



Slovenská  
spoločnosť pre  
poľnohospodárske,  
lesnícke, potravinárske a  
veterinárske vedy pri SAV  
v Bratislave

# Aktuálne trendy v agropotravinárstve

Recenzovaný zborník príspevkov  
z vedeckej konferencie  
s medzinárodnou účasťou  
Nitra, 10. – 11. 9. 2024

Sobocká J. (ed.)



# **Aktuálne trendy v agropotravinárstve**

**Recenzovaný zborník príspevkov  
z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou**

Nitra, 10. – 11. 9. 2024

**Sobocká Jaroslava (ed.)**

Názov: **Aktuálne trendy v agropotravinárstve**  
Recenzovaný zborník príspevkov z vedeckej konferencie  
s medzinárodnou účasťou. Nitra, 10. – 11.9.2024

Zostavovateľ: doc. RNDr. Jaroslava Sobocká, CSc.  
(Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum,  
Výskumný ústav pôdoznalectva a ochrany pôdy, Bratislava – SK)

Recenzenti: doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D. (Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-  
technologická, Katedra analytické chemie, Pardubice – CZ)  
prof. Ing. Branislav Gálik, PhD. (Slovenská poľnohospodárska univerzita  
v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Ústav výživy  
a genomiky, Nitra – SK)  
prof. Ing. Miroslav Juráček, PhD. (Slovenská poľnohospodárska univerzita  
v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Ústav výživy  
a genomiky, Nitra – SK)  
doc. Ing. Radoslava Kanianska, CSc. (Univerzita Mateja Bela v Banskej  
Bystrici, Fakulta prírodných vied, Banská Bystrica – SK)  
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc. (Emer.)  
prof. Ing. Petr Pipek, CSc. (Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,  
Fakulta potravinárske a biochemické technológie, Ústav konzervace  
potravin, Praha – CZ)  
Dr. Ing. Ján Píry, Plzeňský Prazdroj Slovensko, a. s. – SK)

Technická redakcia: Karol Végh  
Vydal: Garmond Nitra

Rok vydania: 2024

Snímky na obálke a začiatkoch sekcií: [www.pexels.com](http://www.pexels.com), [www.pixabay.com](http://www.pixabay.com)

Sekretariát Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske  
a veterinárske vedy pri SAV: Fakulta biotechnológie a potravinárstva SPU v Nitre,  
Trieda Andreja Hlinku 2, 949 01 Nitra

ISBN 978-80-8266-073-2



Toto dielo je publikované pod / This work is licensed under a Creative  
Commons Attribution 4.0 International Licence (CC-BY4.0)

DOI: <https://doi.org/10.15414/2024.atap24>

## Obsah

<b>Poľnohospodárska sekcia</b> .....	6
Jozef Takáč	
Výskyt sucha v poľnohospodárskych regiónoch Slovenska.....	7
<b>Potravinárska sekcia</b> .....	22
Štefan Ailer, Lucia Benešová, Veronika Šavyová	
Porovnanie spôsobov prípravy zákvasu na kvalitatívne parametre kvetovej medoviny.....	23
Štefan Ailer, Martin Janás, Lucia Benešová, Marek Medek	
Hodnotenie prínosov a rizík rôznych spôsobov realizácie jablčno – mliečnej fermentácie v červenom víne .....	28
Lucia Benešová, Štefan Ailer, Patrik Vacho	
Vplyv spôsobu prípravy kvasu na senzorické parametre a výťažnosť destilátu z odrody sliviek stanley .....	34
Lucia Benešová, Štefan Ailer, Eduard Pintér	
Porovnanie mechanizmov vzniku a obsahu alergénov vo víne s inými požívatinami.....	39
Lucia Benešová, Štefan Ailer	
Podvody s alkoholickými nápojmi v roku 2023 – prehľad prípadov a dopad na trh.....	44
Ján Brunner, Peter Vašík, Daniela Šmogrovičová	
Funkčné nealkoholické pivo.....	53
Pavel Diviš, Marek Lamplot	
Quality of black pepper from the Czech Republic's trade network.....	65
Jozef Golian, Filip Dvorský	
Kontrola dátumu spotreby a dátumu minimálnej trvanlivosti v obchodnej sieti .....	70
Martin Janás, Dávid Ernst, Adrián Selnekovič, Štefan Ailer, Tomáš Vician, Ivan Černý, Lucia Benešová	
Vyhodnotenie fyziologických reakcií viničových krov infikovaných komplexom húb <i>esca</i> .....	77
Miroslava Kačániová, Andrea Verešová	
<i>Corymbia citriodora</i> ako antimikrobiálny agent a konzervant ovocia a zeleniny .....	85
Miroslava Kačániová, Andrea Verešová	
Antimikrobiálny potenciál rastlinnej silice <i>Eucalyptus globulus in vitro</i> a v parnej fáze proti fytopatogénnym mikroorganizmom .....	95
Miroslava Kačániová, Andrea Verešová	
Využitie badiánovej silice proti fytopatogénnym mikroorganizmov v podmienkach <i>in vitro</i> a <i>in situ</i> .....	104
Miroslava Kačániová, Andrea Verešová	
Antimikrobiálny efekt kardamónovej rastlinnej silice na fytopatogénne baktérie a mikroskopické vláknité huby .....	114
Miroslava Kačániová, Andrea Verešová	
<i>Santalum album</i> ako antimikrobiálny produkt proti fytopatogénnym mikroorganizmom.....	123
Anna Kalafová, Monika Schneidgenová, Patricia Šimková, Marcela Capcarová	
Použitie japonskej prepelice ( <i>Coturnix japonica</i> ) v biomedicínskom výskume .....	133

Gabriela Kaplocká, Monika Mokrāňová, Jaroslav Hambalko, Štefan Ailer, Katarína Furdíková	
<b>Charakterizácia kožkotvorných kvasiniek spôsobujúcich birzu vína.....</b>	<b>138</b>
Eduard Pintér, Štefan Ailer, Martin Janás, Lucia Benešová	
<b>Účel a princípy použitia oxidu siričitého pri výrobe vína .....</b>	<b>148</b>
Kristína Predanócyová, Lubica Kubicová, Patrícia Joanidis	
<b>Konzumácia bravčového mäsa a mäsových výrobkov: Vnímanie aktuálnych aspektov a budúcich výziev z pohľadu mladých spotrebiteľov .....</b>	<b>155</b>
Andrea Verešová, Miroslava Kačániová	
<b>Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice <i>Pinus sylvestris</i> v <i>in vitro</i> a <i>in situ</i> podmienkach .....</b>	<b>169</b>
Andrea Verešová, Miroslava Kačániová	
<b>Antimikrobiálna aktivita levanduľovej rastlinnej silice proti rastlinným patogénom .....</b>	<b>179</b>
Andrea Verešová, Miroslava Kačániová	
<b>Skúmanie antimikrobiálnej aktivity geranievej (<i>Pelargonium graveolens</i>) rastlinnej silice .....</b>	<b>188</b>
Andrea Verešová, Miroslava Kačániová	
<b>Využitie rozmarínovej rastlinnej silice na konzerváciu ovocia a zeleniny.....</b>	<b>198</b>
Andrea Verešová, Miroslava Kačániová	
<b>Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice ruže damascénskej v podmienkach <i>in vitro</i> a <i>in situ</i>.....</b>	<b>209</b>
Miloš Vidlár, Štefan Ailer, Lucia Benešová	
<b>Sledovanie obsahu furfuralu a furfurylalkoholu v bielych vínach vyzrievaných v rôznych typoch drevených sudov .....</b>	<b>219</b>
<b>Podologická sekcia.....</b>	<b>225</b>
Jozef Kobza, Gabriela Barančíková, Rastislav Dodok, Jarmila Makovníková, Boris Pálka, Ján Styk, Miloš Širáň	
<b>Monitoring pôd ako základný nástroj pre stratégiu ochrany a využívania pôd v SR a v kontexte s EÚ.....</b>	<b>226</b>
Nora Polláková, Martin Juriga, Peter Kováčik, Juraj Chlpík	
<b>Rozdiely v základných chemických vlastnostiach pôd obrábaných minimalizačne a konvenčne .....</b>	<b>237</b>
<b>Lúgarsko-pasienkárska sekcia .....</b>	<b>247</b>
Norbert Britaňák, Lubomír Hanzes	
<b>Druhá diverzita trávneho porastu ovplyvnená minerálnym hnojením aplikovaným rôznymi spôsobmi: pravidelne, prerušovane a cyklicky .....</b>	<b>248</b>
Ing. Jozef Čunderlík, PhD.	
<b>Testovanie dávok digestátu na botanické zloženie trávneho porastu.....</b>	<b>254</b>
Lubomír Hanzes, Norbert Britaňák	
<b>Produkcia fytohmasy trávneho porastu v procese jeho revitalizácie .....</b>	<b>264</b>
Štefan Pollák, Vladimíra Vargová	
<b>Modelovanie emisií trávnych porastov na experimentálnom stanovišti Veľká Lúka ...</b>	<b>272</b>
Vladimíra VARGOVÁ	
<b>Vplyv hnojenia na medonosné a liečivé druhy rastlín v trávnom poraste .....</b>	<b>279</b>

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske  
a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

# Poľnohospodárska sekcia



## Výskyt sucha v poľnohospodárskych regiónoch Slovenska

### Drought Occurrence in Agricultural Regions of Slovakia

Jozef Takáč

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav pôdoznanectva  
a ochrany pôdy, Trenčianska 55, 821 09 Bratislava, jozef.takac@nppc.sk*

#### Abstract

Assessment of drought occurrence and severity in agricultural regions of Slovakia during the period of 1961-2020 was carried out using the various climatic indices. Annual, seasonal and monthly values of Standardized precipitation index (SPI), Aridity index ( $AI_{UNEP}$ ) and climate water balance were calculated from the daily meteorological data from 42 meteorological stations. According to climatic indices, the driest year was 2003. Climatic indices values for the period 1991 – 2020 indicate a trend of drying of the agricultural regions. Drought severity assessment was carried out also on the basis of soil water dynamics simulation by agroecological model DAISY. Changes in climatic conditions have had an impact on soil water storage. In the period 1991 – 2020 there was a slight decrease in the average soil water content in most of Slovakia compared to the period 1961 – 1990. On the contrary, an increase in soil water storage in the period 1991 – 2020 compared to the period 1961 – 1990 occurred in the south-east of the Danube lowland, in the Ipel' Basin, in Spiš and Šariš regions. Extreme drought of the largest spatial extent was identified in the year 1990. Extreme drought occurred locally in the southwest Slovakia in 1978 and in the southeast Slovakia in 1986.

**Keywords:** Standardized precipitation index, Aridity index, climate water balance, soil water content

#### ÚVOD

Podnebie svojou regionálnou a časovou variabilitou je hlavným determinantom poľnohospodárskej výroby. Najdôležitejšími klimatickými činiteľmi determinujúcimi úrody sú slnečné žiarenie, teplota vzduchu a zrážky. Rastlinná výroba je síce prispôsobená dlhodobým priemerným klimatickým podmienkam, ale extrémne teploty a variabilita zrážok môžu negatívne vplývať na úrody plodín. V dôsledku zmeny klímy môže klesnúť dostupnosť vody pod kritické hodnoty, pri ktorých bude rastlinná výroba mimoriadne zraniteľná. Citlivosť poľnohospodárskej krajiny na sucha sa zvyšuje kvôli zvyšujúcim sa požiadavkám na vodu a následkom klimatickej zmeny. Následky sucha sú rozdielne v závislosti od ročného obdobia, v ktorom sa vyskytne.

Podľa meteorologických pozorovaní sa v posledných desaťročiach na našom území oveľa častejšie vyskytovalo lokálne alebo celoplošné sucho. Zmenilo sa rozdelenie atmosférických zrážok a ich intenzita. Podľa 7. národnej správy SR o zmene klímy (2017) sa silné sucho vyskytlo v rokoch 1990 – 1994, 2000, 2002, 2003, 2007, 2009, 2011, 2012, 2015 a 2017. Príčina, že sa pozoruje zvýšený výskyt sucha, je okrem množstva a rozdelenia zrážok aj vo zvyšujúcich sa teplotách a tým narastajúcich požiadavkách na evapotranspiráciu.

Nedostatok vody v pôde je stresovým faktorom negatívne ovplyvňujúcim výšku úrod. Napriek tomu, že žiadna oblasť na Slovensku nespĺňa podmienky pre označenie ako suchá, pokrytie vlahovej potreby plodín je v južných regiónoch nepostačujúce. V suchých rokoch sa pokrytie vlahovej potreby plodín pestovaných v letnom období pohybuje pod úrovňou 40% a počet dní s vodným stresom môže prekročiť 90 (Takáč & Ilavská, 2021).

Sucho je prechodná odchýlka, čím sa líši od aridity, ktorá predstavuje trvalú vlastnosť klímy. V našej zemepisnej šírke je prirodzeným prejavom klímy. Vyskytuje sa s rôznou frekvenciou a prvotnou príčinou sucha je nedostatok zrážok v určitom období. Jeho účinky sa kumulujú postupne. S narastajúcou dĺžkou suchého obdobia sa jeho dopady zosilňujú. Nástup, trvanie a intenzita sucha akceleruje aj rast teploty prostredia, ktorá vplýva na straty vody výparom. Intenzita a trvanie sucha sú do značnej miery ovplyvnené aj vlastnosťami prírodného prostredia, hlavne hydrofyzikálnymi vlastnosťami pôdy (Takáč, 2015).

Suchá sú viacozmernými priestorovo-časovými udalosťami. Vzhľadom na komplexnosť problému a jeho viaceré aspekty, neexistuje ani žiadna univerzálna všeobecne prijímaná definícia sucha a neexistujú ani jednotné kritériá na kvantifikáciu sucha. Podľa meteorologického slovníka (Sobišek *et al.*, 1993) rozlišujeme meteorologické, agronomické, hydrologické a fyziologické sucho. Meteorologické sucho je definované najčastejšie časovými a priestorovými zrážkovými pomermi. Hodnotí sa obyčajne na základe odchýlky zrážkových úhrnov od normálu na danom mieste za určité obdobie. Bolo definované množstvo klimatických indexov zahrňujúcich okrem zrážkových úhrnov aj iné meteorologické prvky, a to hlavne teplotu vzduchu a výpar. Meteorologické sucho býva v letnom období viazané na anticyklonálne situácie s vysokými teplotami a tým aj vysokou evapotranspiráciou. Hydrologické sucho je dôsledkom nedostatku zrážok a prejavuje sa poklesom zdrojov povrchových a podzemných vôd vzhľadom na dlhodobé normály. Agronomické sucho vyjadruje nedostatok vody v pôde vyvolaný meteorologickým suchom, teda nedostatkom atmosférických zrážok. Fyziologické sucho znamená nedostatok vody z hľadiska potrieb jednotlivých druhov rastlín. Vo vzťahu k rastlinnej výrobe sa pod pojmom sucho spravidla rozumie taký stav, kedy plodiny trpia nedostatkom vody. Sucho sa líši svojou závažnosťou, trvaním a rozsahom postihnutého územia.

Analýzy pomocou indexov sucha naznačujú výrazné zvýšenie výskytu sucha v strednej Európe (Trnka *et al.*, 2015). Výsledky simulácií modelom DAISY potvrdili trend poklesu priemernej zásoby vody v pôde a postupného predlžovania trvania obdobia s vlhkosťou pôdy v rozmedzí semiaridného a aridného intervalu na Žitnom ostrove (Takáč, 1999). Podľa scenárov zmeny klímy aplikovaných pre územie Slovenska sa prehĺbi nedostatok vody v pôde vo vegetačnom období (Takáč, 2001). V teplej a suchej Podunajskej nížine bude produkčný potenciál vo zvýšenej miere limitovaný klesajúcou dostupnosťou vody pre plodiny a horúčavami (Eitzinger *et al.*, 2013).

Cieľom príspevku je vyhodnotiť výskyt sucha v poľnohospodárskych oblastiach Slovenska v období 1961 – 2020 podľa rôznych agroklimatických indexov a na základe simulácií vodného režimu pôdy podľa odchýlky zásob využiteľnej vody v pôde od dlhodobého priemeru.



## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Sucho je zvyčajne hodnotené podľa klimatických kritérií. Najčastejším kritériom používaným je percento normálu zrážkových úhrnov. V zahraničí sa na účely hodnotenia zrážkových úhrnov využíva Štandardizovaný index zrážok *SPI* (McKee *et al.*, 1993). *SPI* je definovaný ako

$$SPI = \frac{Z - \bar{Z}}{\sigma}$$

kde  $Z$  je úhrn zrážok [mm] za hodnotené obdobie, je dlhodobý priemerný úhrn zrážok [mm] za dané obdobie a je smerodajná odchýlka úhrnov zrážok za dané obdobie. Štandardizované hodnoty pre *SPI* sú:  $> 2$  pre mimoriadne vlhké obdobie,  $1,5 - 1,99$  pre veľmi vlhké obdobie,  $1 - 1,49$  pre vlhké obdobie,  $-0,99 - 0,99$  pre normálne obdobie,  $-1 - -1,49$  pre suché obdobie,  $-1,5 - -1,99$  pre veľmi suché obdobie a  $< -2$  pre mimoriadne suché obdobie. Výhodou *SPI* je, že umožňuje hodnotiť anomálie v zrážkových úhrnoch za rôzne dlhé časové úseky (rok, polrok, štvrtrok, mesiac).

