemical compounds.

Conclusions. The yeast-like fungus strains of the genus *Candida* were highly sensitive to calamus oil. The oil showed the lowest activity against strains of *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* and *C. utilis*. The strains of the species *Rhodotorula rubra* and *Saccharomyces cerevisiae* were characterized by high sensitivity to calamus oil. The GC-MS study showed that α -asarone was dominant in the oil.

Keywords: activity, calamus oil, GC-MS, yeastlike fungi, oral cavity

STRESZCZENIE

Wstęp. Kłącza i liście tataraku (*Acorus calamus* L.) zawierają olejek eteryczny, którego skład jest zróżnicowany w zależności od odmiany. Charakterystyczne są α - i β -azarony, innymi składnikami są m.in.: akoryna, spatulenol, borneol, izoazaron, kariofilen, octan geranylu, izoeugenol, eugenol, linalol, kamfora i cyneol. Wyciągi i olejek eteryczny wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe. **Cel badań.** Oznaczenie wrażliwości na olejek tatarakowy (*Semifarm*) grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej oraz ocena składu chemicznego olejku.

Material i metody. Szczepy grzybów drożdżopodobnych wyizolowane z jamy ustnej należały do gatunków: *Candida albicans* (7 szczepów), *C. glabrata* (6), *C. guilliermondii* (1), *C. krusei* (4), *C. lusitaniae* (1), *C. parapsilosis* (4), *C. tropicalis* (3), *C. utilis* (1), *Geotrichum candidum* (1), *Rhodotorula rubra* (2) i *Saccharomyces cerevisiae* (1). Do doświadczeń włączono też 8 szczepów wzorcowych. Badanie wrażliwości wymienionych szczepów grzybów na olejek tatarakowy przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Użyte stężenia wynosiły: 4,0, 2,0, 1,0, 0,5, 0,25 i 0,12 mg/ml. Inokulum, które zawierało 10^5 CFU/kroplę, наносzono aparatem Steersa na podłoże z odpowiednim stężeniem olejku oraz bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Posiewy badane i podłoża kontrolne inkubowano w warunkach tlenowych, w temp. 37°C przez 24-48 godzin. Za MIC uznano najmniejsze stężenie olejku tatarakowego, które całkowicie hamowało wzrost na agarze testowanych grzybów drożdżopodobnych. Skład olejku oceniono metodą GC-MS.

Wyniki. Wyniki badań wskazują, że wszystkie oceniane szczepy grzybów drożdżopodobnych były wrażliwe na olejek tatarakowy w zakresie stężeń 0,5-≤ 0,12 mg/ml. Olejek był aktywny wobec szczepów z gatunku *Candida albicans* w stężeniu ≤ 0,12-0,25 mg/ml, a 57% szczepów było wrażliwych na niskie stężenia olejku w granicach ≤ 0,12-0,25 mg/ml. Szczepy z gatunków *C. glabrata*, *C. krusei* i *C. tropicalis* wykazały niższą wrażliwość (MIC ≤ 0,12-0,5 mg/ml). Najniższą aktywnością (MIC = 0,5 mg/ml) charakteryzował się olejek wobec szczepów z gatunków *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. utilis*. Badany olejek zawierał 66 związków chemicznych. **Wnioski.** Szczepy grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida* były wysoce wrażliwe na olejek tatarakowy. Najniższą aktywność olejku wykazał wobec szczepów *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. utilis*. Szczepy z gatunków *Rhodotorula rubra* i *Saccharomyces cerevisiae* charakteryzowały się wysoką wrażliwością na olejek tatarakowy. Badanie GC-MS wykazało, że w olejku dominuje α-azaron.

