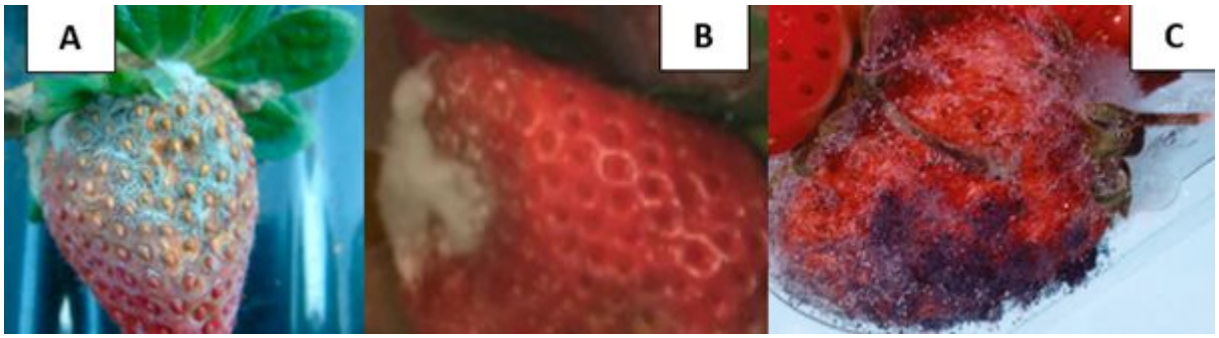
Naturalbeautyworkshop.com

Miroslava Hlebová [a], Viktória Uzsáková [b], Dana Tančinová [b]

[a]Univerzita Svätého Cyrila a Metoda v Trnave, Fakulta prírodných vied
[b]Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva

Pozberové straty ovocia a zeleniny sú spôsobené najmä činnosťou nežiaducich mikroorganizmov. Mikroskopické vláknité huby sú hlavným dôvodom zhoršovania kvality potravín, ako sú ovocie a zelenina najmä počas skladovania. Huby sú schopné znížiť kvalitu a výživové hodnoty ovocia a zeleniny svojim rastom, alebo produkciou toxických zlúčenín. Môžu napádať plodiny priamo na poli, vtedy hovoríme o tzv. poľných hubách, alebo počas samotného skladovania, či prepravy, vtedy sa jedná o tzv. skladové huby. Obzvlášť jahody sa vyznačujú krátkou trvanlivosťou a sú náchylné na napadnutie mikroskopickými vláknitými hubami, čo výrazne znižuje ich kvalitu. Je to spôsobené pravdepodobne najmä kvôli ich priamemu kontaktu s pôdou a citlivému a mäkkému tkanivu. K hlavným mikroskopickým hubám, ktoré znižujú životnosť jahôd po zbere, patria druhy rodov *Botrytis*, *Aspergillus*, *Rhizopus, Mucor* a *Penicillium*. Druhy rodov *Rhizopus* a *Mucor* spôsobujú na jahodách tzv. mäkkú hnilobu. Druh *Botrytis cinerea* spôsobuje tzv. ,,sivú pleseň”. Tieto mikroskopické huby sa na jahodách najčastejšie vyskytujú po zbere, čo vedie k značným ekonomickým stratám. ,,Sivá pleseň” spôsobuje svetlohnedé škvrny, ktoré sa rýchlo zväčšujú a vyskytujú sa na celom povrchu ovocia. Pre mäkkú hnilobu je charakteristická vodnatá hniloba s únikom ovocnej šťavy.



Obrázok 1: A) jahoda napadnutá mikroskopickou vláknitou hubou Botrytis cinerea priamo na poli; B) Botrytis cinerea na jahodách počas skladovania; C) Rhizopus stolonifer na jahodách počas skladovania (https://www.horticulture.com.au/globalassets/hort-innovation/resource-assets/bs15002-postharvest-diseases-and-disorders-of-strawberries.pdf, upravené Hlebová)

Výskyt skladových mikroskopických húb je v súčasnosti bežne kontrolovaný syntetickými