Hodnotenie zrážkových úhrnov nie je postačujúcim ukazovateľom vlhových pomerov. Determinujúcimi faktormi vodnej bilancie poľnohospodárskej krajiny sú atmosférické zrážky a evapotranspirácia. Preto pre hodnotenia výskytu sucha sú uprednostňované klimatické indexy, ktoré zahrňujú okrem zrážok ako príjmovej zložky aj evapotranspiráciu ako stratovú zložku. Klimatická vodná bilancia je definovaná ako rozdiel medzi úhrnmi atmosférických zrážok  $Z$  a potenciálnej evapotranspirácie  $ET_0$

$$KVB = Z - ET_0$$

V Európskej únii sa na vyčlenenie znevýhodnených poľnohospodárskych území v dôsledku sucha využíva index aridity. Index aridity  $AI_{UNEP}$  je definovaný ako pomer ročných zrážkových úhrnov  $Z$  a potenciálnej evapotranspirácie  $ET_0$  (UNEP, 1997):

$$AI_{UNEP} = \frac{Z}{ET_0}$$

Hodnoty  $AI_{UNEP}$  menšie ako 0,05 reprezentujú hyperaridnú oblasť, 0,05 – 0,2 aridnú oblasť, 0,2 – 0,5 semiaridnú oblasť, 0,5 – 0,65 suchú subhumidnú oblasť, 0,65 – 1,0 vlhkú subhumidnú oblasť a hodnoty nad 1,0 humidnú oblasť.

Hodnotenie vodného režimu pôdy bolo založené na numerických simuláciách agroekologickým modelom DAISY. Model DAISY simuluje tie časti vodného, uhlíkového a dusíkového cyklu, ktoré súvisia s poľnohospodárskymi pôdnymi systémami. Model DAISY na základe informácie o spôsobe hospodárenia a údajov o počasi simuluje rast plodiny, vodný režim, tepelný režim, bilanciú organickej hmoty a dynamiku dusíka v poľnohospodárskych pôdach. Submodel vodnej bilancie sa skladá z bilancie vody na povrchu a z bilancie pôdnej vody. V rámci vody na povrchu sú modelované procesy akumulácia a topenie snehovej pokrývky, intercepcia, výpar z porastu, infiltrácia, výtopy a povrchový odtok. Vodný režim pôdy je zložený z prúdenia vody v pôdnej matici a v makropóroch. Tiež zahrňuje odber vody koreňmi rastlín (Hansen *et al.*, 1990, Abrahamsen a Hansen, 2000, Hansen, 2000). Modelovanie prúdenia vody vo zvrstvenom pôdnom profile so zahrnutím účinku vegetácie je založené na numerickom riešení Richardsovej rovnice (Richards, 1931). Plodinové parametre modelu boli pre slovenské podmienky optimalizované a validované na základe experimentálnych údajov poľných pokusov (Takáč, 1994, Takáč a Šiška, 2011, Takáč *et al.*, 2018).

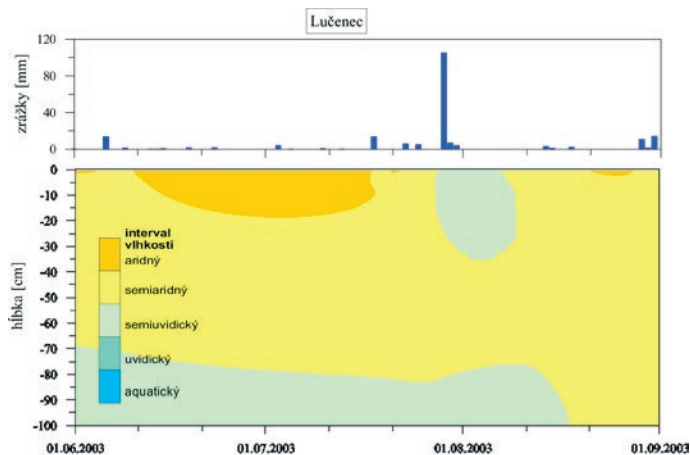
## VÝSLEDKY A DISKUSIA

*Štandardizovaný index zrážok*

Podľa ročných hodnôt *SPI* bol najsuchším rokom uvažovaného obdobia na území Slovenska rok 2003. V roku 2003 sa podľa ročných hodnôt *SPI* vyskytlo sucho na 82 % hodnotených staníc, pričom na 55 % bol rok veľmi suchý a na 21 % staníc mimoriadne. Prakticky počas celého roku 2003 trval deficit zrážok. Mesačné hodnoty *SPI* boli na všetkých meteorologických staniaciach prevažne záporné. Nadpriemerné úhrny zrážok sa vyskytli na väčšine územia v októbri, na východe v septembri. Mimoriadne sucho sa vyskytlo aj v roku 1961 na Východoslovenskej nížine, v roku 2011 na juhu Podunajskej nížiny, v roku 1971 v Juhoslovenskej kotline a v menšom regionálnom rozsahu aj v rokoch 1973, 1978, 1989 a 2017.

Z hľadiska dopadov na rastlinnú výrobu sú významné epizódy sucha vo vegetačnom období, pričom je dôležité, najmä v ktorej vývojovej fáze plodiny sa epizóda sucha vyskytne. Aj krátkodobý nedostatok vody v kritickej vývojovej fáze plodiny môže výrazne znížiť jej úrodu. Podľa hodnôt *SPI* za teplý polrok bola najväčšia časť územia postihnutá suchom v rokoch 1962, 1992, 2000 a 2003. Približne polovica hodnotených lokalít bola zasiahnutá suchom v teplom polroku aj v rokoch 1961 a 1993, pričom sucho v letnom polroku 1961 bolo mimoriadne na Východoslovenskej nížine.

Výskyt sucha je okrem množstva zrážok determinovaný aj ich rozdelením v priebehu roka. Výdatné prehánky, ktoré sa najčastejšie vyskytujú v letných mesiacoch, môžu ovplyvniť hodnoty klimatických indexov ako je *SPI* tak, že ich výsledná hodnota nevystihuje skutočný dlhotrvajúci ráz počasia. Najvyššia mesačná hodnota *SPI* v roku 2003 bola zaznamenaná v júli v Lučenci, a to 3,86, čo znamená mimoriadne vlhký mesiac. Celkovo napršalo v tomto mesiaci 146.1 mm, z toho až 105 mm spadlo 29. júla, ďalších 11 mm napršalo ešte 30. a 31. júla, teda na konci mesiaca. Táto epizóda významne ovplyvnila nielen mesačnú hodnotu *SPI*, ale aj hodnoty *SPI* za dlhšie obdobia, keď ani leto a ani letný polrok roku 2003 neboli v Lučenci podľa hodnôt *SPI* suché.



Obr. 1 Denné úhrny zrážok a priebeh využiteľnej zásoby vody v pôde v lete v roku 2003 v Lučenci (Takáč, 2015)

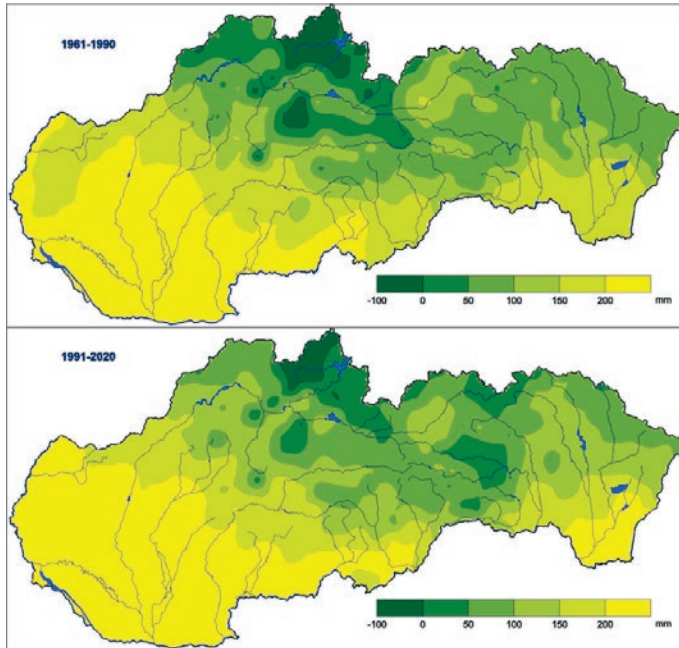
Podľa simulácií na flóvitohlinitej luvizemi s porastom kukurice (obr. 1) bola už od jari vlhkosť pôdy pod hodnotou bodu zníženej dostupnosti. V orničnom horizonte približne do hĺbky 15 cm na konci prvej dekády júna klesla vlhkosť pôdy podľa ekologickej klasifikácie vodného režimu pôdy (Kutílek, 1978) až do aridného intervalu. Zóna s dostatkom vody pre plodiny bola začiatkom júna v hĺbke 70 cm a počas leta postupne klesla pod 1 m. Po mimoriadne vysokom zrážkovom úhrne 29. júla sa pôda prevlhčila do hĺbky necelých 40 cm a počas nasledujúcich 10 dní sa vlhkosť pôdy v orničnom horizonte udržiavala v semiuvidickom intervale, teda nad bodom zníženej dostupnosti. Po 10 dňoch vlhkosť pôdy opäť poklesla do semiaridného intervalu.

Vyššie uvedený príklad dokumentuje, že indexy založené len na údajoch o zrážkach nedávajú dostatočne presnú informáciu o výskyte a trvaní sucha. Ako bolo ukázané, príčinou sú lokálne extrémne zrážkové epizódy vyskytujúce sa hlavne v letných mesiacoch, ktoré v skutočnosti dlhotrvajúce sucho neeliminujú, ale v hodnotách klimatických indexov sa prejavia výrazne. Analýzy založené len na údajoch o zrážkach môžu byť v takýchto prípadoch skreslené, nakoľko dopad nedostatku vody sa prejavuje v dlhodobom časovom horizonte.

### *Klimatická vodná bilancia*

Pre hodnotenie výskytu sucha sú uprednostňované klimatické indexy, ktoré zahrňujú okrem zrážok ako príjmovej zložky aj evapotranspiráciu ako stratovú zložku. Na juhu Slovenska potenciálna evapotranspirácia  $ET_0$  prevláda nad dotáciou atmosférickými zrážkami, teda prevláda výparný režim. Klimatická vodná bilancia je v nížinných regiónoch Slovenska záporná. Najnižšie priemerné hodnoty dosahuje klimatická vodná bilancia na juhu Podunajskej nížiny. Záporná klimatická vodná bilancia tu prevažuje od marca do októbra, od novembra do februára zrážky prevyšujú potenciálnu evapotranspiráciu.

V dôsledku zvýšených úhrnov potenciálnej evapotranspirácie sa v období 1991-2020 v porovnaní s obdobím 1961-1990 prehĺbila negatívna klimatická vodná bilancia. Deficit klimatickej vodnej bilancie nad 200 mm vo veľkom vegetačnom období charakterizovanom priemernou dennou teplotou  $>10^{\circ}\text{C}$  sa v období 1961-1990 vyskytoval v západnej časti Záhorskej nížiny, na Podunajskej nížine a v Ipelskej kotline na juhu stredného Slovenska. V období 1991-2020 sa rozšírila oblasť s deficitom klimatickej vodnej bilancie nad 200 mm na celú Záhorskú nížinu a na Východoslovenskú nížinu (obr. 2). Z porovnania priemernej hodnoty deficitu vodnej bilancie v období 1961-1990 a v období 1991-2020 vyplýva, že záporná vodná bilancia sa v hlavnom vegetačnom období prehĺbila o 10%.



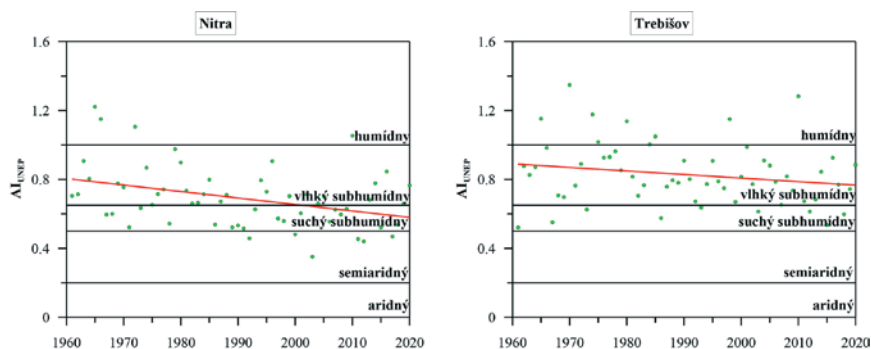
Obr. 2 Priemerný deficit klimatickej vodnej bilancie v období 1961 – 1990 a 1991 – 2020 (Takáč a Sobocká, 2022).

### Index aridity

Dlhodobé hodnoty  $AI_{UNEP}$  za obdobie 1961 – 1990 zaraďujú južné oblasti Slovenska do vlhkej subhumídnej oblasti, zvyšok územia Slovenska patrí do humídnej oblasti. Hodnoty  $AI_{UNEP}$  za obdobie 1991 – 2020 naznačujú trend vysušovania územia (tab. 1). Podobne ako podľa hodnôt  $SPI$  a klimatologickej vodnej bilancie, aj podľa hodnôt  $AI_{UNEP}$  bol v období 1961-2020 najsuchším rokom na území Slovenska rok 2003, keď hodnoty  $AI_{UNEP}$  na západnom Slovensku klesli na hodnoty zaraďujúce územie do semiaridnej oblasti. Na juhu stredného a východného Slovenska boli v roku 2003 hodnoty  $AI_{UNEP}$  na úrovni typickej pre suchú subhumídnu oblasť. Hodnoty  $AI_{UNEP}$  zodpovedajúce semiaridnej oblasti boli na časti územia, predovšetkým na Podunajskej nížine, vypočítané aj v rokoch 1983, 1990, 2000, 2011, 2012 a 2017. Kým v období 1961-1990 na Podunajskej nížine sa hodnoty  $AI_{UNEP}$  najčastejšie vyskytovali vo vlhkom subhumídnom intervale, v období 1991-2020 na Podunajskej nížine už prevládala suchý subhumídny interval a raz za 5 rokov klesli hodnoty  $AI_{UNEP}$  do semiaridného intervalu. Na Východoslovenskej nížine sa počas celého hodnoteného obdobia v semiaridnom intervale nevyskytli ani raz (obr. 3).

**Tab. 1** Priemerné hodnoty  $AI_{UNEP}$  za obdobia 1961 - 1990 a 1991 - 2020 a za jednotlivé roky v období 1990-2010 na vybraných meteorologických stanicách

Obdobie	Kuchyňa	Bratislava	Hurbanovo	Nitra	Lučenec	Trebišov	Michalovce
1961 – 1970	0.9977	0.8748	0.7230	0.8225	0.9298	0.8634	0.9885
1971 – 1980	0.8869	0.7231	0.6663	0.7654	0.9042	0.9353	1.0737
1981 – 1990	0.8212	0.6726	0.6265	0.6544	0.7403	0.8213	0.9754
<b>1961 – 1990</b>	<b>0.9053</b>	<b>0.7568</b>	<b>0.6719</b>	<b>0.7475</b>	<b>0.8581</b>	<b>0.8733</b>	<b>1.0125</b>
1991 – 2000	0.8613	0.6854	0.6819	0.6343	0.8309	0.8038	0.9184
2001 – 2010	0.8547	0.6190	0.7044	0.6487	0.8807	0.8481	1.0026
2011 – 2020	0.7766	0.5744	0.6431	0.6157	0.7639	0.7267	0.8740
<b>1991 – 2020</b>	<b>0.8308</b>	<b>0.6216</b>	<b>0.6765</b>	<b>0.6329</b>	<b>0.8252</b>	<b>0.7929</b>	<b>0.9317</b>



**Obr. 3** Hodnoty  $AI_{UNEP}$  v oblasti Nitry a Trebišova v období 1961 – 2020

### Zásoba využiteľnej vody v pôde

Všeobecným nedostatkom väčšiny klimatických indexov hodnotiacich sucho je, že nekvantifikujú skutočný deficit vody vplyvom rozdielnych retenčných vlastností pôd a neodrážajú citlivosť plodiny na nedostatok vody. Problematický je aj časový krok použitý na výpočet klimatických indexov. Klimatické indexy, ktoré využívajú len ročné alebo mesačné údaje, neumožňujú stanoviť ani začiatok a ani trvanie sucha dostatočne presne.

Z hľadiska dopadov na pestované plodiny je rozhodujúce trvanie obdobia s vlhkosťou pôdy v koreňovej zóne pod 50 % využiteľnej vodnej kapacity (VVK) v kritických vývojových fázach pestovaných plodín. Podľa matematických simulácií dochádza na Podunajskej a Záhorskej nížine k poklesu pôdnej vlhkosti pod hranicu 50 % VVK už v priebehu júna, na juhu stredného a východného Slovenska v júli. V niektorých rokoch môže tento stav nastať už začiatkom jari, prípadne môže následkom nedostatočných zrážkových úhrnov v jesenných a zimných mesiacoch pretrvávať aj počas jesene a zimy.