Słowa kluczowe: aktywność, olejek tatarakowy, GC-MS, grzyby drożdżopodobne, jama ustna

Wstęp

Tatarak pojawił się w Polsce wraz z najazdami Tatarów w XIII wieku. Pierwsze wzmianki o możliwości wykorzystania tataraku w celach leczniczych, pochodzące z XVI wieku, są autorstwa Marcina z Urzędowa i Syreniusza (1). Tatarak pospolity (*Acorus calamus* L.) z rodziny *Araliaceae* (Obrazkowate) rośnie na mokradłach, szczególnie na brzegach stawów i jezior, a rozmnaża się z kłączy. Cała roślina charakteryzuje się aromatycznym zapachem i gorzkim smakiem. Kłącza tataraku wykorzystywano m.in. w chorobach dróg oddechowych, przewodu pokarmowego i układu kostnego. Aktualnie lecznicze wykorzystanie kłączy tataraku ze względu na potencjalną toksyczność β-azaronu zostało ograniczone, pomimo że w naszym rejonie geograficznym występujące odmiany tataraku zawierają niskie stężenia β-azaronu. Za działanie przeciwdrobnoustrojowe odpowiada olejek eteryczny, którego składnikami są: α- i β-azaron, a także m.in.: akoryna, spatulenol, borneol, izoazaron, kariofilen, octan geranylu, izoeugenol, eugenol, linalol, kamfora i cyneol (1-18). Kłącza tataraku są też wykorzystywane w przemyśle kosmetycznym i spożywczym.

Przeprowadzone przez licznych autorów badania wskazują, że olejek tatarakowy wykazuje aktywność przeciwdrobnoustrojową (7-14, 16-32). Dotychczas nie badano jednak wpływu olejku tatarakowego na grzyby drożdżopodobne wyizolowane z jamy ustnej.

W stanie równowagi fizjologicznej organizmu grzyby drożdżopodobne w jamie ustnej stanowią jej naturalny składnik i nie wywołują żadnych objawów. Jednak w okresie osłabienia i spadku odporności immunologicznej mogą się nadmiernie namnażać i prowadzić do rozwoju zakażenia znanego pod nazwą kandydozy lub drożdżycy. Zmiany obserwuje się najczęściej na błonach śluzowych i skórze w postaci zaczerwienienia z białymi nalotami powodującymi świąd i pieczenie, aż do wystąpienia nadżerek. Głównym czynnikiem etiologicznym są drożdżaki z gatunku *Candida albicans*, ale także grzyby drożdżopodobne należące do innych gatunków (*C. auris*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*).

Cel badań

Oznaczenie wrażliwości na olejek tatarakowy grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych z jamy ustnej od pacjentów z kandydozą oraz analiza GC-MS badanego olejku.

Materiał i metody badań

Do doświadczeń wykorzystano 27 szczepów grzybów drożdżopodobnych wyhodowanych z jamy ustnej pacjentów z kandydozą. Pobrane wymazy posiewano na podłoże Sabourauda, które inkubowano w 37°C przez 24-48 godz. w warunkach tlenowych. Identyfikacji wyhodowanych szczepów dokonano na podstawie morfologii komórek w preparacie barwionym metodą Grama, morfologii kolonii, wzrostu grzybów na podłożu CHROMagar *Candida* (BioRad), cech biochemicznych (ocenianych testem API 20C AUX, bio Merieux), testu filamentacji oraz zdolności do wytwarzania chlamydosporów. Zbadano grzyby drożdżopodobne należące do gatunków: *Candida albicans* (7 szczepów), *C. glabrata* (6), *C. guilliermondii* (1), *C. krusei* (4), *C. lusitaniae* (1), *C. parapsilosis* (4), *C. tropicalis* (3) i *C. utilis* (1), *Geotrichum candidum* (1), *Rhodotorula rubra* (2) i *Saccharomyces cerevisiae* (1). Do doświadczeń włączono też 8 następujących szczepów wzorcowych: *Candida albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 66032, *C. guilliermondii* ATCC 6260, *C. krusei* ATCC 14249, *C. lusitaniae* ATCC 34499, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750 i *C. utilis* ATCC 9958. Badanie wrażliwości wymienionych szczepów grzybów na olejek tatarakowy (Semifarm) przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Sabourauda. Użyte stężenia wynosiły: 4,0, 2,0, 1,0, 0,5, 0,25 i 0,12 mg/ml. Inokulum, które zawierało 10⁵ CFU/kroplę, nanoszono aparatem Steersa na podłoże z odpowiednim stężeniem olejku oraz bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Posiewy badane i podłoża kontrolne inkubowano w warunkach tlenowych w temp. 37°C przez 24-48 godzin. Za MIC uznano takie najmniejsze stężenie olejku tatarakowego, które całkowicie hamowało wzrost ocenianych szczepów grzybów drożdżopodobnych.