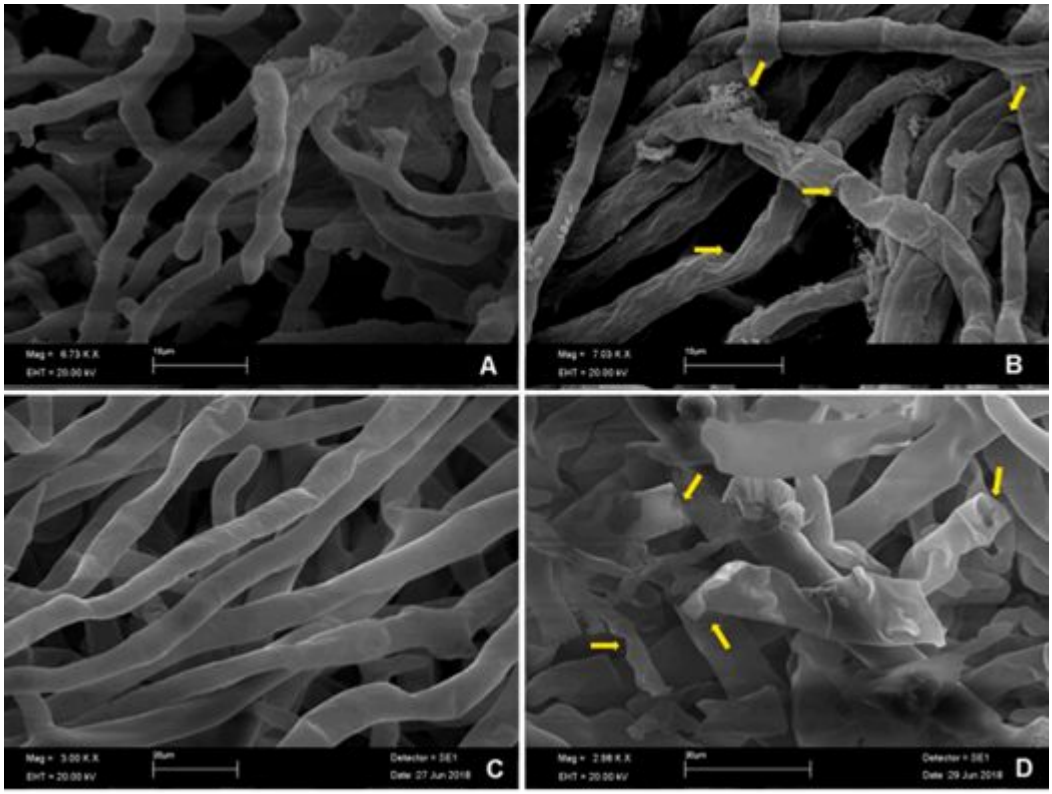
chemikáliami. Tieto činidlá však zvyčajne nepriaznivo ovplyvňujú ľudské zdravie a životné prostredie. Okrem toho je používanie fungicídov v pozberovom období škodlivejšie kvôli krátkemu času medzi ošetrením a spotrebou. Niektoré huby navyše vykazujú odolnosť voči využívaným širokospektrálnym fungicídom, ako sú benzimidazoly, imidazoly atď., v dôsledku opakovaného, alebo nesprávneho, či nadmerného použitia a niektoré z mikroskopických vláknitých húb, ako napríklad *Mucor* spp. a *Rhizopus* spp., nie sú na pôsobenie týchto fungicídov citlivé vôbec. V rôznych štúdiách sa dokonca uvádza, že monitorovanie prítomnosti pesticídov v ovocí ukázalo, že práve jahody patrili k vzorkám ovocia s neuspokojivým výsledkom a obsahovali rezíduá pesticídov nad povoleným limitom. Znižovanie účinnosti a zvyšovanie obáv z nepriaznivých účinkov syntetických fungicídov na životné prostredie, preto vedú k potrebe vývoja nových, alternatívnych spôsobov selektívnej kontroly a metód ochrany plodín bez/alebo so zníženým použitím konvenčných fungicídov. Jednou z alternatívnych možností ochrany jahôd, alebo všeobecne ovocia, pred pozberovou kontamináciou mikroskopickými vláknitými hubami je práve využitie rastlinných silíc, ktoré predstavujú bohatý zdroj bioaktívnych molekúl s výraznými antifungálnymi vlastnosťami.