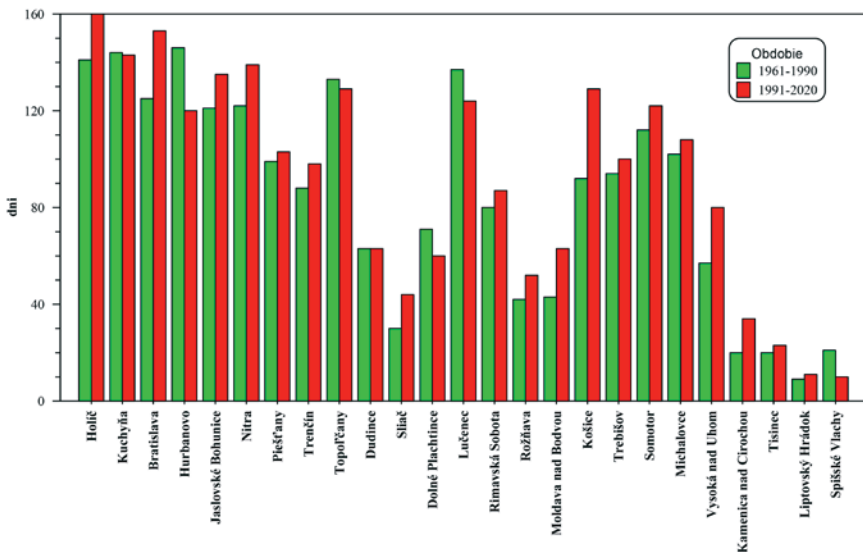
**Tab. 2** Priemerný počet dní v roku so zásobou vody v pôde VVK<50% v pôdnych horizontoch 0 – 30 cm a 0-100 cm v obdobiach 1961 – 1990 a 1991 – 2020 na vybraných lokalitách

Lokalita	1961 – 1990		1991 – 2020	
	0–30 cm	0–100 cm	0–30 cm	0–100 cm
Kuchyňa	165	170	163	188
Stupava	154	141	153	140
Myjava	106	49	123	64
Holíč	204	167	205	181
Bratislava	168	147	183	171
Hurbanovo	177	175	159	158
Žihárec	148	133	133	121
Podhájska	187	186	167	168
Jaslovské Bohunice	159	135	171	151
Piešťany	150	110	151	115
Nitra	157	137	168	155
Trenčín	162	89	162	99
Beluša	48	19	85	50
Topoľčany	181	155	174	153
Dudince	138	63	125	63
Žiar nad Hronom	75	39	110	79
Sliač	60	30	82	44
Dolné Plachtince	142	71	125	60
Lučenec	178	155	168	152
Rimavská Sobota	121	80	127	87
Rožňava	76	42	83	52
Moldava nad Bodvou	74	43	100	63
Košice	128	92	157	129
Somotor	130	120	136	127
Michalovce	122	106	124	112
Trebišov	115	97	118	102
Vysoká nad Uhom	108	58	128	80
Prešov	116	87	95	59
Tisinec	50	20	50	23
Kamenica nad Cirochou	50	20	64	35
Medzilaborce	27	5	33	2
Liptovský Hrádok	30	9	33	11
Spišské Vlachy	47	21	36	10

Priemerný počet dní v roku so zásobou využiteľnej vody v pôde <50% VVK v pôdných horizontoch 0–30 cm a 0–100 cm na vybraných lokalitách v obdobiach 1961–1990 a 1991–2020 je uvedený v tabuľke 2. Najvyšší počet dní so zásobou vody v pôde pod 50% bol zaznamenaný na Záhorskej nížine a na juhovýchode Podunajskej nížiny. V období 1991–2020 v porovnaní s obdobím 1961–1990 došlo k najvýraznejšiemu zvýšeniu počtu dní so zásobou vody v pôde pod 50% na Záhorskej nížine, západe a severe Podunajskej nížiny, na strednom Považí, na strednom Pohroní, v Košickej kotline a vo východnej časti Východoslovenskej nížiny. Na druhej strane, k výraznému poklesu počtu dní so zásobou vody v pôde pod 50% došlo na juhovýchode Podunajskej nížiny, v Ipelskej a Lučeneckej kotline, na Šariši a na Spiši. Toto zníženie počtu dní so zásobou vody v pôde pod 50% je dôsledok zvýšených zrážkových úhrnov v dôsledku zmeny cirkulačných pomerov, keď na úkor zonálnej cirkulácie vzduchu sa u nás v posledných rokoch viac uplatňuje meridionálna cirkulácia vzduchu.

Zmeny v ročnom chode zrážok sa prejavili aj na ročnom chode zásob vody v pôde. Na juhozápade Podunajskej nížiny sa v období 1991–2020 v porovnaní s obdobím 1961–1990 znížili zásoby pôdnej vody v jarom období o 12%, v letnom období o 8%, v zimnom období o 7% a v jesennom období o menej ako 1%. Na juhovýchode Podunajskej nížiny poklesli zásoby vody v pôde na jar o menej ako 2%, kým v ostatných ročných obdobiach vzrástli, najviac na jeseň, a to o 7%.

Zásoba vody v pôde vykazuje okrem priestorovej variability aj značnú časovú variabilitu. Zásoba vody v pôde medziročne výrazne kolíše. Najvyššia priemerná ročná zásoba vody v pôde bola na celom území Slovenska zaznamenaná v rokoch 1965 a 2010. Na druhej strane, najmenšia priemerná ročná zásoba využiteľnej vody v pôde bola simulovaná na celom území v rokoch 1973, 1990, 2012 a 2017. V západnej polovici Slovenska boli mimoriadne suché aj roky 1978 a 1989.



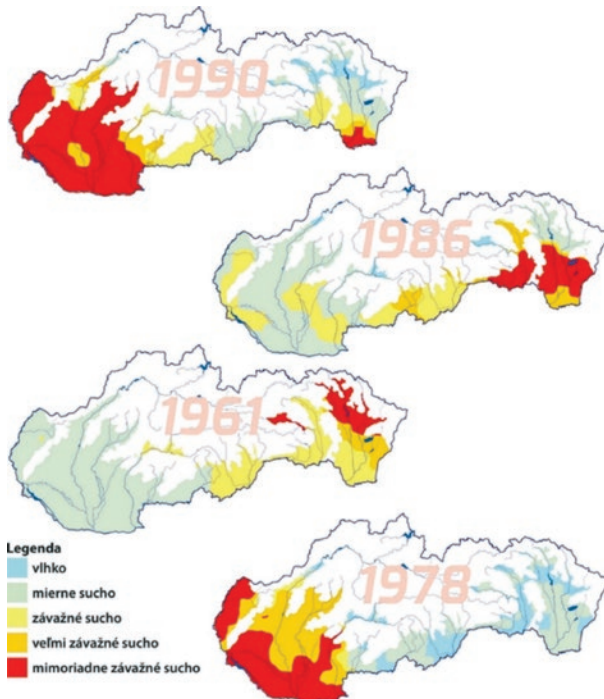
Obr. 4 Priemerný počet dní s vlhkosťou pôdy v aridnom a semiaridnom intervale v období 1961–1990 a 1991–2020 na vybraných lokalitách

Podľa simulovaných hodnôt vodného potenciálu pôdy sa v pôdnom horizonte 0-30 cm vyskytovala v Hurbanove vlhkosť pôdy v aridnom intervale takmer každý rok, v Michalovciach na Východoslovenskej nížine v štyroch z piatich rokov. V pôdnom horizonte 0-100 cm v Hurbanove sa vyskytovala vlhkosť pôdy v aridnom intervale v dvoch z troch rokov, v Michalovciach len 74 dní v roku 2015.

V pôdnom horizonte 0–30 cm dominuje v Hurbanove, aj v Michalovciach uvidický (v Hurbanove priemerne 108 dní, v Michalovciach 146 dní) a semiuvidický interval (v Hurbanove priemerne 108 dní, v Michalovciach 118 dní) vlhkosti pôdy. Rovnako v pôdnom horizonte 0–100 cm dominuje v Michalovciach uvidický (133 dní) a semiuvidický interval (128 dní) vlhkosti pôdy. V Hurbanove v pôdnom horizonte 0–100 cm prevláda subuvidický (141 dní) a semiaridný interval (130 dní) vlhkosti pôdy.

Najsuchším rokom v Hurbanove bol rok 1990, keď vlhkosť pôdy v aridnom intervale v horizonte 0–30 cm zotrvala 179 dní a v horizonte 0–100 cm 129 dní. Podľa tohto kritéria boli v Michalovciach najsuchšie roky 2018 a 2011, keď vlhkosť pôdy v aridnom intervale bola v horizonte 0–30 cm 111, resp. 103 dní.

Z hľadiska ročného chodu, v zimnom období prevláda semiuvidický a uvidický interval, v letnom polroku prevláda semiaridný a aridný interval. Počet dní, keď sa zásoba vody v pôde vyskytuje v semiaridnom a aridnom intervale, teda pod bodom zníženej dostupnosti, bol v období 1961–1990 najvyšší na Záhorskej nížine a na juhovýchode Po-



Obr. 5 Regionálny rozsah sucha vo vybraných rokoch.



dunajskej nížiny, a to viac ako 140 dní (obr. 4). V období 1991 – 2020 sa vyskytol najvyšší počet dní s vlhkosťou pôdy v semiaridnom a aridnom intervale na západe Záhorskej nížiny a na juhozápade Podunajskej nížiny, a to viac ako 150 dní. Ako vidieť na obr. 4, trendy v jednotlivých regiónoch sú rozdielne. K najväčšiemu nárastu počtu dní s vlhkosťou pôdy v semiaridnom a aridnom intervale v období 1991 – 2020 v porovnaní s obdobím 1961 – 1990 došlo na západe Záhorskej nížiny (19 dní), juhozápade Podunajskej nížiny (28 dní), severe Podunajskej nížiny (14 – 17 dní), v Košickej kotline (20 – 37 dní) a na východe Východoslovenskej nížiny (23 dní). Naopak, k poklesu počtu dní s vlhkosťou pôdy v semiaridnom a aridnom intervale v období 1991 – 2020 v porovnaní s obdobím 1961 – 1990 došlo na juhovýchode Podunajskej nížiny (26 dní), v Ipelškej kotline (11 dní), Lučeneckej kotline (13 dní) a na Spiši (11 dní).

Na západnom Slovensku bol podľa odchýlky od dlhodobých hodnôt zásoby využiteľnej vody v pôde ako najsuchší rok identifikovaný rok 1990. Rok 1986 bol najsuchším rokom na juhu východného Slovenska a rok 1961 na severovýchode Slovenska. Rok 1978 bol druhý najsuchší rok na západnom Slovensku (obr. 5).

Mimoriadnemu suchu v roku 1990 predchádzalo na západnom Slovensku stredne silné až silné suchu v roku 1989, ktoré na Záhorskej nížine a juhozápade Podunajskej nížiny súvisle pokračovalo do roku 1990, kým inde bolo prerušené na rôzne dlhé obdobia. Na niektorých miestach bolo suchu v predchádzajúcom roku 1989 závažnejšie ako v roku 1990 (Myjava, Piešťany a Lučenec).

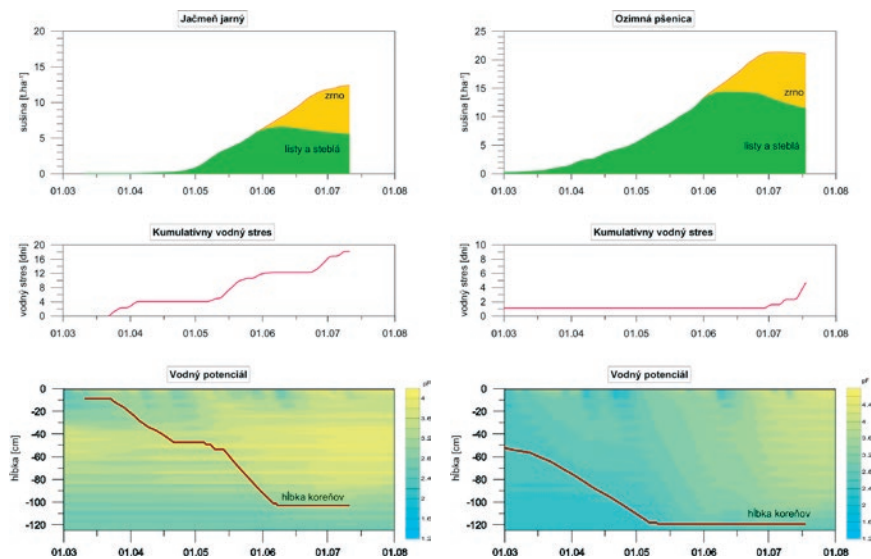
**Tab. 3** Priemerný počet dní s VVK<50% na Podunajskej nížine podľa pôdnych typov (CM – černoze, CMc – černoze čiernicová, CA – čiernica, FM – fluvizem, HM – hnedozem)

Pôdny typ	Hurbanovo		Bratislava		Nitra		Jasl. Bohunice	
	1961-1990	1991-2020	1961-1990	1991-2020	1961-1990	1991-2020	1961-1990	1991-2020
CM	195	170	154	170	165	178	162	160
CMc	78	73	151	164	105	124	99	102
CA	72	70	129	139	72	97	83	90
FM	114	104	90	109	119	137	124	125
HM	186	161	150	160	162	173	157	152

Zásoby vody v pôde a tým aj výskyt sucha ovplyvňuje aj heterogenita pôdneho krytu, ako aj prítomnosť hladiny podzemnej vody. Počet dní s vlhkosťou pôdy nižšou ako 50 % VVK sa pohybuje v širokom intervale. Najmenší počet dní s vlhkosťou pôdy pod 50 % VVK na Podunajskej nížine bol vypočítaný pre oblasti s prítomnosťou hladiny podzemnej vody na dolnom Žitnom ostrove a v blízkosti vodných tokov. Najvyšší počet dní so zásobou využiteľnej pôdnej vody na Podunajskej nížine bol simulovaný pre hnedozeme a černoze, najnižší pre čiernice (tab. 3). S výnimkou juhovýchodu nížiny (Hurbanovo) a černoze a hnedozemí na severozápade nížiny (Jaslovské Bohunice) sa v období 1991–2020 v porovnaní s obdobím 1961–1990 zvýšil počet dní so zásobou vody v pôde pod 50 % VVK, a to v závislosti od plodiny a pôdneho typu, v priemere o 1 až 19 dní.

Dopady sucha na rast plodín a úrodu okrem klimatických a pôdnych pomerov sú závislé aj na samotnej plodine a oševnom postupe. Vzťahy medzi plodinou, klímou, pôdou

a vodou sú komplexné s mnohými biologickými, fyziologickými, fyzikálnymi a chemickými procesmi. Následky sucha na úrodu môžu byť v jednotlivých rokoch na plodiny rozdielne. Ako vidieť na obr. 6, kým korene ozimnej pšenice zasiatej na jeseň v jarnom období čerpajú vodu z väčších hĺbok a plodina netrpí nedostatkom vody, v prípade jarného jačmeňa sa vodný stres začína prejavovať krátko po vzídení. Rozdiely v jarnej zásobe vody v pôde boli ovplyvnené jednak nedostatkom zrážok v zimnom období, jednak aj predplodinou. V období od septembra 1989 do marca 1990 spadlo len 132 mm zrážok, čo bolo menej ako 50 % normálu. V prípade jarného jačmeňa bola predplodinou kukurica, ktorá odčerpala z pôdneho profilu v predchádzajúcom roku viac vody ako jarný jačmeň, ktorý bol predplodinou pred ozimnou pšenicom.



Obr. 6 Vývoj jarného jačmeňa a ozimnej pšenice na hnedozemi v lokalite Nitra v roku 1990

## ZÁVER

Napriek tomu, že žiadna oblasť na Slovensku nespĺňa podmienky pre označenie ako suchá, pokrytie vlahovej potreby plodín je v južných regiónoch nepostačujúce, pričom nedostatok pôdnej vody je hlavným limitujúcim faktorom poľnohospodárskej produkcie hlavne na Podunajskej nížine. Trvanie a závažnosť sucha sú v jednotlivých rokoch rozdielne. S výnimkou rokov 1965 a 2010 sa vyskytlo sucho každý rok aspoň na časti územia Slovenska. Podľa agroklimatických indexov bol najsuchším rokom rok 2003, podľa obsahu vody v pôde bol najsuchším rok 1990. Vykonalé analýzy poukázali na nárast závažnosti sucha v posledných desaťročiach. V suchých rokoch sa pokrytie vlahovej potreby plodín pestovaných v letnom období pohybuje pod úrovňou 30% a počet dní s vodným stresom môže prekročiť 90.

## POĎAKOVANIE

*Tento príspevok vznikol vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Udržateľné systémy inteligentného farmárstva zohľadňujúce výzvy budúcnosti 313011W112, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.*

## Kontaktná adresa

RNDr. Jozef Takáč, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav pôdozvedectva a ochrany pôdy, Trenčianska 55, 821 09 Bratislava

## LITERATÚRA

- Abrahamsen, P., Hansen, S. 2000. DAISY: An Open Soil, Crop, Atmosphere System Model. In *Environmental Modelling & Software*, vol. 15, 2000, No. 3, p. 313-330. ISSN 1364-8152.
- Eitzinger, J., Trnka, M., Semerádová, D., Thaler, S., Svobodová, E., Hlavinka, P., Šiška, B., Takáč, J., Malatinská, L., Nováková, M., Dubrovský, M., Žalud, Z. 2013. Regional climate change impacts on agricultural crop production in Central and Eastern Europe – hotspots, regional differences and common trends. *The Journal of Agricultural Science*, Vol.: 151 (6), pp. 782 – 812.
- Hansen, S. 2000. *DAISY, a Flexible Soil – Plant – Atmosphere System Model. Equation Section 1*. Copenhagen: The Royal Veterinary and Agricultural University, 2000, p. 1–47. ISBN 87-503-8790-1.
- Hansen, S., Jensen, H. E., Nielsen, N. E., Svendsen, H. 1990. *DAISY – A Soil Plant System Model. Danish Simulation Model for Transformation and Transport of Energy and Matter in the Soil – Plant – Atmosphere System*. Copenhagen: National Agency for Environmental Protection, 1990. 272 p. ISBN 87-503-8790-1.
- Kutílek, M. 1978. *Vodohospodárska pedológia*. Praha: SNTL/ALFA, 1978. 296 s.
- Mckee, T.b. – Doesken, N.j. – Kleist, J. 1993. The Relationship of Drought Frequency and Duration to Time Scales. In *Proceedings of the 8th Conference on Applied Climatology, January 17-22, American Meteorological Society, Anaheim CA, USA*. pp. 179–184.
- Ministry of the environment of the Slovak. 2017. *The 7<sup>th</sup> National Communication of the Slovak Republic on Climate Change under United Nations Framework Convention on Climate Change and Kyoto Protocol*. Bratislava. 228 pp.
- Richards, L.A. 1931. Capillary Conduction of Liquids through Porous Media. In *Physics*, vol. 1, no. 5, pp. 318–333.
- Sobíšek, B. et al. 1993. *Meteorologický slovník výkladový a terminologický*. ACADEMIA, MŽP ČR : Praha. 594 s. ISBN 80-85368-45-5.
- Takáč, J. 1994. Verifikácia modelu DAISY – Simulovanie úrod obilnín. *Vedecké práce VÚZH č. 21*, VÚZH Bratislava, s. 95-104.
- Takáč, J. 1999. Trends In Soil Water Regime In Model Conditions Of Žitný Ostrov. *Scientific Papers Of the Research Institute Of Irrigation Bratislava*, No. 24, VÚZH Bratislava: 189-201.
- Takáč, J. 2001. *Dôsledky zmeny klímy na bilanciu vody v poľnohospodárskej krajine*. Národný klimatický program SR 10/01, SHMÚ, Bratislava, s. 16 – 26. ISBN 80-88907-24-1.
- Takáč, J. 2015. *Sucho v poľnohospodárskej krajine*. NPPC – VÚPOP, Bratislava. 69 s. ISBN 978-80-8163-012-5.