Wyniki badań

Uzyskane wyniki badań wrażliwości grzybów drożdżopodobnych wyhodowanych od pacjentów zebrano w tabeli 1, a szczepów wzorcowych w tabeli 2. Otrzymane wyniki wskazują, że oceniane szczepy z rodzaju *Candida* były wrażliwe na olejek tatarski w stężeniach 0,5–≤ 0,12 mg/ml. Wśród szczepów z gatunku *Candida albicans*, które najczęściej powodują zakażenia jamy ustnej, 57% okazało się wrażliwych na niskie stężenia w zakresie ≤ 0,12–0,25 mg/ml. Podobną aktywność wykazał olejek w stężeniu ≤ 0,12 mg/ml wobec szczepów z gatunku *C. parapsilosis* (50% szczepów wrażliwych). Natomiast niższą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunków *C. glabrata*, *C. krusei* i *C. tropicalis*. Stężenie olejku ≤ 0,12 mg/ml hamowało wzrost 1 spośród 4 szczepów *C. krusei*, 2 z 6 szczepów *C. glabrata* i 1 szczepu *C. tropicalis*. Najniższą wrażliwość wykazały gatunki: *C. guilliermondii*, *C. lusitanae* i *C. utilis*. Ich wzrost był hamowany przez stężenia olejku wynoszące 0,5 mg/ml. Natomiast olejek tatarski charakteryzował się dużą aktywnością wobec szczepów z gatunków *Rhodotorula rubra* i *Saccharomyces cerevisiae*. Szczepy te były wrażliwe na stężenia 0,12 mg/ml i niższe. Natomiast wartość MIC dla szczepu z gatunku *Geotrichum candidum* wynosiła 0,5 mg/ml.

Podsumowując wyniki badań, można zaznaczyć, że olejek tatarski w najniższym ocenianym stężeniu w zakresie ≤ 0,12–0,25 mg/ml hamował wzrost 37%

grzybów drożdżopodobnych. Pozostałe szczepy okazały się wrażliwe na 0,5 mg olejku w 1 ml.

Działanie olejku tatarskiego na różne rodzaje grzybów z rodzaju *Candida* potwierdzili też inni autorzy (8, 19, 20, 22, 24, 27, 28). Kasture i wsp. (20) ocenili aktywność olejku tatarskiego, wykorzystując metodę seryjnych rozcieńczeń w agarze oraz krążkowo-dyfuzyjną. Obie metody pozwoliły na wykazanie działania wobec wybranych bakterii i grzybów. Wśród szczepów znalazły się m.in. *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma koningii* i *Aspergillus flavus*. Z przeprowadzonych badań wynika, że *Aspergillus flavus* wykazał największą wrażliwość na oceniany olejek. Jego wzrost był hamowany w stężeniu 0,51 µg/µl (20). Chandra i wsp. (21) opisali wysoką aktywność olejku tatarskiego wobec testowanych szczepów grzybów, zwracając uwagę na najsilniejsze jego działanie wobec szczepów z gatunku *C. albicans*. Kolejni autorzy, Stimson i wsp. (27) wykazali działanie żelu zawierającego olejek tatarski na szczepy *Candida albicans*, wykorzystując metodę agarową i oceniając strefy zahamowania wzrostu grzybów. Natomiast Phongpaichit i wsp. (19) ocenili przeciwdrobnoustrojową aktywność występującego w olejku β-azaronu. Szczep *C. albicans* był wrażliwy na stężenie 0,12 mg/ml. Natomiast wartość MBC dla tego szczepu wynosiła 0,25 mg/ml. Z kolei dla szczepu z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* wartości MIC i MBC były jednakowe i wynosiły 1,0 mg/ml. Badania Janssena i wsp. (28) wykazały,