Rastlinné silice a ich antifungálne vlastnosti

Rastlinné silice sú sekundárne metabolity produkované v niekoľkých častiach rastlín v reakcii na určitý druh stresu (napadnutie patogénmi, ochrana pred bylinožravcami atď…). V prírode teda slúžia na ochranu rastlín, prilákanie opeľovačov a pod. Sú charakterizované ako prchavé olejové kvapaliny, silnej arómy, priehľadné a zriedka zafarbené, rozpustné v organických rozpúšťadlách a zvyčajne nižšej hustoty ako voda. Skladajú sa z viacerých komponentov. Najviac zastúpené komponenty môžu tvoriť až 85 % silice, zatiaľ čo ostatné zložky sa v siliciach vyskytujú iba v stopových množstvách. Všeobecne platí, že koncentrácia týchto hlavných zložiek závisí od použitých extrakčných metód, zberu rastliny, meteorologických podmienok, geografickej/nadmorskej výšky a od genetických variácií danej rastliny. Napríklad skoré kvitnutie niektorých rastlín môže priamo ovplyvňovať biologické účinky rastlinných silíc. Skladajú sa hlavne z terpénov, aromatických zlúčenín a terpenoidov. Práve tieto zložky sú zodpovedné za ich antifungálnu aktivitu. Svojím pôsobením vytvárajú v bunkách húb rôzne poškodenia, ako napríklad lézie cytoplazmatickej membrány, čo môže viesť k strate životaschopnosti buniek, zníženie tvorby ergosterolu v plazmatickej membráne, zníženie potenciálu mitochondriálnej membrány (MMP) v mitochondriách, okyslenie okolitého prostredia, čím sa stáva pre huby nevhodným, alebo zabraňujú ich sporulácii a tak aj ich následnému šíreniu. Až 60 % rastlinných silíc alebo ich derivátov má inhibičný účinok na široké spektrum mikroskopických vláknitých húb, pričom by mohli byť využité na kontrolu plesnivenia v/na ovocí a zelenine a tak predlžovať ich trvanlivosť.

Účinnosť silíc proti kontaminantom jahôd

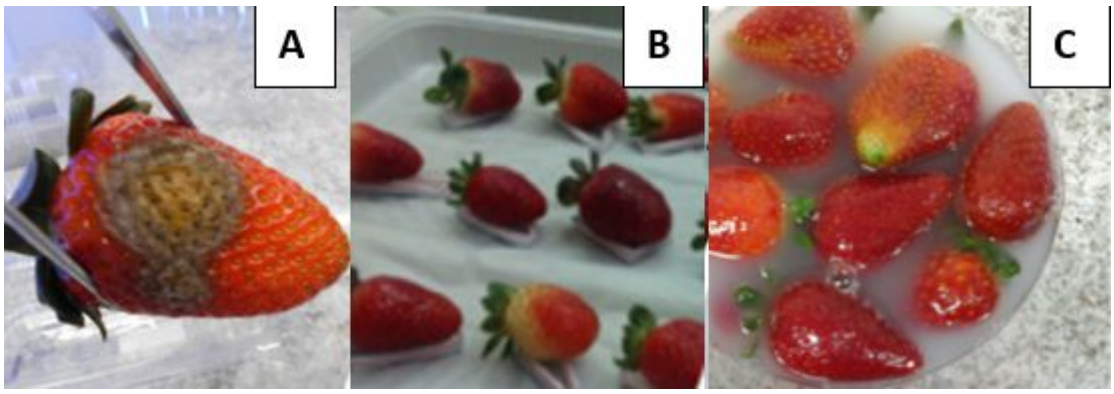
V mnohých *in vitro* štúdiách bola preukázaná účinnosť silíc v inhibícii niektorých druhov rodov *Rhizopus*, *Mucor*, či *Botrytis*. Napríklad využitie eukalyptovej silice sa preukázalo ako obzvlášť účinné v inhibícii rastu *Rhizopus stolonifer* a *Botrytis cinerea* izolovaných z jahôd. V neprítomnosti silice vykazovalo mycélium mikroskopických húb normálny rast a homogénne vlastnosti, avšak po pridaní silice boli pozorované v raste húb deformácie, deštrukcie a rôzne zvrásnenia hýf.