- Takáč, J., Šiška, B. 2011. Kalibrácia a validácia modelu DAISY pre podmienky Slovenska. *Vedecké práce VÚPOP*, č. 33, Bratislava. 161-172. ISBN 978-80-89128-91-4.
- Takáč, J., Kotorová, D., Makovníková, J., Kováč, L. 2018. Validácia modelu DAISY v podmienkach Východoslovenskej nížiny. *Vedecké práce Výskumného ústavu pôdoznalectva a ochrany pôdy* č. 40, Výskumný ústav pôdoznalectva a ochrany pôdy Bratislava. 100-113. ISBN 978-80-8163-030-9.
- Takáč, J., Ilavská, B. 2021. Crop water sufficiency in Slovakia. In: *Pedosphere Research*, vol. 1, 2021, no. 1, pp. 20 – 39. NPPC – VÚPOP 2021. ISSN 2729–8728
- Takáč, J., Sobocká, J. 2022. Trends in the Soil Water Dynamics in the Period 1961-2020 in Agricultural Regions of Slovakia. In: *Pedosphere Research*, vol. 2, 2022, NPPC – VÚPOP 2021. ISSN 2729–8728.
- M. Trnka, R. Brázdil, J. Balek, D. Semerádová, P. Hlavinka, M. Možný, P. Štěpánek, P. Dobrovolský, P. Zahradníček, M. Dubrovský, J. Eitzinger, B. Fuchs, M. Svoboda, M. Hayes, Z. Žalud. 2015. Drivers of soil drying in the Czech Republic between 1961 and 2012. *Int J Climatol* 35: 2664–2675
- UNEP, 1997. *World Atlas of Desertification*. 2. ed. 182 pp. ISBN 340691662.



# Potravinárska sekcia



## Porovnanie spôsobov prípravy zákvasu na kvalitatívne parametre kvetovej medoviny

### Comparison of starter culture preparation methods on the qualitative parameters of floral mead

Štefan AILER<sup>2</sup>, Lucia BENEŠOVÁ<sup>1\*</sup>, Veronika ŠAVYOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre,  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

<sup>2</sup>Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

#### Abstract

We investigated the impact of the starter culture preparation method on the qualitative parameters of mead. We conducted a cold preparation of the starter culture, where the honey and water solution were not boiled before inoculation with yeast – variant 1. We also conducted a hot preparation of the starter culture, where the honey and water solution were boiled before inoculation with yeast – variant 2. The sugar content of the fermentation mixture was set to 23 Brix. Both variants fermented at a temperature of 18 °C. The fermentation process was monitored through regular physicochemical analyses using the FTIR method. We observed parameters such as total acids, ethanol content, sugars, and pH. Fermentation was concluded when the mead reached an ethanol content of over 12.5% by volume. Variant 1 fermented more dynamically, with a total duration of 79 days. Variant 2 fermented more slowly, with a total duration of 86 days. The results indicate impaired activity of the microflora in the case of exposing the starter culture to boiling. On the positive side, in variant 1, without exposure to boiling, there were no negative microbial processes from spontaneous microflora, particularly concerning the content of volatile acids (VA). The final mead in variant 2 (prepared hot) had lower VA values, at 0.99 g/l. Variant 1 contained 1.1 g/l VA, which is not a critical level and was within the maximum permissible value. The results suggest that with precise procedures, it is possible to produce mead using the cold method without negatively impacting qualitative parameters and with the potential to preserve valuable nutritional substances in the product.

**Keywords:** mead, method of production, quality parameters

#### ÚVOD

Medovina nebola len slovanským nápojom. Kvasené nápoje z medu sa konzumovali prakticky všade, kde človek začal med zbierať a skladovať. Med bol jediným koncentrovaným sladidlom relatívne bežne dostupným už v prehistorických dobách. Výroba medoviny môže prebiehať viacerými spôsobmi s použitím výrazne odlišných receptúr. Najbežnejší postup je rozpustenie medu vo vode, prípadne v ovocnej šťave. Podľa niektorých postupov sa tiež pridávajú aromatizujúce a ochucujúce zložky, väčšinou vo forme extrakcie bylín a korenia (Dupal, 2013). Pridanie peľu spomínajú Iglesias *et al.* (2014). Klasická „čistá medovina“ vzniká na báze kvasenia vodného roztoku medu. Medovina zahŕňa široké spektrum nápojov, ktoré síce majú spoločný základ (kvasený med), avšak svojím cha-

rakterom sa výrazne líšia a možno ich rovnako ťažko vzájomne porovnávať. Pre malý trhovú význam nápoja z medu nebola doposiaľ vykonaná žiadna komplexná štúdia týkajúca sa jeho prípravy (Gruna *et al.*, 2020). Postup je porovnateľný ako pri výrobe vína z hrozna. Vyrába sa ako alkoholický nápoj, s obsahom okolo 13–14 % obj. etanolu (Bellik a Igue-rouada, 2013). Na svetových súťažiach sa zvyčajne rozoznávajú iba najbežnejšie kategórie, a to medovina tradičná, korenená a ovocná. Všetky sa ďalej rozdeľujú podľa obsahu cukru na medovinu suchú a sladkú (Čermáková *et al.*, 2017). Základnou surovinou medoviny je med. Hodnota sušiny medu by nemala byť nižšia ako 78% pretože to ovplyvňuje trvanlivosť medu. Sušinu tvoria cukry, minerálne látky, bielkoviny (vrátane aminokyselín), enzýmy (fermenty), organické, anorganické kyseliny, aromatické látky, alkaloidy, farbivá, vitamíny, lipidy, materská kašička, suspendované látky, peľ (Čuboň *et al.*, 2021).

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Použili sme med kvetový, lokalita Kračúnovce, ročník 2022, obsah vody 17,2%. Zvoleným pomerom medu a prevarenej pitnej vody sme nastavili refrakciu zmesi na 23° Brix. Realizovali sme prípravu zákvasu za studena, kde roztok medu a vody neprešiel pred inokuláciou kvasinkami varom – variant 1 a prípravu zákvasu za tepla, kde roztok medu a vody prešiel pred inokuláciou kvasinkami varom – variant 2.

Postup variant 1: Zahriatie kvasnej zmesi na 36 °C na dobu 30 min. Pridanie 1 g/l kyseliny vínnej. Postup variant 2: Zahriatie kvasnej zmesi na bod varu. Počas zvyšovania teploty sme postupne odstraňovali bielkoviny v podobe peny, ktorá vznikala pri varení (trvanie 50 minút). Keď sa pena prestala tvoriť varili sme zmes ešte 5 min. Pridanie 1 g/l kyseliny vínnej. Po vychladnutí kvasných zmesí sme pre fermentáciu použili ušľachtilé kvasinky Schimansky Power a živnú soľ Mauriferm Plus. Kvasinky a živnú soľ sme pre zabezpečenie plynulej fermentácie pridávali v priebehu fermentácie 3 krát. Priebeh fermentácií sme sledovali fyzikálne – chemickými analýzami metódou FTIR.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kyselina octová (KO) je kvantitatívne a senzoricky najvýznamnejšou prchavou kyselinou produkovanou počas alkoholovej fermentácie. Predstavuje viac ako 90 % celkovej prchavej kyslosti (Pereira *et al.*, 2017). Maximálny povolený obsah KO v medovinách je 1,6 g/l (Vyhláška č. 30/2014 Z. z.). Hodnoty nad 1,2 g/l už môžeme považovať za kritické. Kyselina octová môže slúžiť ako parameter na kontrolu čistoty fermentácie, môže tiež poskytovať informácie o strese kvasiniek (Chitarrini *et al.*, 2020). Nižšie hodnoty KO v dokvasenej medovine mal variant 2 (za tepla), a to 0,99 g/l. Variant 1 obsahoval 1,09 g/l KO, čo nie je kritický obsah a bol v rámci najvyššej prípustnej hodnoty. Obsah alkoholu, bol vyšší vo variante 1, a to 13,0 % obj. Vo variante 2 mal hodnotu 12,7 % obj. Zrejme to bolo spôsobené sťažienami podmienkami činnosti mikrobiológie vo variante vystavenom bodu varu. Kvasná zmes obvykle neprekvasí na viac ako 13 % obj. etanolu a zvyškové cukry ostanú nesfermentované. Za normálnych podmienok sa pri 13,0 % obj. etanolu činnosť vínnych kvasiniek zastaví (Dupal, 2013). Kvasenie sa však môže tiež cielene prerušiť, aby sa získala medovina so sladkou charakteristikou a nižším obsahom etanolu (Simão *et al.*, 2021). Variant 2 obsahoval po stočení a zasírení medoviny viac celkových cukrov (35,60 g/l) ako variant 1 (23,13 g/l). Dynamickejšiu fermentáciu cukrov sme zistili vo variante 1 za studena.



**Tabuľka 1** Výsledky fyzikálno – chemických analýz kvasnej zmesi a piatich priebežných analýz fermentácie medovín (priemerná hodnota ± smerodajná odchýlka)

Zmes medu a vody pred kvasením:									
Dátum	Úprava	Fruktóza (g/l)	Glukóza (g/l)	Brix (°)	Hustota	Potenciálny alkohol (%)	Celkové kyseliny (g/l)	Celkové cukry (g/l)	
8. 4. 2024	za tepla	137,99 ± 0,52	118,76 ± 0,16	23,85 ± 0,02	1,10 ± 0,00	14,83 ± 0,06	1,71 ± 0,09	251,78 ± 0,22	
	za studena	133,55 ± 0,57	114,55 ± 0,15	23,24 ± 0,03	1,09 ± 0,00	13,61 ± 0,02	2,15 ± 0,02	243,03 ± 0,10	
Analýzy v priebehu fermentácie:									
Dátum	Úprava	Kyselina octová (g/l)	Etanol (%)	Densita	Fruktóza (g/l)	Glukóza (g/l)	Glycerol (g/l)	pH	Celkové cukry (g/l)
29. 4. 2024	za tepla	0,59 ± 0,02	3,50 ± 0,00	1,07 ± 0,00	97,70 ± 0,17	69,47 ± 0,12	3,53 ± 0,23	2,87 ± 0,02	173,63 ± 0,32
	za studena	0,65 ± 0,02	4,90 ± 0,00	1,06 ± 0,00	86,20 ± 0,35	55,80 ± 0,17	4,53 ± 0,06	2,90 ± 0,02	146,90 ± 0,35
14. 5. 2024	za tepla	0,72 ± 0,01	6,50 ± 0,00	1,05 ± 0,00	79,77 ± 0,06	48,97 ± 0,15	5,43 ± 0,12	2,78 ± 0,02	132,43 ± 0,21
	za studena	0,76 ± 0,02	8,50 ± 0,00	1,04 ± 0,00	61,43 ± 0,23	31,13 ± 0,15	6,63 ± 0,15	2,86 ± 0,03	95,50 ± 0,26
28. 5. 2024	za tepla	0,90 ± 0,03	9,00 ± 0,00	1,03 ± 0,00	56,97 ± 0,29	30,53 ± 0,12	7,20 ± 0,10	2,92 ± 0,01	90,13 ± 0,15
	za studena	0,89 ± 0,01	11,17 ± 0,06	1,01 ± 0,00	30,13 ± 0,06	15,63 ± 0,15	8,17 ± 0,12	3,06 ± 0,06	48,17 ± 0,06
28. 6. 2024	za tepla	0,80 ± 0,02	12,47 ± 0,06	1,01 ± 0,00	24,60 ± 0,17	15,80 ± 0,35	6,47 ± 0,23	3,20 ± 0,03	44,60 ± 0,50
	za studena	0,76 ± 0,03	13,30 ± 0,00	1,00 ± 0,00	7,77 ± 0,15	11,47 ± 0,35	7,20 ± 0,17	3,17 ± 0,01	23,37 ± 0,47
Analytické parametre medovín po zasírení a stočení z kvasnic:									
Dátum	Úprava	Kyselina octová (g/l)	Etanol (%)	Densita	Fruktóza (g/l)	Glukóza (g/l)	Glycerol (g/l)	pH	Celkové cukry (g/l)
9. 7. 2024	za tepla	0,99 ± 0,01	12,70 ± 0,00	1,01 ± 0,00	18,27 ± 0,15	11,47 ± 0,35	8,07 ± 0,12	2,67 ± 0,06	35,60 ± 0,46
	za studena	1,09 ± 0,11	13,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	8,70 ± 0,30	12,30 ± 0,20	8,47 ± 0,32	2,62 ± 0,01	23,13 ± 0,64

## ZÁVER

Antimikrobiálne vlastnosti medu majú veľký potenciál pre uplatnenie v medicíne, ako aj v potravinárstve. Med zlepšuje vstrebávanie liečiv, zvyšuje ich účinnosť a zároveň čistí organizmus pred škodlivými látkami. Je veľmi bohatý na bioaktívne zložky, ako sú flavonoidy, fenolové kyseliny, fenolové zlúčeniny, terpény a enzýmy. Je prevenciou viacerých chorôb a má zdraviu prospešné biologické funkcie. Med sa môže vyvinúť na silný neterapeutický liek. Zloženie a kvalita medu sú variabilné a závisia od rôznych faktorov najmä od botanického zdroja nektáru, geografickej polohy, sezónnych a klimatických podmienok, spôsobu spracovania a skladovania. Antimikrobiálne vlastnosti medu zamedzujú rast mnohých nežiaducich mikroorganizmov. Všetky pozitívne vlastnosti by sme mali preniesť aj do ďalších produktov z medu, teda i medoviny. Z našich výsledkov vyplýva, že pri precíznych postupoch je možné produkovať medovinu studenou cestou, bez negatívneho vplyvu na kvalitatívne parametre a s potenciálom zachovania cenných nutričných látok v produkte.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore projektu (VEGA 1/0676/22) “Blue-green infrastructure as a water policy tool in the process of adaptation to climate change”.

## Kontaktná adresa

Ing. Lucia Benešová, PhD., VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

## LITERATÚRA

- Bellik, Y., Iguerouada, M. 2013. In *Honey in the Food Industry*. CRC Press, 470 p. ISBN 9780429093784. Dostupné na doi: 10.1201/b15608-19
- Čermáková, T., Chlebo, R., Husáriková, M. 2017. In *Kniha o mede*. Eastone Books, 278 s. ISBN 798-80-8109-133-9.
- Čuboň, J., Haščík, P., Ducková, V., Pavelková, A. 2021. In *Hodnotenie a balenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu*. SPU 368 s. ISBN 978-80-552-2346-9.
- Dupal, L. 2013. In *Kniha o medovine*. 2. vyd. MAŤA, 216 s. ISBN 80-728-077-7.
- Gruna, B., Počuch, M., Přidal, A., Istibůrek, J. 2020. In *Včelářství svazek III*. Pracovní společnost nástavkových včelářů CZ, 193 s. ISBN 978-80-907079-3-1.
- Chitarrini, G., Debiasi, L., Stuffer, M., Ueberegger, E., Zehetner, E., Jaeger, H., Robatscher, P., Conterno, L. 2020. Volatile Profile of Mead Fermenting Blossom Honey and Honeydew Honey with or without *Ribes nigrum*. In *Molecule*. vol. 25, no. 8. ISSN 1420-3049. Dostupné na doi:10.3390/molecules25081818
- Iglesias, A., Pascoal, A., Choupina, A. B., Carvalho, C. A., Feás, X. 2014. Developments in the Fermentation Process and Quality Improvement Strategies for Mead Production. In *Molecules*. vol. 19, no. 8, pp. 12577-12590. ISSN 1420-3049. Dostupné na doi: 10.3390/molecules190812577
- Pereira, A. P., Oliveira, J. M., Mendes-Ferreira, A., Estevinho, L. M., Mendes-Faia, A. 2017. Mead and Other Fermented Beverages. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. pp. 407-434. ISBN 978-0-444-63666-9. Dostupné na doi: 10.1016/B978-0-444-63666-9.00014-5

Simão, L., da Silva Monteiro Wanderley, B. R., Vieira, M. P. T., da Silva Haas, I. C., de Mello Castanho Amboni, R. D., Fritzen-Freire, C. B. 2023. How Do Different Ingredients and Additives Affect the Production Steps and the Bioactive Potential of Mead? In *Food Technology & Biotechnology*. vol. 61, no. 2, pp. 179-190. ISSN 1334-2606. Dostupné na doi: 10.17113/ftb.61.02.23.7622

Vyhláška č. 30/2014 Zb. Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 31. januára 2014 o požiadavkách na nápoje.