Tab. 1. Działanie na grzyby drożdżopodobne olejku tatarskiego

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenia hamujące (MIC mg/ml)					
		≤ 4,0	2,0	1,0	0,5	0,25	≤ 0,12
<i>Candida albicans</i>	7				3	2	2
<i>Candida glabrata</i>	6				4		2
<i>Candida guilliermondii</i>	1				1		
<i>Candida krusei</i>	4				3		1
<i>Candida lusitanae</i>	1				1		
<i>Candida parapsilosis</i>	4				2		2
<i>Candida tropicalis</i>	3				2		1
<i>Candida utilis</i>	1				1		
Rodzaj <i>Candida</i> ogółem	27				17	2	8
<i>Geotrichum candidum</i>	1				1		
<i>Rhodotorula rubra</i>	2						2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1						1
Grzyby drożdżopodobne łącznie	31				18	2	11

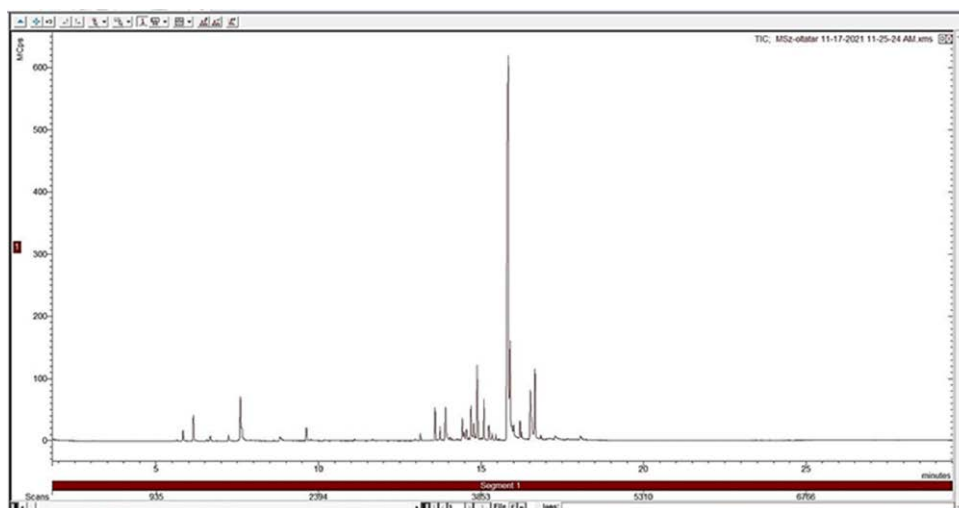
Tab. 2. Działanie olejku tatarakowego na szczepy wzorcowe grzybów drożdżopodobnych

Grzyby drożdżopodobne	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenia hamujące (MIC mg/ml)					
		≥ 4,0	2,0	1,0	0,5	0,25	≤ 0,12
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1				1		
<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032	1				1		
<i>Candida guilliermondii</i> ATCC 6260	1				1		
<i>Candida krusei</i> ATCC 14243	1				1		
<i>Candida lusitanae</i> ATCC 34499	1				1		
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	1					1	
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	1				1		
<i>Candida utilis</i> ATCC 9958	1				1		