Obrázok 2: Účinok rastlinnej silice z *Eucalyptus staigeriana* na morfológiu hýf *Botrytis cinerea* a *Rhizopus stolonifer*, izolovaných z jahôd, vizualizované pomocou elektrónovej mikroskopie. A) *B. cinerea* v neprítomnosti silice; B) *B. cinerea* počas 6 hodín pôsobenia rastlinnej silice; C) *R. stolonifer* v neprítomnosti silice; D) *R. stolonifer* počas 6 hodín pôsobenia rastlinnej silice. Šípky znázorňujú hlavné miesta hýf, ktoré boli pôsobením silice narušené (Moreira da Silva a kol., 2020)

Aj klinčeková a horčicová silica sa ukázali ako účinné proti *Botrytis cinerea* ako v *in vitro* tak aj v *in vivo* štúdii priamo na jahodách. Keďže silice sú veľmi účinné aj v plynnej fáze, jahody boli ošetrované práve plynnou fázou silíc, čo zabránilo styku silice priamo s ovocím. Počas piatich dní kultivácie bol rast huby v porovnaní s kontrolou úplne potlačený. Rovnako

saturejková rastlinná silica sa preukázala ako účinná pri pôsobení na rast *R. stolonifer*, *B. cinerea* a *Penicillium digitatum*, ktoré boli prvotne izolované z jahôd. Rast všetkých mikroskopických vláknitých húb bol úplne inhibovaný saturejkovou silicou počas 10 dní kultivácie. Nedávna štúdia taktiež odhalila vysokú účinnosť bazalkovej silice a silice z citrónovej trávy, ktoré boli schopné inhibovať rast a rozvoj *B. cinerea* na jahodách naočkovaných mikroskopickou hubou, ako aj kontrolnej skupiny bez umelého očkovania. Jahody boli namočené v emulzii, ktorá obsahovala dané silice počas troch dní. Ani na jednej jahode sa infekcia neprejavila.



Obrázok 3: A) kontrola naočkovaná *Botrytis cinerea* po 3 dňoch kultivácie; B) inokulácia jahôd patogénom; C) jahody ošetrené nanoemulziou so silicami po kultivácii (Fontana a kol., 2021; upravené Hlebová)

V ďalšej štúdii boli taktiež jahody inokulované druhom *Botrytis cinerea* ale boli kultivované v sklených pohároch a ošetrované plynnou fázou rastlinných silíc bez priameho kontaktu počas 5 dní. Počas celej doby kultivácie sa na jahodách infekcia spôsobená naočkovanou hubou *Botrytis cinerea* taktiež neprejavila. Výsledky *in vitro* a *in situ* štúdií tak demonštrujú účinnosť rastlinných silíc ako v priamom kontakte, tak aj v plynnej fáze a mohli by úspešne slúžiť na ochranu pozberového znehodnocovania jahôd.

Výhody, nevýhody a bezpečnosť využitia rastlinných silíc

Na kontrolu patogénnych mikroorganizmov v potravinách je využitie rastlinných silíc všeobecne výhodnejšie oproti používaniu syntetických antimikrobiálnych látok, pretože vykazujú nízku toxicitu pre cicavce, sú biologicky odbúrateľné a v životnom prostredí perzistentné. Až 60 % rastlinných silíc alebo ich derivátov má inhibičný účinok na široké spektrum mikroskopických vláknitých húb. Zložky rastlinných silíc ako aj celé silice získali status ,,GRAS”, čo znamená, že sú všeobecne uznávané ako bezpečné a niektoré ich zložky sú v potravinárskom priemysle už dávno využívané. Jednou z nevýhod ich aplikácie do potravín je ich silná aróma. Navyše ich aplikácia do rôznych potravín môže byť ovplyvnená