## Hodnotenie prínosov a rizík rôznych spôsobov realizácie jablčno - mliečnej fermentácie v červenom víne

### Evaluation of the benefits and risks of different methods of conducting malolactic fermentation in red wine

Štefan AILER<sup>1</sup>, Martin JANÁS<sup>1</sup>, Lucia BENEŠOVÁ<sup>2\*</sup>, Marek MEDEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská  
poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

<sup>2</sup>VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre,  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

#### Abstract

This study examined various methods of malic acid biodegradation in red wines using malolactic fermentation (MLF) and their impact on qualitative parameters and the formation of undesirable acetic acid in wine. We investigated the effect of different inoculation methods of *Oenococcus oeni* bacteria on the content of lactic acid, acetic acid, malic acid, and pH values. Our results showed that early application of *O. oeni* culture is a comparable alternative to late inoculation in terms of the physicochemical parameters of the final product. The concentration of acetic acid at the end of MLF did not depend on the timing of inoculation, and the values were not statistically significantly different. The measured final concentration of acetic acid slightly exceeds the perception threshold (0.7 g/L) but is within the current legislation range for dry red wines (1.2 g/L) and does not negatively impact the quality of the final product. We recommend early inoculation of *O. oeni* culture and regular monitoring of acetic acid content during MLF to ensure microbiological stability and high wine quality.

**Keywords:** red wine, malolactic fermentation, malic acid, acetic acid, lactic acid, pH value

#### ÚVOD

Proces výroby vína (vinifikácia) zahŕňa dva fermentačné procesy: alkoholovú fermentáciu (AF) prostredníctvom kvasiniek a malolaktickú (jablčno-mliečnu) fermentáciu (MLF) uskutočňovanú baktériami mliečneho kvasenia (MB). MLF je vo vinárstve dôležitá ako biologická metóda odbúravania kyselín vo víne. Pri MLF dochádza prostredníctvom metabolickej aktivity MB k enzymatickému odbúrianiu dikarboxylovej kyseliny L-jablčnej na monokarboxylovú kyselinu L-mliečnu s jemnejšou a zaoblenejšou chuťou, za vzniku oxidu uhličitého. Kyselina mliečna je menej disociovanou kyselinou ako kyselina jablčná, preto MLF znižuje kyslosť vína, čo má pozitívny vplyv na kvalitu hlavne červených vín s vysokým obsahom trieslovín. Odbúranie kyseliny jablčnej a kyseliny citrónovej v priebehu MLF zároveň odstraňuje zdroje uhlíka pre výživu MB a tým prispieva k mikrobiálnej stabilite vína a zabráneniu možnému budúcemu neriadenému odbúravaniu kyselín vo fľašiach (Steidl a Renner, 2004; Pavloušek, 2011), čo má dôležitý význam pre výslednú kvalitu väčšiny červených vín (Bauer a Dicks, 2004). Okrem zvýšenia pH dochádza v priebehu MLF k fermentácii ďalších cukrov a k produkcii rôznych aromatických látok, ktoré menia organoleptický a senzorický profil výsledného vína (Burns a Osborne 2013; Sumbly *et al.*,

2014). Počas MLF môžu MB produkovať alebo uvoľňovať niekoľko zlúčenín, ktoré majú buď pozitívny alebo negatívny vplyv na senzorické vlastnosti vína, v závislosti od povahy týchto zlúčenín, ich koncentrácie a fyzikálno-chemických vlastností vína. MLF možno použiť na moduláciu senzorických atribútov, ako je maslová aróma (diacetyl), ovocná aróma, pocit v ústach a farba (Swiegers *et al.*, 2005). Základné mechanizmy zahŕňajú produkciu enzymatických aktivít, ktoré môžu mať arómu a/alebo vizuálne efekty. Biologické odbúravanie kyselín pri MLF sa uskutočňuje metabolickou aktivitou MB. MB sú súčasťou mikrobiológie hrozna, muštu a vína. Nachádzame ich na bobuliach, listoch, v pôde a tiež v pivniaciach. Z technologického aspektu sa členia na užitočné, ktorými sa víno zlepšuje, pretože ich pôsobením prebieha vo víne MLF a škodlivé baktérie, vplyvom ktorých vznikajú vo vínoch nežiaduce mikrobiologické zmeny. MB, ktoré majú význam pri výrobe vína sú gram-pozitívne nepohyblivé koky a tyčinky. Vo víne sú schopné prežívať iba kmene z rodov, ktoré sú odolné voči stresovému prostrediu vo víne, ako je nízka hodnota pH (<3,5), vysoká koncentrácia SO<sub>2</sub> (50 ppm) a obsah etanolu nad 10 % obj. (Bartle, 2020). MB významné pri výrobe vína sa rozdeľujú na homofermentatívne baktérie rodu *Pediococcus*, ktoré premieňajú glukózu alebo fruktózu na kyselinu mliečnu a heterofermentatívne baktérie rodu *Lactobacillus* a *Oenococcus* vytvárajúce popri kyseline mliečnej ďalšie produkty (kyselinu octovú, etanol a oxid uhličitý). Najbežnejšie používané baktérie pre riadenú MLF patria do druhu *Oenococcus oeni* (Pavloušek, 2010), avšak takmer všetky MB dokážu odbúravať kyselinu jablčnú na kyselinu mliečnu za súčasného zníženia kyslosti vína. Všetky druhy MB sú tiež schopné rozkladať cukry obsiahnuté v mušte alebo víne na kyselinu mliečnu a octovú, pričom z fruktózy vzniká najčastejšie manit, ktorý je nežiaduci, pretože môže spôsobovať chyby vína (Eder *et al.*, 2006). Cieľom práce bolo preskúmať rôzne postupy biodegradácie kyseliny jablčnej v červených vínach pomocou malolaktickej fermentácie (MLF) a ich vplyv na kvalitatívne parametre a tvorbu nežiadúcej kyseliny octovej vo víne.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Základné fyzikálno-chemické parametre muštu a vína odrody hrozna Cabernet Sauvignon (Nitrianska vinohradnícka oblasť, ročník 2021) boli stanovené metódou FT-IR spektroskopie na základe metódy Moreira a Santos (2002). Metóda je založená na získavaní a analýze infračerveného spektra tuhých, kvapalných alebo plyných látok. Umožňuje rýchle a pomerne presné stanovenie základných fyzikálno-chemických parametrov muštu a vína, medzi ktoré patria: etanol, glukóza, fruktóza, sacharóza, skladba kyselín, celkové kyseliny, hodnotu pH, glycerol a hustotu. ALPHA FT-IR-WINE Analyzátor (Bruker) analyzuje vzorku vína s využitím tzv. ATR postupu merania. Kalibrácia je založená na viac ako 1700 vínach zo všetkých vinárskych oblastí na celom svete. Po filtrácii a centrifugácii boli vzorky vína skúmané bez ďalších úprav. Do prietokovej bunky bolo injektovaných približne 10 ml vzorky vína. Materiál bol zohriaty na 40 °C pred zachytením spektra v rozsahu 0,78 až 1000 nm. Do 70–100 sekúnd zariadenie skúmalo vzorku a výsledky boli zaznamenané. Porovnaním referenčných hodnôt jednotlivých parametrov so štandardným vínom na analýzu (Bruker Optic GmbH, Nemecko) bola overená presnosť procesu. V tabuľke 1 sú uvedené varianty s dátumom aplikácie *O. oeni* v rôznom čase po iniciácii alkoholovej fermentácie. Merania sa uskutočnili v 3 opakovaniach a boli vyhodnotené programom XLSTAT v.2021.4.1 (Addinsoft, Francúzsko) pomocou Kruskal-Wallis testu na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$ .

**Tabuľka 1** Experimentálna aplikácia *O. oeni* v rôznom čase po iniciácii alkoholovej fermentácii (AF)

Variant	Dátum aplikácie <i>O. oeni</i> (rok 2021)	Doba po iniciácii AF (5.10.2021)
V1	5. 10.	0 dní
V2	10. 10.	5 dní
V3	19. 10.	14 dní
V4	Kontrola (bez pridania <i>O. oeni</i> )	–

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

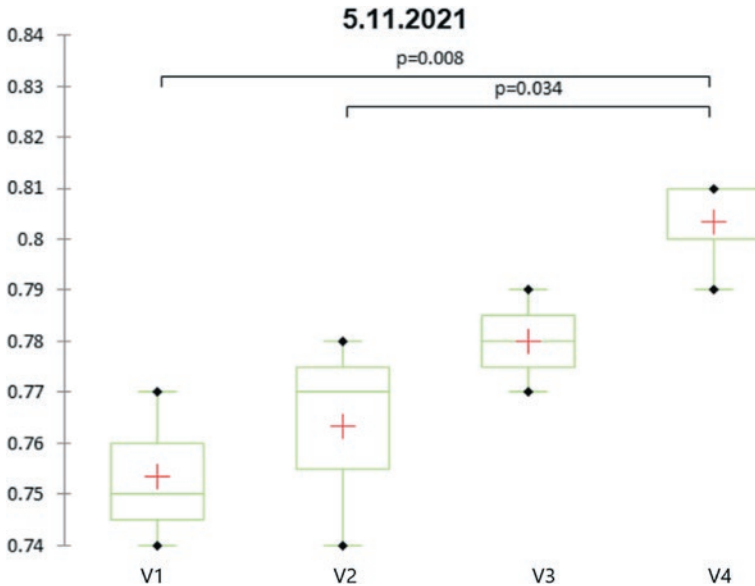
Výsledky analytického rozboru muštu pred iniciáciou AF a MLF sú uvedené v Tabuľke 2. Vzorky jednotlivých experimentálnych variantov sa podrobili analýze parametrov, ktoré môžu byť potenciálne ovplyvnené procesom MLF a termínom inokulácie MB. Analýzou sa stanovili hodnoty nasledovných parametrov: kyselina jablčná, kyselina mliečna, celkový obsah kyselín, kyselina vínna, kyselina octová, pH, celkový obsah cukrov, alkohol a glycerol.

**Tabuľka 2** Výsledky fyzikálno - chemických analýz muštu pred inokuláciou kvasiniek a MB

Sledovaný parameter	Priemer ± SD
Fruktóza (g.L <sup>-1</sup> )	99,85 ± 0,12
Glukóza (g.L <sup>-1</sup> )	94,14 ± 0,24
Refrakcia (%)	19,97 ± 0,10
Hustota (g.cm <sup>-3</sup> )	1,08 ± 0,01
Kyselina jablčná (g.L <sup>-1</sup> )	4,88 ± 0,05
pH	3,09 ± 0,02
Kyselina vínna (g.L <sup>-1</sup> )	4,17 ± 0,03
Celkové kyseliny (g.L <sup>-1</sup> )	8,85 ± 0,06
Celkové cukry (g.L <sup>-1</sup> )	197,13 ± 0,26

Obsah kyseliny jablčnej v mušte bol 4,88 g.L<sup>-1</sup>. Obsah kyseliny jablčnej bol sledovaný aj v priebehu MLF a pokles jej koncentrácie koreloval s nárastom koncentrácie kyseliny mliečnej. Na konci MLF mala každá experimentálna varianta menej ako 0,1 g.L<sup>-1</sup> kyseliny jablčnej. pH hodnota bola sledovaná počas a po MLF v jednotlivých vzorkách, s výslednými hodnotami pH v rozmedzí od 3,24 do 3,30. Tieto výsledky poskytujú prehľad o vývoji obsahu celkových kyselín a pH hodnôt v roku 2021 počas procesu malolaktickej fermentácie a sú dôležité pre pochopenie manažmentu kvality a stability vína. Obsahy kyseliny mliečnej na konci MLF boli v experimentálnych variantoch a štatisticky preukazne rozdielne ( $p \leq 0,05$ ).

Hodnota kyseliny octovej bola sledovaná z dôvodu, že ovplyvňuje kvalitu vína, najmä jeho chuť a vôňu. Nadmerný obsah považujeme za chorobu vína, čo významne znižuje



**Obrázok 2** Štatistické vyhodnotenie koncentrácií kyseliny octovej na konci MLF ( $\text{g.L}^{-1}$ ).

jeho kvalitu. Skúmali sme rôzne metódy inokulácie baktérií počas MLF a ich vplyv na produkciu kyseliny octovej. Rozdiely obsahu kyseliny octovej medzi experimentálnymi variantmi sú uvedené na obrázku 2. Tieto výsledky pomáhajú optimalizovať fermentačný proces. Monitorovanie kyseliny octovej tiež zabezpečuje, že víno spĺňa legislatívne limity a je mikrobiologicky stabilné, čím sa minimalizuje riziko vzniku nežiaducich vedľajších produktov.

Pozitívnym výsledkom je, že skorší termín inokulácie *O. oeni* viedol k nižším hladinám kyseliny octovej v skorších termínoch merania v porovnaní s ostatnými variantmi. Tieto výsledky súhlasí s prácou Cañas *et al.* (2015). Existujú však aj štúdie, v ktorých autori pozorovali zníženú koncentráciu kyseliny octovej (Tristezza, 2016) alebo dokonca zvýšenú koncentráciu kyseliny octovej pri súčasnej inokulácii kvasiniek a MB v porovnaní so sekvencnou inokuláciou (Liu, 2002; Knoll *et al.*, 2012; Garofalo *et al.*, 2015). Variabilita výsledkov rôznych autorov môže byť spôsobená rôznym zložením muštu, rôznymi podmienkami vinifikácie a rôznymi kmeňmi MB použitými v jednotlivých štúdiách. Naše výsledky ukázali, že koncentrácia kyseliny octovej na konci MLF v experimentálnych variantoch nebola závislá od načasovania inokulácie *O. oeni* vzhľadom na AF a hodnoty sa štatisticky významne ( $p \leq 0,05$ ) nelíšili.

## ZÁVER

Z výsledkov našej práce vyplýva, že skorá aplikácia kultúry *O. oeni* je porovnateľnou alternatívou k neskorej inokulácii z hľadiska fyzikálno-chemických parametrov konečného produktu. Koncentrácia kyseliny octovej na konci malolaktickej fermentácie (MLF)

nebola závislá od načasovania inokulácie *O. oeni* vzhľadom na alkoholovú fermentáciu (AF) a hodnoty sa štatisticky významne nelíšili. Nameraná konečná koncentrácia kyseliny octovej mierne presahuje prahovú koncentráciu jej vnímania ( $0,7 \text{ g.L}^{-1}$ ), ale je v rozsahu aktuálnej legislatívy pre suché červené vína ( $1,2 \text{ g.L}^{-1}$ ) a nemá negatívny vplyv na kvalitu konečného produktu. Odporúčame skorú inokuláciu kultúry *O. oeni*, ktorá viedla k nižším hladinám kyseliny octovej v skorších termínoch merania. Je dôležité pravidelne monitorovať obsah kyseliny octovej počas MLE, aby sa zabezpečilo, že víno spĺňa legislatívne limity a je mikrobiologicky stabilné. Neodporúčame používať spontánnu MLE, pretože prínos špecifických miestnych charakteristík vína neprevyšuje riziká vzniku chýb a tvorby nežiaducich vedľajších produktov. Rôzne metódy inokulácie by mali byť prispôbosené špecifickým podmienkam vinifikácie a zloženiu muštu, aby sa dosiahla optimálna kvalita vína. Tieto odporúčania pomôžu výrobcovi vína zlepšiť kvalitu ich produktov a zabezpečiť, že ich vína budú trvale spĺňať vysoké štandardy kvality a bezpečnosti.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore medzinárodného výskumného a vzdelávacieho projektu Iniciatíva financovania projektu AT/SK č.: 2024-03-15-003 „Vývoj prognostického systému pre určenie prahu škodlivosti fyloxéry v dôsledku klimatických zmien a zmien vo fenológii viniča“.

## Kontaktná adresa

Ing. Lucia Benešová, PhD., VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

## LITERATÚRA

- Steidl, R. – Renner, W. 2004. *Problémy kvašení vín*. Radix: Valtice. 74 s. ISBN 80-903201-3-9.
- Pavloušek, P. 2011. *Pěstování révy vinné*. Grada Publishing: Praha. 336 s. ISBN 978-80-247-3314-2.
- Bauer, R., Dicks, L. M. T. 2004. Control of Malolactic Fermentation in Wine. A Review. In *S. Afr. J. Enol. Vitic.* vol. 25, pp. 74–88. ISSN 0253-939X. Available at: 10.21548/25-2-2141
- Burns, T. R., Osborne, J. P. 2013. Impact of Malolactic Fermentation on the Color and Color Stability of Pinot noir and Merlot Wine. In *Am. J. Enol. Vitic.* vol. 64, pp. 370–377. ISSN 0002-9254. Available at: 10.5344/AJEV.2013.13001
- Sumby, K. M., Grbin, P. R., Jiranek, V. 2014. Implications of new research and technologies for malolactic fermentation in wine. In *Appl. Microbiol. Biotechnol.* vol. 98, pp. 8111–8132. ISSN 1432-0614. Available at: 10.1007/s00253-014-5976-0
- Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., Pretorius, I. S. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. In *Aus. J. of Grape & Wine Research.* vol. 11, pp. 139–173. ISSN 1755-0238. Available at: 10.1111/J.1755-0238.2005.TB00285.X
- Bartle, L. 2020. *Identification and Understanding of Saccharomyces and Oenococcus Interactions in Wine Fermentation: PhD Thesis*. The University of Adelaide: Adelaide. 236 p.
- Pavloušek, P. 2010. *Výroba vína u malovínářů*. 2. vydanie. Grada publishing: Praha. 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3.