Tab. 3. Identyfikacja związków chemicznych występujących w olejku tatarakowym

	Czas retencji (min)	Powierzchnia	Zawartość (%)	Związek wg bazy NIST	Wzór sumaryczny
1	5,83	2,73E + 07	0,60	(1R)-2,6,6-trimetylodwucylo[3.1.1]hept-2-en	C ₁₀ H ₁₆
2	6,148	6,87E + 07	1,52	kamfen	C ₁₀ H ₁₆
3	6,668	1,37E + 07	0,30	(1S)-6,6-dimetylo-2-metyleno-bicyclo[3.1.1]heptan	C ₁₀ H ₁₆
4	7,23	1,78E + 07	0,39	(1R)-2,6,6-trimetylodwucylo[3.1.1]hept-2-en	C ₁₀ H ₁₆
5	7,597	1,50E + 08	3,30	(S)-1-metylo-4-(1-metyloetenilo)-cykloheksen	C ₁₀ H ₁₆
6	7,643	4,03E + 07	0,89	eukaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O
7	7,701	6,46E + 06	0,14	1,5-dimetylo-1,5-cyklooktadien	C ₁₀ H ₁₆
8	8,81	2,30E + 07	0,51	3,7-dimetylo-1,6-oktadien-3-ol	C ₁₀ H ₁₈ O
9	9,626	3,94E + 07	0,87	(1S)-1,7,7-trimetylo-bicyclo[2.2.1]heptan-2-on	C ₁₀ H ₁₆ O
10	9,769	6,51E + 06	0,14	cis-5-metylo-2-(1-metyloetylo)-cykloheksanon	C ₁₀ H ₁₈ O
11	11,105	4,89E + 06	0,11	2-aminobenzoesan 3,7-dimetylo-1,6-oktadien-3-olu	C ₁₇ H ₂₃ NO ₂
12	11,667	5,09E + 06	0,11	octan bornylu	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
13	12,98	6,39E + 06	0,14	kopenha	C ₁₅ H ₂₄
14	13,134	1,83E + 07	0,40	[1S-(1a,2β,4β)]-1-etenilo-1-metylo-2,4-bis(1-metyloetenilo)-cykloheksan	C ₁₅ H ₂₄
15	13,587	8,12E + 07	1,79	kariofilen	C ₁₅ H ₂₄
16	13,689	5,83E + 06	0,13	4,4-dimetylo-3-(3-metylobut-3-enylideno)-2-metylenobicyclo[4.1.0]heptan	C ₁₅ H ₂₂
17	13,741	3,63E + 07	0,80	[1aR-(1aa,7a,7aa,7ba)]-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-oktahydro-1,1,7,7a-tetrametylo-1H-cyklopropa[a]naftalen	C ₁₅ H ₂₄
18	13,903	1,38E + 08	3,03	metyloeugenol	C ₁₁ H ₁₄ O ₂