zložením danej potraviny, pretože zložky silíc môžu interagovať so zložkami potravín. V niektorých prípadoch tak môže účinnosť silíc klesať. Taktiež v ovocí, môže byť aktivita silíc ovplyvnená jeho zložením, alebo vystavením svetlu. Alternatívou by preto mohlo byť začlenenie silíc do jedlých povlakov, nanokapsúl alebo nanoemulzi, ktoré by sa nanášali na povrch ovocia, čo by zachovalo kvalitu ovocia a predlžilo jeho trvanlivosť. Čo sa týka bezpečnosti tak rastlinné silice sú biologicky odbúrateľné zlúčeniny, ktoré majú obmedzený vplyv na necieľové organizmy, avšak mnoho štúdií uvádza, že napríklad antimikrobiálne povlaky môžu spôsobiť zhoršenie farby, alebo chuti ovocia, či zeleniny a vyvolať alergické reakcie. Preto sú aj naďalej potrebné ďalšie štúdie zamerané na ich toxicitu, ako aj toxicitu nanoemulzií, nanokapsúl alebo ich plynnej fázy, ktoré budú na ochranu ovocia alebo zeleniny použité.

Záver

Ovocie a zelenina sú neoddeliteľnou súčasťou ľudskej stravy. Napriek tomu môžu straty vody a mikrobiálna proliferácia zhoršiť ich kvalitu. Aplikácia rastlinných silíc a rastlinných extraktov na kontrolu pozberových patogénov je predmetom záujmu s vyvíjajúcim sa trendom. Tieto látky sú prírodnými produktmi bez negatívnych účinkov na životné prostredie a vďaka svojej antioxidačnej aktivite zvyšujú kvalitu a trvanlivosť ovocia a zeleniny. Mnoho štúdií preukázalo účinnosť rastlinných silíc v inhibícii mikroskopických vláknitých húb a ochrane ovocia a zeleniny. Preto by mohli byť vhodné na použitie v potravinárskom priemysle a vzhľadom na svoj prírodný pôvod, by mohli nahradiť v súčasnosti vyžívané syntetické fungicídy, alebo aspoň znížiť používané koncentrácie týchto látok na minimum.

Použitá literatúra

Aguilar-González, A. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (Syzygium aromaticum) and/or mustard (Brassica nigra) in vapor phase against gray mold (Botrytis cinerea) in strawberries. *Innovative food science & emerging technologies*, *32*, 181-185. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.003

da Silva, P. P. M., de Oliveira, J., dos Mares Biazotto, A., Parisi, M. M., da Glória, E. M., & Spoto, M. H. F. (2020). Essential oils from Eucalyptus staigeriana F. Muell. ex Bailey and Eucalyptus urograndis W. Hill ex Maiden associated to carboxymethylcellulose coating for the control of Botrytis cinerea Pers. Fr. and Rhizopus stolonifer (Ehrenb.: Fr.) Vuill. in strawberries. *Industrial Crops and Products*, *156*, 112884. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112884

Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., & Hadian, J. (2015). Chemical composition and antifungal effects of three species of Satureja (S. hortensis, S. spicigera, and S. khuzistanica) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *109*, 145-151. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.014

Fontana, D. C., Neto, D. D., Pretto, M. M., Mariotto, A. B., Caron, B. O., Kulczynski, S. M., & Schmidt, D. (2021). Using essential oils to control diseases in strawberries and peaches. *International Journal of Food Microbiology*, *338*, 108980. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108980

Guo, Q., Du, G., Jia, H., Fan, Q., Wang, Z., Gao, Z., … & Yuan, Y. (2021). Essential oils encapsulated by biopolymers as antimicrobials in fruits and vegetables: A review. *Food Bioscience*, 101367. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101367

Ibáñez, M. D., & Blázquez, M. A. (2020). Phytotoxic effects of commercial essential oils on selected vegetable crops: Cucumber and tomato. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *15*, 100209. https://doi.org/10.1016/j.scp.2019.100209

Oliveira, J., Parisi, M. C. M., Baggio, J. S., Silva, P. P. M., Paviani, B., Spoto, M. H. F., & Gloria, E. M. (2019). Control of Rhizopus stolonifer in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. *International journal of food microbiology*, *292*, 150-158. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.014

Quintana, S. E., Llalla, O., García-Risco, M. R., & Fornari, T. (2021). Comparison between essential oils and supercritical extracts into chitosan-based edible coatings on strawberry quality during cold storage. *The Journal of Supercritical Fluids*, *171*, 105198. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105198

Soylu, E. M., Kurt, Ş., & Soylu, S. (2010). In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent Botrytis cinerea. *International journal of food microbiology*, *143*(3), 183-189. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015