- Eder, R. 2006. Vady vína. Národné vinařské centrum: Valtice. 263 s. ISBN: 80- 903201-6-3.
- Moreira, J. L., Santos, L. 2005. Analysis of organic acids in wines by Fourier-transform infrared spectroscopy. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. vol. 382, pp. 421–425. ISSN 1618-2642. Available at: 10.1007/S00216-005-3062-2.
- Cañas, P. M. I., Romero, E. G., Pérez-Martín, F., Seseña, S., Palop, M. L. 2015. Sequential inoculation versus co-inoculation in Cabernet Franc wine fermentation. In *Food Sci. Technol. Int.* vol. 21, pp. 203–212. ISSN 1082-0132. Available at: 10.1177/1082013214524585
- Tristezza, M., Di Feo, L., Tufariello, M., Grieco, F., Capozzi, V., Spano, G., Mita, G. 2016. Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine. In *LWT – Food Sci. Technol.* vol. 66, pp. 406–412. ISSN 0023-6438. Available at: 10.1016/J.LWT.2015.10.064
- Liu, S. Q. 2002. Malolactic fermentation in wine – Beyond deacidification. In *J. Appl. Microbiol.* vol. 92, pp. 589–601. ISSN 1365-2672. Available at: 10.1046/j.1365-2672.2002.01589.x
- Knoll, C., Fritsch, S., Schnell, S., Grossmann, M., Krieger-Weber, S., Du Toit, M., Rauhut, D. 2012. Impact of different malolactic fermentation inoculation scenarios on Riesling wine aroma. In *World J. Microbiol. Biotechnol.* vol. 28, pp. 1143–1153. ISSN 0959-3993. Available at: 10.1007/S11274-011-0917-X
- Garofalo C., El Khoury, M., Lucas, P., Bely, M., Russo, P., Spano, G., Capozzi, V. 2015. Autochthonous starter cultures and indigenous grape variety for regional wine production. In *Journal of Applied Microbiology*. vol. 118, pp. 1395-1408. ISSN 1364-5072. Available at: 10.1111/jam.12789

## Vplyv spôsobu prípravy kvasu na senzorické parametre a výťažnosť destilátu z odrody sliviek stanley

### The influence of the yeast preparation method on the sensory parameters and yield of the distillate from the stanley plum variety

Lucia BENEŠOVÁ<sup>1\*</sup>, Štefan AILER<sup>2</sup>, Patrik VACHO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76  
Nitra

<sup>2</sup>Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská  
poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

#### Abstract

This work deals with the sensory analysis of various variants of plum distillate made from the Stanley variety. The aim was to compare the effect of adding yeast, enzymes, and sucrose on the sensory properties of the distillate. Three variants of the ferment were prepared and fermented: 1) with the addition of yeast, enzymes, and sucrose (KES), 2) with the addition of yeast and enzymes without sucrose (KE), and 3) with the addition of yeast and sucrose without enzymes (KS). Sensory evaluation was performed using a 50-point scale, assessing the aroma, taste, and overall acceptance of the distillate. „The highest rating was achieved by the sample using yeast and enzyme, without sucrose, scoring 37.2 points. Based on these results, we recommend the application of pectolytic enzymes and noble yeasts to achieve optimal sensory properties of the distillate. The KES variant received a lower score (34.2 points), but it is also necessary to consider the economic aspects of mash production, i.e., ethanol yield. The results indicate that de-stoning the fruits is sufficient to be done after fermentation, but in any case, before distillation. The deterioration of sensory parameters in the variants using sucrose will be the subject of further research, such as the pH value of the fruit, fermentation temperature, etc.“

**Keywords:** sensory analysis, distillate, plums, ferment, yeast, enzymes

#### ÚVOD

Slivka je obľúbená ovocná plodina, najmä v Európe, kde sa pestuje na ploche 500 000 hektárov s produkciou okolo 3 miliónov ton. Za posledných 20 rokov bolo vyvinutých 170 kultivarov sliviek, aby sa prispôbili meniacim sa klimatickým podmienkam, vykazujúcich vlastnosti ako odolnosť voči chorobám, kratšia vegetačná sezóna, neskoré kvitnutie a mrazuvzdornosť (Butac *et al.*, 2011; Popovic *et al.*, 2019). Najväčšími producentmi sliviek v Európe sú Rumunsko, Srbsko, Francúzsko a Poľsko. Slivky sa pestujú na rôzne účely, vrátane konzumácie v čerstvom stave, výroby sušeného ovocia a značná časť úrody sliviek sa využíva v destilérskom priemysle (Logistica Fruit, 2024). Z hľadiska plochy sa slivkové sady radia na druhé miesto po jablňových sadoch. (Vyviurska *et al.*, 2017). Obrat destilérského priemyslu v EÚ pred zdanením sa odhaduje na 26,5 miliardy EUR (Heller a Ein-falt, 2022).

Destiláciu definujeme ako „oddeľovanie prchavých frakcií na základe rozdielneho bodu varu jednotlivých zložiek“. Spočíva v postupnom zahrievaní kvapalnej zmesi, pričom

sa ľahšie prchavé látky vyparujú skôr. Pod názvom fermentácia, ktorého slovenským synonymom je kvasenie alebo kysnutie, sa ukrýva proces premeny organických látok, počas ktorého vznikajú látky jednoduchšie. Prudký rozvoj mikroorganizmov, ku ktorému pri fermentácii dochádza, spôsobí vznik prostredia, ktoré chráni potraviny pred kontamináciou toxickými látkami a mikrobiálnym rozkladom (Malík, 2017). Hlavnú úlohu pri fermentácii majú mikroorganizmy a konkrétne predovšetkým ich enzýmy (Spaho a Blesic, 2005). Ovocie použité k príprave kvasu zohráva veľmi dôležitú úlohu v otázke kvality finálneho produktu. Rovnako dôležitú úlohu zohráva aj príprava kvasu, kedy práve vlastnosťami daného ovocia ako zdrojovej suroviny a nesprávnym technologickým postupom môže prísť k znehodnoteniu kvasu ešte pred procesom destilovania (Mottl, 2010). V prípade kvasu sú merateľnými parametrami obsah sacharidov, hodnota pH kvasu, obsah alkoholu a pod. V prípade získaného destilátu sa jedná o obsah etanolu, metanol, kyanovodík, estery a ďalšie látky. Niektoré látky je možné definovať, resp. zistiť ich hodnoty v bežných podmienkach a v niektorých je možné ich zistiť iba laboratórne (Dyr a Dyr, 2020).

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Použili sme odrodu Stanley, z ročníka 2023. Pre experiment pripravili tri varianty slivového kvasu á 130 kg:

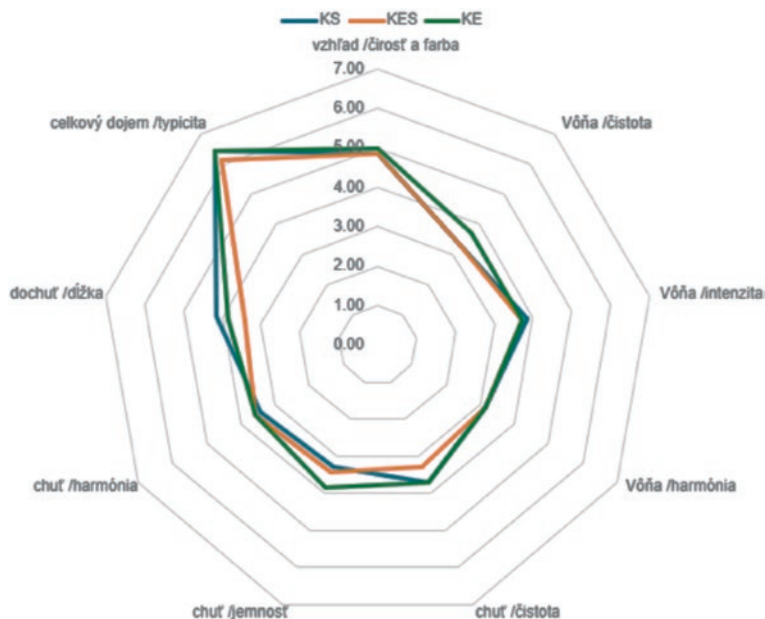
1. KES: Kvas s prídavkom kvasiniek, enzýmov a sacharózy. Slivky sme odkôstkovali pred fermentáciou. Refrakciu kvasu sme upravili na 22 °Brix;
2. KE: Kvas s prídavkom kvasiniek a enzýmov, bez sacharózy. Slivky sme odkôstkovali až po fermentácii. Refrakciu kvasu sme neupravili. Hodnota bola 20 °Brix.
3. KS: Kvas s prídavkom kvasiniek a sacharózy, bez enzýmov. Slivky sme odkôstkovali pred fermentáciou. Refrakciu kvasu sme upravili na 22 °Brix;

Použili sme ušľachtilé kvasinky pre ovocné mušty "BS" a enzým Distizym. Každý variant kvasu sme po sfermentovaní destilovali za totožných podmienok. Obsah etanolu sme v destilátoch merali hustomerom a nastavili v každom variante na finálnych 52 % obj. demineralizovanou vodou. Sensorické hodnotenie vzoriek sme robili pomocou 50-bodovej stupnice (Balík, 2017). Hodnotenú boli parametre vzhľad, vôňa, chuť a celkový dojem z destilátu.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri variantoch s pridaním sacharózy sme získali vyššiu výťažnosť destilátu s obsahom etanolu 52 % obj., a to 11 l. V prípade variantu s neupravenou refrakciou (KE) sme získali 9 l destilátu. Sensorické hodnotenie vykonala reprezentatívna vzorka 7 posudzovateľov, z ktorých traja vlastnili platné osvedčenie posudzovateľa pre nápoje. Výsledky sensorického hodnotenia sú priemernými hodnotami z 5 vnútorných hodnôt, pretože najnižšie a najvyššie udelené body (extrémy) sme eliminovali. Najnižšie celkové priemerné bodové hodnotenie v 50 bodovej stupnici sensorického hodnotenia získala vzorka KES, tzn. prídanie sacharózy, enzýmov a kvasiniek a odkôstkovanie pred fermentáciou, a to 34,2 bodov. Nižšie bodové hodnotenie pridelili posudzovatelia najmä pri parametri vône a v niektorých prípadoch aj pri parametri chuť. Z výsledkov jednoznačne vyplýva, že odkôstkovanie plodov postačuje realizovať až po fermentácii, avšak v každom prípade ešte pred destiláciou. Priemerné bodové hodnotenie deskriptorov členmi komisie je zobraze-

né na obrázku 1. Najvyššie bola hodnotená vzorka KE - prídanie enzýmov a ušľachtilých kvasiniek, bez úpravy cukrnatosti (37,2 bodov). Vzorka KS bez použitia pektolytického enzýmu získala 35,8 bodov.



**Obrázok 1** Výsledky senzorickeho hodnotenia senzorickech deskriptorov jednotlivých variantov destilátu.

Podrobné informácie o zložení vybraného ovocia a organoleptických vlastnostiach jednotlivých zlúčenín môžu pomôcť pri predikcii kvality konečného destilátu (Christoph *et al.*, 2007; Ismail *et al.*, 1981a; Ismail *et al.*, 1981b; Nikičević *et al.*, 2011; Zierer *et al.*, 2016). Balak *et al.* (2024) odporúčajú využívať analýzy GC-FID na monitorovanie produkcie ovocných destilátov, čo môže pomôcť pri hodnotení aromatických profilov a kontrole kvality. Tento prístup môže slúžiť ako nezávislý nástroj na zlepšenie senzorickech vlastností destilátov.

## ZÁVER

Najvyššie hodnotenie dosiahla vzorka s použitím kvasiniek a enzýmu, bez sacharózy (KE), a to hlavne v parametroch vône a chuti. Na základe týchto výsledkov odporúčame na dosiahnutie optimálnych senzorickech vlastností destilátu aplikáciu pektolytických enzýmov a ušľachtilých kvasiniek. Hodnotenie variantu KES nebolo významne nižšie a navyše je potrebné zohľadniť aj ekonomické aspekty výroby kvasu, t.j. výťažnosť etanolu. Zhoršenie senzorickech parametrov variantov s použitím sacharózy bude predmetom ďalšieho výskumu, ako je napr. hodnota pH ovocia, teplota kvasenia a pod. Ak sa chce-

me vyhnúť úpravy obsahu sacharidov v kvase, je dôležité používať dostatočne zrelé ovocie a zabezpečiť optimálne fermentačné podmienky.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore medzinárodného výskumného a vzdelávacieho projektu Iniciatíva financovania projektu AT/SK č.: 2024-03-15-003 „Vývoj prognostického systému pre určenie prahu škodlivosti fyloxéry v dôsledku klimatických zmien a zmien vo fenológii viniča“.

## Kontaktná adresa

Ing. Lucia Benešová, PhD., VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

## LITERATÚRA

- Malík, F. 2017. *ABECEDARIUM VINI*. Fedor Malík a syn., spol. s r.o.: Modra. 319 s. ISBN 978-80-970863-3-6.
- Spaho, N., Blesic, M. 2005. The influence of distillation process on the quality of slivovica. In *Works of the Faculty of Agricultural and Food Sciences University of Sarajevo*.
- Mottl, J. 2010. *Nápoje výroba, ošetrovaní*. Grada Publishing: Praha. 111 s. ISBN 80-7169-811-3
- Dyr, J., Dyr J. E. 2020. *Výroba slivovice a jiných pálenek*. Maxdorf s.r.o.: Praha. 221 s. ISBN 978-80-7345-657-3.
- Balík, J. 2017. Destiláty ve vinařství a technologie jejich výroby. *Vinařský obzor*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, č. 7-8. ISSN, 1212-7884.
- Balak, J., Drábová, L., Maťátková, O., Doležal, M., Marsík, D., Jarosova Kolouchova, I. 2024. Differences in Volatile Profiles and Sensory Characteristics in Plum Spirits on a Production Scale. In *Fermentation*. vol. 10, p. 235. ISSN 2311-5637. Available at: doi: 10.3390/fermentation10050235
- Christoph, N., Bauer-Christoph, C. 2007. Flavour of Spirit Drinks: Raw Materials, Fermentation, Distillation, and Ageing. In *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*; Berger, R.G., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. pp. 219–239. Available at: 10.1007/978-3-540-49339-6\_10
- Ismail, H. M., Williams, A. A., Tucknott, O. G. 1981a. The flavour of plums (*Prunus domestica* L.). An examination of the aroma components of plum juice from the cultivar victoria. In *J. Sci. Food Agric.* vol. 32, pp. 613–619. ISSN 1097-0010.
- Ismail, H. M., Williams, A. A., Tucknott, O. G. 1981b. The flavour components of plums: An examination of the aroma components present in the headspace above four cultivars of intact plums, Marjorie's seedling, Merton Gem, NA 10 and Victoria. In *J. Sci. Food Agric.* vol. 32, pp. 498–502. ISSN 1097-0010.
- Nikićević, N., Velickovic, M., Jadrantin, M., Vučković, I., Novaković, M., Vujisić, L.V., Stanković, M., Urosevic, I., Tešević, V. 2011. The effects of the cherry variety on the chemical and sensorial characteristics of cherry brandy. In *J. Serbian Chem. Soc.* vol. 76, pp. 1219–1228. ISSN 1820-7421.
- Zierer, B., Schieberle, P., Granvogel, M. 2016. Aroma-active compounds in Bartlett pears and their changes during the manufacturing process of Bartlett pear brandy. In *J. Agric. Food Chem.* vol. 64, pp. 9515–9522. ISSN 1520-5118.

- Butac, M., Bozhkova, V., Zhivondov, A., Milosevic, N., Bellini, E., Nencetti, V., Blazek, J., Balsemin, E., Lafarque, B., Kaufmane, E. 2011. Overview of plum breeding in Europe. In *Proceedings of the II Balkan Symposium on Fruit Growing 981, Acta horticulturae*. pp. 91–98. ISSN 0567-7572.
- Popović, B. T., Mitrović, O. V., Laposavić, A. P., Paunović, S. A., Jevremović, D. R., Nikićević, N. J., Tesević, V. V. 2019. Chemical and sensory characterization of plum spirits obtained from cultivar Čačanska Rodna and its parent cultivars. In *J. Serbian Chem. Soc.* vol. 84, pp. 1381–1390. ISSN 0352-5139. Available at: 10.2298/JSC190307061P
- Logistica Fruit. 2024. In *European Statistics Handbook 2024*. Fruit Logistica: Berlin, Germany.
- Vyviurska, O., Matura, F., Furdíková, K., Špánik, I. 2017. Volatile fingerprinting of the plum brandies produced from different fruit varieties. In *J. Food Sci. Technol.* vol. 54, pp. 4284–4301. ISSN 0975-8402. Available at: 10.1007/s13197-017-2900-5
- Heller, D., Einfalt, D. 2022. Reproducibility of Fruit Spirit Distillation Processes. In *Beverages*. vol. 8, p. 20. ISSN 2306-5710. Available at: 10.3390/beverages8020020

## **Porovnanie mechanizmov vzniku a obsahu alergénov vo víne s inými požívatinami**

### **Comparison of the mechanisms of formation and content of allergens in wine with other foods**

Lucia BENEŠOVÁ<sup>1</sup>, Štefan AILER<sup>2</sup>, Eduard PINTÉR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*RC AgroBioTech, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra*

<sup>2</sup>*Institute of Horticulture, Faculty of Horticulture and Landscape Engineering, Slovak University of Agriculture in Nitra v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra*

#### **Abstract**

Despite the presence of certain food allergens, wine maintains its status as a healthy and noble beverage. The consumption of food significantly affects human health, and food-related diseases include intolerances and allergies. Allergens such as sulphites, egg and milk proteins, and histamine can be found in wine. Sulphites, egg and milk proteins are additives that must be labelled on wine packaging. Egg and milk proteins are technological aids that are almost completely removed after wine processing, making them only theoretical allergens. Histamine, a genuine food allergen, can cause issues for some individuals. Histamine intolerance affects a small percentage of the population and is caused by insufficient production of the enzyme diamine oxidase (DAO). However, the histamine content in wine is significantly lower compared to other foods. Quality wine retains its status as a unique food item even in the context of food allergies and can be safely consumed when adhering to relevant standards and limits.

**Keywords:** sulphites, histamine, allergens, health food, wine

The character and composition of consumed foods have a significant impact on human health and overall condition. Cases of food-related diseases are becoming more frequent, not only because current scientific advancements allow for more detailed detection and evaluation. Nutritionally related diseases include food intolerances and allergies. Allergens are also found in wine. Some are added as additives or technological aids, while others are naturally present. The most significant allergens that can occur in wine are sulfites, egg and milk proteins, and histamine.