	Czas retencji (min)	Powierzchnia	Zawartość (%)	Związek wg bazy NIST	Wzór sumaryczny
19	14,049	1,20E + 07	0,26	humulen	C ₁₅ H ₂₄
20	14,109	6,57E + 06	0,15	[1aR-(1aa,7a,7aa,7ba)]-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-oktahydro-1,1,7,7a-tetrametylo-1H-cyklopropa[a]naftalen	C ₁₅ H ₂₄
21	14,253	4,97E + 06	0,11	β-kopen	C ₁₅ H ₂₄
22	14,312	5,14E + 06	0,11	α-murolen	C ₁₅ H ₂₄
23	14,425	7,35E + 07	1,62	szyobunon	C ₁₅ H ₂₄ O
24	14,482	2,93E + 07	0,65	guaia-1(10),11-dien	C ₁₅ H ₂₄
25	14,553	3,90E + 07	0,86	6-episjobunon	C ₁₅ H ₂₄ O
26	14,621	8,34E + 06	0,18	[1aR-(1aa,4a,4aβ,7ba)]-1a,2,3,4,4a,5,6,7b-oktahydro-1,1,4,7-tetrametylo-1H-cyklopro[e]azulen	C ₁₅ H ₂₄
27	14,688	9,76E + 07	2,15	6-episjobunon	C ₁₅ H ₂₄ O
28	14,739	1,38E + 07	0,31	6-epi-sziobunol	C ₁₅ H ₂₆ O
29	14,778	4,66E + 07	1,03	(1S-cis)-1,2,3,5,6,8a-heksahydro-4,7-dimetylo-1-(1-metyloetylo)-naftalen	C ₁₅ H ₂₄
30	14,828	1,12E + 07	0,25	tlenek ledenu-(II)	C ₁₅ H ₂₄ O
31	14,882	2,20E + 08	4,84	izoszjobunon	C ₁₅ H ₂₄ O
32	14,977	9,44E + 06	0,21	tlenek aromadendrenu-(1)	C ₁₅ H ₂₄ O
33	15,027	1,04E + 07	0,23	1,2,3-trimetoksy-5-(2-propenylo)-benzen	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
34	15,089	1,02E + 08	2,24	α-kalakoren	C ₁₅ H ₂₀
35	15,242	4,92E + 07	1,09	1,2,3-trimetoksy-5-(2-propenylo)-benzen	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
36	15,341	2,10E + 07	0,46	α-kalakoren	C ₁₅ H ₂₀
37	15,451	1,83E + 07	0,40	8,14-cedranotlenek	C ₁₅ H ₂₄ O
38	15,836	1,99E + 09	43,93	α-azaron	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
39	15,892	3,19E + 08	7,04	dehydroksy-izokalamendiol	C ₁₅ H ₂₄ O
40	15,937	4,74E + 07	1,04	1,2,4-trimetoksy-5-(1-propenylo)-benzen	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
41	16,003	6,80E + 07	1,50	β-watirenen	C ₁₅ H ₂₂
42	16,201	5,10E + 07	1,12	dehydroksy-izokalamendiol	C ₁₅ H ₂₄ O
43	16,253	1,88E + 07	0,42	1-tlenek diepicedrenu	C ₁₅ H ₂₄ O
44	16,519	2,58E + 08	5,68	β-azaron	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
45	16,659	2,04E + 08	4,49	(8S-cis)-2,4,6,7,8,8a-heksahydro-3,8-dimetylo-4-(1-metyloetylideno)-5(1H)-azulenon	C ₁₅ H ₂₂ O
46	16,836	1,17E + 07	0,26	3,5,6,7,8,8a-heksahydro-4,8a-dimetylo-6-(1-metyloetylo)-2(1H)naftalenon	C ₁₅ H ₂₂ O
47	17,300	1,75E + 07	0,39	3,4,5-trimetoksyfenilo-2-propanon	C ₁₂ H ₁₆ O ₄
48	18,064	1,88E + 07	0,41	3,5,6,7,8,8a-heksahydro-4,8a-dimetylo-6-(1-metyloetylo)-2(1H)naftalenon	C ₁₅ H ₂₂ O
			98,61	Suma związków występujących powyżej 0,1% (48 związków)	
			1,39	Suma związków występujących poniżej 0,1% (18 związków)	



Ryc. 1. Chromatogram GC-MS próbki olejku tatarakowego

że olejek tatarakowy hamował wzrost szczepu *C. albicans*, dając strefę zahamowania wzrostu 15,3 mm. Senthil Kumar i wsp. (8), Shreelaxmi i wsp. (24) oraz Mungkornasawakul i wsp. (22) udowodnili aktywność olejku wobec różnych drobnoustrojów.

Olejek tatarakowy działał skutecznie na bakterie mikroaerofilne, zwłaszcza z gatunku *Campylobacter sputorum*, podczas gdy bakterie tlenowe okazały się mniej wrażliwe (33). Wobec testowanych bakterii beztlenowych olejek tatarakowy charakteryzował się wysoką aktywnością, silniej działał na bakterie Gram-dodatnie w porównaniu z Gram-ujemnymi (34).

Badania składu olejku tatarakowego metodą GC-MS

Badanie przeprowadzono na chromatografie GC-MS (SCION TQ, BRUKER). 20 μ l olejku tatarakowego (Semifarm) rozpuszczono w 1,5 ml CH_2Cl_2 (Sigma-Aldrich). Na kolumnę wstrzyknięto 1 μ l roztworu. Chromatograf był wyposażony w kolumnę krzemionkową VF-5ms (30 mx 0,25 mm x 0,39), df = 0,25 Crawford Scientific. Energia elektronów wynosiła 70 eV, a źródło jonów miało temperaturę 200°C. Jako gaz nośny zastosowano hel przy szybkości przepływu 1 ml/min. Identyfikacja związków została oparta

na porównaniu ich czasu retencji, a także widm masowych z normami z NIST. Wyniki identyfikacji chemicznej olejku tatarakowego przedstawiono w tabeli 3 i na rycinie 1.

W wyniku analizy GC-MS olejku tatarakowego oznaczono 66 związków, w tym 18 związków o zawartości poniżej 0,1%, których nie ujęto w powyższym zestawieniu. Najwięcej występowało α -azaronu (43,93%), następnie dehydrokso-izokalamendiolu (7,04%) i β -azaronu (5,68%). Skład olejku okazał się podobny do analizowanych wcześniej przez Radusiene i wsp. (35).

Wnioski

Szczepy grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida* były wysoce wrażliwe na olejek tatarakowy.

Najniższą aktywność olejek wykazał wobec szczepów *C. guilliermondii*, *C. lusitanae* i *C. utilis*.

Szczepy z gatunków *Rhodotorula rubra* i *Saccharomyces cerevisiae* charakteryzowały się wysoką wrażliwością na olejek tatarakowy.

Metodą GC-MS oznaczono skład badanego olejku tatarakowego, a dominującym związkiem był α -azaron (43,93%).

Piśmiennictwo

1. Kuźnicka B, Dziak M. Zioła i ich zastosowanie. PZWL 1984.
2. Rajput SB, Tonga MB, Karuppaiyl SM. An overview on traditional uses and pharmacological profile of *Acorus calamus* Linn. (Sweet flag) and other *Acorus* species. *Phytomed* 2014; 21(3):268-76.
3. Wiolmer V, Schibli A, Reich E. Quantitative determination of beta-asarone in *calamus* by high performance thin-layer chromatography. *JAOAG Int* 2005; 88(5):1562-7.
4. Kim WJ, Hwang KH, Kim TJ i wsp. Major constituents and antimicrobial activity of Korean herb *Acorus calamus*. *Nat Prod Res* 2011; 25(3):1278-81.