#### **Sulphites**

A known and declared allergen in wine is sulfur dioxide. It is an additive. The toxicity of concentrated sulfur dioxide is proven. Its maximum permissible amount in wine is limited. Current EU legislation mandates that the presence of sulfur dioxide in food in amounts greater than 10 mg/kg must be labeled as “contains sulfites” or “contains sulfur dioxide.” The labeling must be provided in the official language of the country where the food is being marketed.

#### **Egg Proteins**

Egg proteins can be added to wine in various forms as technological aids. If egg white is used for wine fining, this fact must also be indicated on the consumer packag-

ing, e.g., “contains traces of egg white” and various allowed modifications of this statement.

### **Milk Proteins**

Milk proteins can also be added to wine as technological aids. If milk protein is used for wine fining, this fact must be indicated on the consumer packaging, e.g., “contains traces of milk casein” and various allowed modifications of this statement. In the case of wine, milk and egg proteins are actually just theoretical allergens. After wine processing, they are almost completely removed from the product. Residual traces of these proteins in minuscule amounts can theoretically cause an allergic reaction in sensitive individuals.

### **Histamine**

A real food allergen found in wine is histamine. Cases where some individuals experience issues other than those caused by ethanol after consuming wine are becoming more frequent. Most often, it is a sensitivity to histamine. Histamine is produced during the breakdown of the amino acid histidine, which is present in practically all plant and animal cells. The transformation of histidine to histamine occurs through the enzyme histidine decarboxylase, triggered by microorganisms. Yeast and bacteria thus play an important role in the formation of histamine.

Histamine belongs to the group of biogenic amines. It is ingested through food and is also produced by human cells where it is stored. It can affect the secretion activity of gastric juices, the digestive tract, bronchi, and uterus. It is also an important initiator and mediator of allergic diseases and functions as a neurotransmitter in the central nervous system. The intensity of histamine's physiological effects depends on the amount ingested, its content in cells, and the intensity of its accumulation. If the amount of free histamine exceeds certain limits, undesirable reactions occur: increased production of stomach acids (heartburn), strong intestinal peristalsis (bloating, diarrhea), headaches, skin flushing and asthma. It is clear that the body must effectively defend against excessive histamine intake. Excess histamine in the human body is broken down by two enzymes: diamine oxidase (DAO) and N-methyltransferase. DAO plays a more significant role as it can break down ingested histamine already in the digestive tract. DAO is produced by human cells in the walls of the small intestine, liver, kidneys, and blood.

### **Histamine Intolerance**

1 to 3 percent of the population suffers from histamine intolerance. The cause is insufficient DAO production by the body or its blockage by drugs, other biogenic amines, or ethanol. This creates an imbalance between DAO and histamine, which the body cannot break down sufficiently. This imbalance can be exacerbated by consuming foods rich in histamine. Therefore, histamine-intolerant individuals need to know foods that are rich or poor in histamine. Foods that undergo a long maturation process (cheeses), lactic fermentation (sauerkraut), or use smoking, salting, and drying in their preparation (meat, fish) exhibit higher histamine values than fresh or freshly frozen foods. Freshly caught fish and fresh meat contain almost no histamine. Improperly stored, spoiled fish can contain up to 13,000 mg.kg<sup>-1</sup> of histamine. Common, properly processed fish products contain around 1,000 mg.kg<sup>-1</sup> of histamine. Dry sausages and ham can contain up to 600 mg.kg<sup>-1</sup> of histamine. Mature cheeses contain up to 900 mg.kg<sup>-1</sup>, and sauerkraut up to 200 mg.kg<sup>-1</sup> of histamine.



Compared to the previous data, the histamine content in wine is significantly lower. Red wines, sparkling wines, and sweet wines contain relatively higher values due to their production method. In some special red wines and vintage sparkling wines, the histamine content can exceed  $30 \text{ mg.L}^{-1}$ . It is established that the histamine content in wines increases proportionally with the length of contact with yeast lees.

**Table 1** Approximate histamine content in some foods and wine

Products	Histamine content	Source
White Wine	$0.21 - 0.59 \text{ mg.L}^{-1}$	Bartowsky and Stockley (2010)
Red Wine	$1.58 - 1.75 \text{ mg.L}^{-1}$	Bartowsky and Stockley (2010)
Sparkling Wine	$0.16 - 5.90 \text{ mg.L}^{-1}$	Cohen (2023)
Raisin and Botrytis Selections	up to $20 \text{ mg.L}^{-1}$	Cohen (2023)
Canned Fish	up to $50 \text{ mg.kg}^{-1}$	Visciano <i>et al.</i> (2021)
Smoked Fish Products	$100 - 200 \text{ mg.kg}^{-1}$	Visciano <i>et al.</i> (2021)
Dry Hams and Sausages	$300 - 600 \text{ mg.kg}^{-1}$	Comas-Basté <i>et al.</i> (2019)
Aged Cheeses	$900 - 2500 \text{ mg.kg}^{-1}$	Comas-Basté <i>et al.</i> (2019)
Sour Cabagge	$10 - 200 \text{ mg.kg}^{-1}$	Visciano <i>et al.</i> (2021)

In the analysis of histamine content in Slovak wines from the 2023 vintage, the following average histamine values were measured in various samples. The highest average value was recorded in the sample of Alibernet, which reached  $2.87 \text{ mg.L}^{-1}$ , while the lowest average value was found in the sample of Riesling Italic which indicated a very low concentration of histamine below the detection limit. It is evident that the application of different technological processes can significantly influence the final histamine content in wine. This data is crucial for further studies and the optimization of winemaking processes to minimize histamine content in final products, which is important for consumer safety and satisfaction.

Despite the significantly lower histamine content in wine compared to the foods mentioned in Table 1, individuals with histamine intolerance often report allergic reactions. This is because the body absorbs histamine much more rapidly and effectively from liquids than from solid foods. Ethanol plays a significant role in this process as well. It aids in faster digestion, improves blood circulation, and additionally blocks the activity of diamine oxidase (DAO).

Histamine intolerance is currently diagnosable. It can be detected through blood tests or by measuring DAO activity. It is beneficial for individuals with histamine intolerance to be aware of their condition so that they can prepare in a way that allows them to enjoy wine without adverse effects. This can be achieved by choosing wines with a presumed minimal amount of histamine and, more importantly, by selecting an appropriate accompanying menu.

There arises a question of whether wine labels should also indicate “contains histamine” or “contains biogenic amines.” The unequivocal answer is: No. Histamine is not an additive but a natural product of biotechnology. Indicating its presence on the wine label would only make sense if the exact amount were stated. This would be particularly harsh

for special types of wines. The obligation to label the use of sulfites—one of the oldest, traditional, and indispensable additives—is already sufficiently stringent for wine. Fortunately, the indication of sulfite content on consumer packaging has not led to a decline in wine consumption across Europe, nor has it caused any doubts about the health aspects of moderate wine consumption.

### **Allergens, Wine, and Health**

Current scientific advancements allow for detailed identification and evaluation of food-related risks. From this perspective, it is good news that the histamine content in healthy wine is negligible compared to many other foods and popular delicacies. An increased histamine content in wine can paradoxically result from improper technology, particularly incorrect or lack of sulfiting, unhealthy yeast lees, and oxidation. For those with histamine intolerance, there are now supplements available that can adequately mitigate this condition. These dietary supplements contain the enzyme DAO (diamine oxidase), which supports the breakdown of histamine. Their intelligent use compensates for the lack of DAO activity in the human body.

While the toxicity of sulfur dioxide cannot be refuted, its impact on consumer health has been verified over millennia. The maximum permissible amounts of sulfur dioxide in wine are strictly limited, and adherence to these limits ensures no negative effects on consumer health. Within 24 hours of consumption, sulfites are completely excreted from the body in the form of sulfates.

If traces of egg or milk proteins are present in wine, they are in absolutely negligible amounts. They can enter the wine from well-established and traditionally used technological aids (fining agents), which are almost completely removed from the product after performing their function.

Wine is not a food where it is necessary to fundamentally address food allergies. Even in this regard, quality wine maintains its status as a unique food. When we toast with healthy wine for our health, we are supported by truly strong arguments. As the famous French chemist and biologist Louis Pasteur once said, “Wine is the healthiest and most hygienic beverage in the world.”

## **CONSLUSIONS**

Despite the potential presence of food allergens such as sulfites, egg and milk proteins, and histamine, wine retains its status as a healthy and noble beverage. Scientific advancements have shown that the histamine content in wine is significantly lower compared to many other foods, making it a safer option for consumers, including those with histamine intolerance. Proper winemaking practices can further minimize histamine levels, ensuring consumer safety. The long-standing use of sulfites in winemaking, regulated by strict limits, poses no significant health risk when consumed in moderation. Trace amounts of egg and milk proteins in wine are also negligible. Thus, quality wine remains a healthy choice, echoing Louis Pasteur’s sentiment that “Wine is the healthiest and most hygienic beverage in the world.” Continued research and technological improvements will enhance the safety and enjoyment of wine for all.

## ACKNOWLEDGEMENT

This publication was created thanks to the support of the project (VEGA 1/0676/22) “Blue-green infrastructure as a water policy tool in the process of adaptation to climate change”.

## Contact address

Ing. Lucia Benešová, PhD., RC AgroBioTech, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic, lucia.benesova@uniag.sk

## REFERENCES

- Commission Delegated Regulation (EU) 2019/33 of 17 October 2018 supplementing Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council as regards applications for protection of designations of origin, geographical indications and traditional terms in the wine sector, the objection procedure, restrictions of use, amendments to product specifications, cancellation of protection, and labelling and presentation. *C/2018/6622mm OJ L 9*, 11/01/2019, pp. 2-45.
- Bartowsky, E., Stockley, C. 2010. Histamine in Australian wines—a survey between 1982 and 2009. In *Annals of Microbiology*. vol. 61, pp. 167-172. ISSN 1869-2044. Available at: [10.1007/s13213-010-0070-z](https://doi.org/10.1007/s13213-010-0070-z)
- Visciano, P., Schironeová, M., Paparella, A. 2021. An Overview of Histamine and Other Biogenic Amines in Fish and Fish Products. In *Foods*. vol. 9, pp. 1795. ISSN 2304-8158. Available at: [10.3390/foods9121795](https://doi.org/10.3390/foods9121795)
- Comas-Basté, O., Latorre-Moratalla, M. L., Sánchez-Pérez, S., Veciana-Nogués, M. T., del Carmen Vidal-Carou, M. 2019. Histamine and Other Biogenic Amines in Food. From Scombroid Poisoning to Histamine Intolerance. In *Biogenic Amines. IntechOpen*. Available at: [10.5772/intechopen.84333](https://doi.org/10.5772/intechopen.84333)
- Cohen, J. 2023. Foods High & Low in Histamine + Other Mast Cell Triggers. In *SelfDecode*. Available at: <https://health.selfdecode.com/blog/foods-high-low-in-histamine/>

## Podvody s alkoholickými nápojmi v roku 2023 – prehľad prípadov a dopad na trh

### Alcohol beverage fraud in 2023 – overview of cases and market impact

Lucia BENEŠOVÁ<sup>1\*</sup>, Štefan AILER<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre,  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

<sup>2</sup>Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

#### Abstract

In 2023, a significant number of food fraud cases in the alcoholic beverage sector were reported to the KC-FFQ system. The aim of this study was to analyze these cases in terms of the most common types of fraud, geographical distribution, and the commodities most affected. The results showed that smuggling and counterfeiting of alcoholic beverages were the most frequent forms of fraud, with the highest number of cases recorded in Italy, India, and Colombia. These frauds caused considerable economic losses and posed serious risks to consumers exposed to dangerous counterfeit products. The study highlights the need to improve control measures and international cooperation in combating illegal practices in the alcoholic beverage sector.

**Keywords:** food fraud, alcoholic beverages, smuggling, counterfeiting, KC-FFQ

#### ÚVOD

Potravinový podvod je široký pojem, ktorý sa používa na označenie úmyselného a klamlivého konania s cieľom ekonomického zisku s potravinami (Spink a Bedard *et al.*, 2019). Typy potravinových podvodov zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na, náhradu (napr. nahradenie zložky s vysokou hodnotou zložkou s nižšou hodnotou), riedenie (napr. miešanie kvapalnej zložky s vysokou hodnotou s kvapalinou nižšej hodnoty), zakrývanie (napr. skrytie nízkej kvality zložiek), falšovanie (napr. kopírovanie značky na ekonomický zisk), nesprávne označovanie alebo nesprávnu prezentáciu potravín, potravinových zložiek alebo obalov (napr. uvedenie nepravdivého tvrdenia na ekonomický zisk), neodobrené vylepšovanie (napr. pridávanie neznámych alebo neoznámených materiálov na zlepšenie kvalitatívnych vlastností) a produkciu na šedom trhu/krádež/odklon (KC-FFQ, 2022; Spink *et al.*, 2019; Winkler *et al.*, 2023). Hoci v rámci Európskej únie (EÚ) neexistuje presná definícia „potravinového podvodu“, ktorá by bola nevyhnutná na vytvorenie spoločného porozumenia problému, viaceré pokusy zo strany vlád v rámci potravinového systému EÚ boli zamerané na zabezpečenie toho, aby potraviny boli bezpečné a záujmy spotrebiteľov chránené (Európska komisia, 2020a). Bohatá legislatíva EÚ týkajúca sa potravín, Centrum znalostí pre potravinové podvody a kvalitu a Koordinované kontrolné programy sú niektoré z opatrení na boj proti potravinovým podvodom v EÚ (Európska komisia, 2020b). Centrum znalostí pre potravinové podvody a kvalitu (KC-FFQ) poskytuje a zdieľa aktuálne vedecké poznatky o potravinových podvodoch a problémoch s kvalitou potravín. Koordinuje aktivity trhového dohľadu a prevádzkuje systém včasného varovania a infor-

mačný systém pre potravinové podvody. Spoločne ho prevádzkuje Vedecká a znalostná služba Európskej komisie, Spoločné výskumné centrum (JRC) a oddelenia zodpovedné za reguláciu reťazca krmív a potravín a ochranu práv spotrebiteľov. Centrum dopĺňa činnosť siete EÚ pre potravinové podvody, ktorú prevádzkuje Oddelenie pre zdravie a bezpečnosť potravín Európskej komisie (Európska komisia, 2020c). Cieľom tejto štúdie bolo monitorovať potravinové podvody týkajúce sa alkoholických nápojov nahlásené v roku 2023 po celom svete.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Cieľ tejto štúdie bol dosiahnutý využitím a spracovaním údajov, ktoré boli získané z databázy KC-FFQ, ktoré je hosťiteľom spoločného výskumného centra (JRC), za rok 2023. Záznamy boli získané pomocou portálu a obsahovali informácie o reportujúcej krajine, potravinových komoditách, kategóriách potravinových podvodoch a prípadoch.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Bezpečnosť potravín je jedným z kľúčových aspektov ochrany verejného zdravia (Cieslik a Cieslik, 2012). Ak sú potraviny nesprávne opísané, t.j. informácie o pôvode, zložení atď., ktoré sú poskytované zákazníkom, nie sú pravdivé, a ak je tento nesprávny opis vykonaný s cieľom oklamať zákazníka pre finančný zisk, dochádza k potravinovým podvodom, tiež známym ako ekonomicky motivovaná falšovanie potravín. Ekonomicky motivované falšovanie potravín spôsobuje škody odhadované na približne 8 až 12 miliárd eur ročne (Vaqué a Vidreras, 2018). Vyhodnotením oznámení o potravinových podvodoch z KC-FFQ v roku 2023 sme zistili 88 oznámení nahlásených do tohto systému (Tabuľka 1). Vyhodnotili sme štyri najbežnejšie typy podvodov v 33 hlásiacich krajinách kde bola najčastejšie falšovaná komodita alkoholických nápojov. Medzi najčastejší typ podvodu patrilo pašovanie alkoholických nápojov a vína., pričom bolo zaznamenaných 53 hlásení. Oznámenia o potravinových podvodoch v jednotlivých krajinách Európy v rokoch 2023 sú zobrazené na obrázku 1. Najviac prípadov bolo nahlásených z Indie (15), Nasledovalo Taliansko s počtom hlásení 9, 6 hlásení bolo z krajín Kolumbia a Brazília a 4 hlásenia z Ománu a Pakistanu. V ostatných krajinách sa vyskytlo v rámci roku 2023 počet prípadov 1 – 3.