5. Du Z, Clary RA, Hammond CJ. Volatiles from leaves and rhizomes of fragrant *Acorus* spp. (*Acoraceae*). *Chem Biodivers* 2008; 5(6):887-95.
6. Hao ZY, Liang D, Luo H i wsp. Bioactive sesquiterpenoids from the rhizomes of *Acorus calamus*. *J Nat Prod* 2012; 75(6):1083-9.
7. Bogun J, Sohrab H, Yousef M i wsp. *In vitro* antifungal activity of azaron isolated from rhizome extract of *Acorus calamus* L. *Pakistan J Biol Sci* 2004; 7:1376-9.
8. Senthil Kumar S, Soban Akram A, Fareed Ahmed TS i wsp. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of the ethanolic extract of *Acorus calamus* rhizome. *Oriental J Chem* 2010; 26(1):223-7.
9. Chandra D, Prasad K, Kohling G i wsp. Essential oil composition of *Acorus calamus* from District-Pithoragarh Uttarakhand, India. *WJPR* 2015; 4(9):1158-66.
10. Maronglu B, Piras A, Porcedda S i wsp. Chemical composition of the essential oil and supercritical CO₂ extract of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. *And of Acorus calamus* L. *J Agric Food Chem* 2005; 53(20):7939-43.
11. Devi A, Ganajewa D. Antimicrobial activity of *Acorus calamus* (L.) rhizome and leaf extract. *Acta Biologica Szegediensis* 2009; 51(1):45-9.
12. Balakumbahan R, Rajamani K, Kumanan K. *Acorus calamus*: An overview. *J Med Plants Res* 2010; 4(25):2740-5.
13. Kumar V, Singh R, Joshi V. Antimicrobial activity of rhizome extract of *Acorus calamus* against different microorganisms. *Octa J Biosci* 2014; 2(1):59-63.
14. Parki A, Chaubey P, Prakash O i wsp. Season variation in essential oil compositions and antioxidant properties of *Acorus calamus* L accessions. *Medicines* 2017; 4:81-94.
15. Ganajewala D, Srivastava AK. An update on chemical composition and bioactivities of *Acorus* species. *Asian J Plant Sci* 2011; 10(3):182-9.
16. Kour G, Sharma AK, Dash S i wsp. Vacha (*Acorus calamus* Linn.): A variable medicinal plant. *Int J Ayur Pharma Res* 2014; 2(8):1-11.
17. Khwairakpam AD, Damayeti YO, Deka A i wsp. *Acorus calamus*: a bio-reserve of medical values. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2018; 29(2):107-22.
18. Liu XC, Zhou LG, Lin ZL i wsp. Identification of insecticidal constituents of the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes against *Liposcelis bostrychophila* Badinell. *Molecules* 2013; 18:5684-96.
19. Phongpaichit S, Pujenjob N, Rakachaisirikul V i wsp. Antimicrobial extract of *Acorus calamus* Linn. *Songklanakarinn. J Sci Technol* 2005; 27(Suppl. 2):517-23.
20. Kasture A, Patel S, Chauhan J i wsp. *In vitro* antimicrobial effect of essential oil from leaf and rhizome of various accessions of *Acorus calamus* Linn., and its phytochemical screenings. *Europ J Med Plants* 2015; 9(2):1-13.
21. Chandra D, Prasad K, Kohli G i wsp. Antifungal activity of *Swertia ciliata* (family *Araceae*) and *Viola serpens* (family *Violaceae*) from Pithoragarh Uttarakhand Himalays, India. *J Mad Plants Studies* 2017; 5(6):6-10.
22. Mungkornasawakul P, Supyen D, Jatisatie C i wsp. Inhibitory effect of *Acorus calamus* L. Extract on some plant pathogenic molds. *Proc Int Conf on MAP Acta Hort* 2002; 576.
23. Devi A, Bawankar R, Babu S. Current status on biological activities of *Acorus calamus*. – A review. *Int J Pharm Pharmacol Sci* 2014; 6(10):66-71.
24. Shreelaxmi, Sharanagouda H, Ramachandra CT i wsp. Antimicrobial activity of supercritical fluid extracted *Acorus calamus* oil against different microbes. *J Pharmac Phytochem* 2018; 7(3):2836-40.
25. Parekh J, Chandra S. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *Afric J Biomed Res* 2007; 10:175-81.
26. Chen HP, Yang K, Zheng LS i wsp. Repellent and insecticidal activities on skyobunone end isoshyobunone derived from the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes. *Pharm Magaine* 2015; 11(44):674-81.
27. Stimson J, Aswathy C, Sruthy T. Formulation and evaluation of *Acorus calamus* gel for topical candidiasis. *Indo Am J Pharm Res* 2016; 6(4):5324-30.
28. Janssen AM, Chin NLJ, Scheffer JJC i wsp. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharm Weekblad Sci ed.* 1986; 8:289-92.
29. Muchtaromah B, Ahmad M, Koestanti ES i wsp. Phytochemicals, antioxidant and antifungal properties of *Acorus calamus*, *Curcuma mangga* and *Allium sativum*. *Veterinary Med Inter Conference* 2017; 93-104.
30. Pawar VC, Thaker VS. Evaluation of the anti-Fusarium oxysporum f. sp. cicer and Anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. *World J Microbiol Biotechnol* 2007; (23):1099-106.
31. Rawal P, Adhikari RS, Danu K i wsp. Antifungal activity of *Acorus calamus* against *Fusarium oxysporum* ssp. *lycopersici*. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2015; 4(1):710-5.
32. Subha TS, Gnanamani A. *Candida* biofilm perfusion using active fraction of *Acorus calamus*. *J Animal Plant Sci* 2009; 4(2):363-71.
33. Kędzia A, Hołderna-Kędzia E. Ocena aktywności olejku tatarakowego (*Calami aetheroleum*) wobec bakterii tlenowych i mikroaerofilnych. *Post Fitoter* 2021; 3:3-8.
34. Kędzia A, Kędzia AW. Przeciwbakteryjna aktywność olejku tatarakowego (*Oleum Calami*) wobec bakterii beztlenowych. *Post Fitoter* 2019; 20(2):96-101.
35. Radusiene XJ, Judzentiene A, Peculyte D i wsp. Essential oil composition and antimicrobial assay of *Acorus calamus* leaves from different wild populations. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 2007; 5(1):37-44.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

otrzymano/received: 07.10.2021

zaakceptowano/accepted: 21.10.2021

Adres/address:

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