**Tabuľka 1** Prehľad potravinových podvodov týkajúcich sa alkoholických nápojov v roku 2023 v poradí v akom boli hlásené

Krajina	Prípád	Detail
Oman	úradu zadržali 6000 fliaš nelegálnych alkoholických nápojov	čierny trh
Kolumbia	úradu zadržali 25 ton falšovaných alkoholických nápojov (whisky, rum, vodka, gin)	nahrádzanie
Španielsko	úradu zadržali 5 570 litrov alkoholických nápojov falšovaných aromatickými esenciami a cukrom, ktoré pripomínali chuť vermútu, muškátu a mistely	falšovanie
Španielsko	víno predávané so zemepisným označením bez registrácie a povolenia	nahrádzanie

Pokračovanie Tabuľky 1		
Krajina	Prípád	Detail
Turecko	úřady zadržali 25 603 litrov pašovaného a falšovaného alkoholu	nahrádzanie
India	úřady zatkli muža za predaj alkoholických nápojov vyrobených pri výrobe liehových zmesí s použitím farbív a príchutí, zhabali aj 1 600 fliaš falšovaných výrobkov, zhabali 7 236 litrov pašovaných zahraničných liehovín vyrobených v Indii, zhabali 2 500 litrov a 15 000 fliaš nelegálneho alkoholu	falšovanie
Nigéria	úřady zadržali 4 600 fliaš nelegálnych alkoholických nápojov	čierny trh
Čína	úřady zadržali 76 fliaš falšovaných fliaš Moutai znovu naplnených lacnými likérm	nahrádzanie
Kolumbia	úřady zhabali 3 100 nelegálne vyrobených fliaš vína a šampanského.	čierny trh
India	dvanásť ľudí zomrelo po požití falšovaného alkoholu	falšovanie
Dominikánska Republika	úřady zhabali 5 046 fliaš pašovanej whisky, tequily, vodky a iných vysokokvalitných alkoholických nápojov	čierny trh
Kolumbia	úřady zadržali 2 133 fliaš pašovaného alkoholu	čierny trh
Keňa	úřady zadržali 1 230 litrov nelegálneho alkoholu	čierny trh
Pakistan	úřady zadržali 1 860 litrov pašovaných alkoholických nápojov	čierny trh
Taliansko	úřady zaistili 53 600 litrov vína s viacerými nezrovnalosťami v dokumentácii	falšovanie dokumentov
Čína	úřady zadržali 6 500 fliaš falšovaného likéru Moutai	čierny trh
Taliansko	úřady zhabali 300 000 litrov vína bez dokumentácie o vysledovateľnosti. Úřady zaistili aj 3 tony cukru používaného na falšovanie vín	falšovanie
Keňa	úřady zadržali 1 078 fliaš falšovaných alkoholických nápojov	čierny trh
Taliansko	úřady zhabali 2 500 litrov pašovaného piva z Nemecka	čierny trh
Indonézia	štrnásť ľudí zomrelo po požití nelegálne vyrobeného alkoholu, falšovaného jedom na potkany	falšovanie
Malajzia	úřady zhabali 6 000 plechoviek pašovaného alkoholu	čierny trh
Taliansko	úřady zhabali 500 000 litrov obyčajného vína s falšovacími zemepisnými označeniami	nahrádzanie
Srí Lanka	úřady zadržali 55 000 fliaš likéru s falšovacími nálepkami	nahrádzanie

Pokračovanie Tabuľky 1		
Krajina	Prípady	Detail
Taliansko	úřady zhabali 3 800 litrov vína vyrobeného nezákonne bez toho, aby bolo v súlade s hygienickými právnymi predpismi	čierny trh
India	úřady zhabali 3 690 litrov pašovaného zahraničného alkoholu vyrobeného v Indii	čierny trh
Kolumbia	úřady zhabali celkovo 1 500 litrov a takmer 3 000 fliaš nelegálne vyrobeného likéru	čierny trh
Brazília	úřady zadržali 4 500 litrov falošného koloniálneho vína vyrobeného z etylalkoholu a farbív, ochuteného hroznom a inými chemikáliami.	falšovanie
Omán	úřady zhabali 24 000 fliaš pašovaného alkoholu.	čierny trh
Uganda	ľudia zomreli po konzumácii Waragi (miestneho likéru) falšovaného metanolom	falšovanie
Kambodža	štyria ľudia zomreli po požití falšovaných alkoholických nápojov.	falšovanie
Cyprus	úřady zadržali 3 800 fliaš alkoholických nápojov s falošnými etiketami známej značky.	nahrádzanie
Čína	úřady v Hongkongu zhabali 20 000 fliaš pašovaného stolového vína	čierny trh
India	úřady zhabali 1 954 fliaš pašovanej whisky; úřady zadržali celkovo 11 990 litrov nelegálneho alkoholu	čierny trh
Dominikánska Republika	úřady zadržali 84 304 fliaš alkoholu falšovaného metanolom, 101 000 litrov nelegálneho clairinu nevhodného na ľudskú spotrebu a demontovali 19 tajných tovární.	čierny trh
Grécko	úřady zadržali 21,6 tony pašovaného etylalkoholu (96,3 %), používaného na falšovanie nápojov	čierny trh
Taliansko	úřady zadržali 20 000 fliaš falšovaného likéru.	nahrádzanie
Brazília	úřady zadržali 4 500 litrov nelegálneho vína.	čierny trh
India	úřady zadržali celkovo 44 800 litrov nelegálneho alkoholu; úřady zhabali celkovo 48 300 fliaš nelegálneho alkoholu	čierny trh
Rusko	po konzumácii nelegálneho jablčného muštu falšovaného metanolom zomrelo 30 ľudí	falšovanie

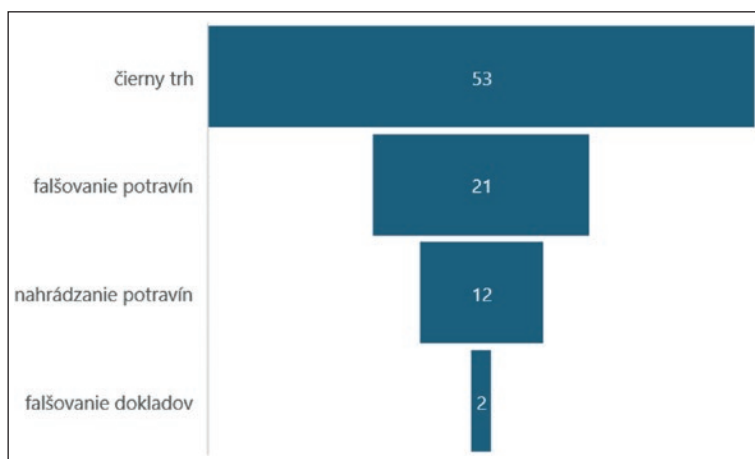
Pokračovanie Tabuľky 1		
Krajina	Prípád	Detail
Brazília	úradý zhabali 200 000 litrov falšovaných nápojov (20,6 ton koncentrovanej šťavy, nektárov, 64 000 litrov balzamikového octu, 4 550 litrov liehoviny z cukrovej trstiny, 2 700 litrov vína, brandy, cachaça a 65 000 litrov kokosovej vody). Medzi nezrovnalosti patrili: - Pridanie nepovoleného trstinového cukru nad povolené množstvo; - Riedenie nápojov s prebytočnou vodou; - Používanie farbív a sladidiel na maskovanie výrobu pre spotrebiteľov; - Nepravdivá reklama; - Preprava nápojov v nevhodných podmienkach; - Nevhodné výrobné podmienky	falšovanie
India	po požití alkoholu nelegálne vyrobeného a falšovaného metanolom zomrelo 17 ľudí	falšovanie
Kostarika	úradý zadržali 12 000 pív a 6 480 rumových a koksových nápojov pašovaných z Panamy	čierny trh
Kolumbia	úradý zaistili 3 070 fliaš falšovaných alkoholických nápojov; úradý zhabali 38 661 fliaš falšovaného alebo pašovaného alkoholu	falšovanie
Brazília	úradý zhabali 41 000 litrov vína pravdepodobne falšovaného purpurovým vínnym farbivom a disiricitanom sodným a s falošnými etiketami	falšovanie
Srí Lanka	úradý zhabali 17 000 litrov nezákonne vyrobeného likéru Goda	čierny trh
Omán	úradý zadržali 1 200 plechoviek pašovaných alkoholických nápojov	čierny trh
India	úradý zadržali celkovo 38 172 litrov nelegálneho alkoholu; úradý zhabali 1 200 fliaš nelegálneho alkoholu	čierny trh
Írsko	úradý zadržali 53 300 litrov pašovaných alkoholických nápojov	čierny trh
Taliansko	úradý zhabali 70 000 litrov vína, ktoré nespĺňalo zákonné požiadavky na výsledovateľnosť	čierny trh
Kolumbia	úradý zaistili 150 654,65 litra nelegálneho liehu	čierny trh
India	po požití falošného alkoholu falšovaného metanolom zomrelo 22 ľudí	falšovanie
India	úradý na čiernom trhu zadržali 19 028 litrov falšovaného likéru a 16 493 fliaš zahraničného liehu vyrobeného v Indii.	čierny trh
Brazília	úradý zhabali viac ako 800 škatúl pašovaného vína	čierny trh
Bolívia	úradý zadržali 20 ton alkoholických nápojov	čierny trh
Malajzia	úradý zhabali 5 502,3 litra piva a likéru, o ktorom sa predpokladá, že nie je zdanený	čierny trh



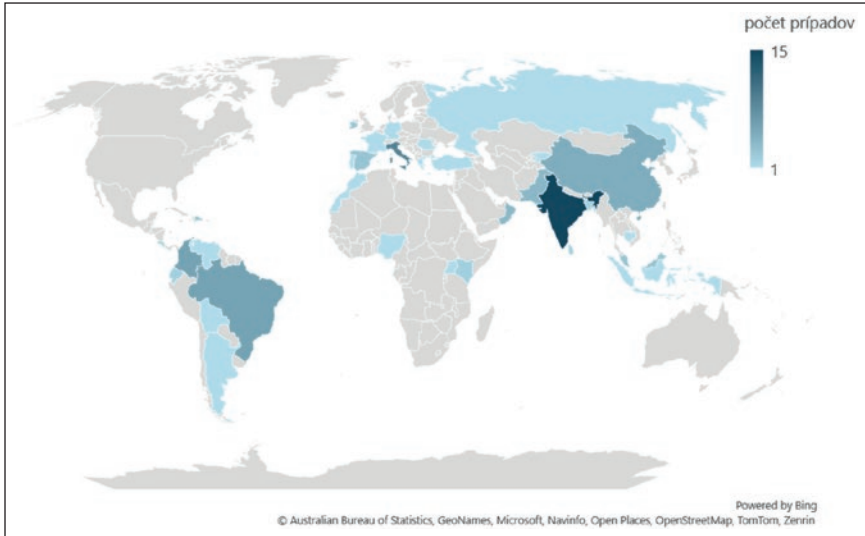
Pokračovanie Tabuľky 1		
Krajina	Prípád	Detail
Moroko	po požití falšovaného alkoholu zomrelo sedem ľudí	falšovanie
Brazília	úradý rozbili zločineckú organizáciu pašujúcu pašované vína a zhabali 9 000 fliaš vína	čierny trh
Pakistan	úradý zhabali 4 573 fliaš pašovaného alkoholu	čierny trh
India	úradý zadržali celkovo 16 800 fliaš a 4 500 litrov nelegálneho alkoholu	čierny trh
Kirgizsko	úradý zadržali 260 ton nelegálneho alkoholu a 13 000 fliaš vodky s falošnými kontrolnými známami	falšovanie dokumentov
India	po požití falošného alkoholu zomrelo 32 ľudí; úradý pri razíách zhabali 6 000 litrov alkoholu	falšovanie
Omán	úradý zadržali 3 700 plechoviek a fliaš nelegálnych alkoholických nápojov	čierny trh
India	úradý zhabali 1 776 fliaš pašovaného alkoholu; úradý zhabali 3 600 fliaš indického zahraničného likéru; úradý zadržali 2 400 litrov pašovaného alkoholu	čierny trh
Ekvádor	jedna osoba zomrela po požití alkoholu falšovaného metanolom	falšovanie
Taliansko	úradý odhalili závod na výrobu alkoholu, ktorý falšuje alkoholické nápoje alkoholom, ktorý nie je určený na ľudskú spotrebu a obsahuje nebezpečné chemikálie	falšovanie
Argentína	úradý zadržali 9 288 fliaš pašovaného vína	čierny trh
Bangladéš	orgány zadržali 16 824 litrov alkoholických nápojov s falošnými dovoznými deklaráciami	čierny trh
Španielsko	úradý zadržali 1 158 fliaš vína s falošnými etiketami od známej značky	nahrádzanie
Portugalsko	orgány zadržali 10 854 fliaš falšovaného šumivého vína	nahrádzanie
Malajzia	úradý zhabali 3 694 pašovaných fliaš a 4 920 pašovaných plechoviek rôznych značiek alkoholu	čierny trh
Čína	úradý zadržali 40 000 fliaš vína s falošnými etiketami od známych značiek a zemepisných označení	nahrádzanie
India	úradý zadržali 24 516 fliaš nelegálneho alkoholu; úradý zhabali 5 000 fliaš falšovaného alkoholu; úradý zhabali celkovo 63 420 fliaš indického zahraničného likéru	čierny trh
Írsko	úradý zhabali 21 230 litrov piva	čierny trh
Írsko	úradý zhabali 900 litrov pašovaného vína	čierny trh
Ekvádor	úradý zhabali 136 084 fliaš pašovaného alkoholu	čierny trh
Taliansko	úradý zadržali 266 litrov pašovaných alkoholických nápojov	čierny trh

Pokračovanie Tabuľky 1		
Krajina	Prípady	Detail
Francúzsko	úradu zadržali 9 900 litrov pašovaného alkoholu	čierny trh
Dominikánska Republika	dve osoby zomreli po požití nelegálneho falšovaného alkoholu	falšovanie
Pakistan	úradu zhabali 28 000 fliaš pašovaného alkoholu	čierny trh
Venezuela	jedenásť ľudí zomrelo po požití likéru vyrobeného remeselne a falšovaného metanolom	falšovanie
India	úradu zhabali 18 120 fliaš rôznych značiek liehovín bez všetkej potrebnej dokumentácie; úradu zadržali 13 845 fliaš nekvalitného a nelegálneho piva a whisky; úradu zadržali 4 920 fliaš nelegálneho rumu a vodky; úradu zhabali 11 688 fliaš pašovaného alkoholu	čierny trh
Rumunsko	úradu zadržali takmer 2 000 litrov pašovaného alkoholu	čierny trh

Čapla a kol. (2019) publikovali prehľad o rôznych typoch cudzorodých látok zistených v potravinách, o ktorých informoval systém RASFF v období rokov 2016 až 2018. Prítomnosť cudzích telies v potravinách z rôznych európskych regiónov vykazovala rozdiely. V západnej Európe boli najčastejšie hlásené plasty, sklo a kovy, v severnej Európe škodcovia a guma. Pokiaľ ide o potravinárske komodity, najčastejšie boli hlásené pekárenské a cukrárske výrobky, ovocie a zelenina a polotovary, pričom oznámenia pochádzali často zo západnej Európy. Oznámenia z tejto časti Európy sa týkali aj iných monitorovaných komodít. Podľa nariadenia (ES) č. 178/2002 je schopnosť vysledovať a sledovať potravinu, krmivo, zvieratá produkujúce potraviny alebo látku určenú na začlenenie do potravín alebo krmív, alebo o ktorej sa predpokladá, že bude začlenená, vo všetkých fázach výroby, spracovania a distribúcie.



Graf 1 Prípady potravinových podvodov v roku 2023 podľa kategórií



Graf 2 Geografické znázornenie podvodov alkoholických nápojov v roku 2023

## ZÁVER

Počas sledovaného obdobia roku 2023 sa objavil významný počet prípadov potravinových podvodov, konkrétne v sektore alkoholických nápojov. Najviac prípadov bolo nahlásených z Talianska, Indie a Kolumbie, pričom sa najčastejšie vyskytovali prípady falšovania a pašovania alkoholu. Tieto praktiky mali negatívny dopad nielen na spotrebiteľov, ktorí boli vystavení nebezpečným a nekvalitným výrobkom, ale aj na samotný trh, ktorý utrpel ekonomické straty. Výsledky tejto štúdie poukazujú na potrebu zlepšiť kontrolné mechanizmy a spoluprácu medzi regulačnými orgánmi na medzinárodnej úrovni s cieľom minimalizovať riziká spojené s potravinovými podvodmi v alkoholickom sektore. Dôležité je tiež zvýšiť informovanosť verejnosti a zintenzívniť opatrenia proti nelegálnej výrobe a distribúcii falšovaných výrobkov, aby bola zabezpečená ochrana spotrebiteľov a integrita trhu. Výsledky štúdie poskytujú podklad pre ďalší výskum a implementáciu efektívnejších opatrení na boj proti potravinovým podvodom.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla s finančnou podporou projektu Agentúry pre podporu výskumu a vývoja – projekt č. APVV-22-0402 a projektu VEGA č. 1/0239/21.

## Kontaktná adresa

Ing. Lucia Benešová, PhD., VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, lucia.benesova@uniag.sk

## LITERATÚRA

- Spink, J., Bedard, B., Keogh, J., Moyer, D. C., Scimeca, J., Vasan, A. 2019. International survey of food fraud and related terminology: Preliminary results and discussion. In *Journal of Food Science*. vol. 84, pp. 2705-2718. Dostupné na: doi: 10.1111/1750-3841.14705
- KC-FFQ. 2022. Food Fraud. In European Commission Official Website. Available at: [https://knowledge4policy.ec.europa.eu/food-fraud-quality/topic/food-fraud\\_en](https://knowledge4policy.ec.europa.eu/food-fraud-quality/topic/food-fraud_en)
- Winkler, B., Maquet, A., Reeves-Way, E., Siegener, E., Cassidy, T., Valinhas De Oliveira, T., Verluyten, J., Jelic, M., Muznik, A. 2023. Fighting fraudulent and deceptive practices in the agri-food chain, EUR 31436 EN. In *Publications Office of the European Union*. Dostupné na: doi:10.2760/31366, JRC131525
- European Commission. 2020a. Food safety: Overview. Available at: [https://ec.europa.eu/food/overview\\_en](https://ec.europa.eu/food/overview_en)
- European Commission. 2020b. About Knowledge Centre for Food Fraud and Quality. Available at: [https://ec.europa.eu/knowledge4policy/food-fraud/about\\_en](https://ec.europa.eu/knowledge4policy/food-fraud/about_en).
- European Commission. 2020c. 17 p. Available at: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud\\_network\\_activity\\_report\\_2016.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud_network_activity_report_2016.pdf).
- Cieslik, E., Cieslik, J. 2012. Food quality and safety. In Horská, Elena. *Food sciences & business studies*. 1<sup>st</sup> ed. Nitra: Slovak University of Agriculture, s. 143-160. ISBN 978-80-552-0815-2.
- Vaqué, L. G., Vidreras, C. 2018. Introducing the European Commission Knowledge Centre for Food Fraud and Quality. In *European Food and Feed Law Review*. vol. 13, no.6, p. 532-536.
- Čapla, J., Zajác, P., Fikselová, M., Bobková, A., Belej, L. 2019. Analysis of the incidence of foreign bodies in European foods. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. vol. 9, p. 370-375. Dostupné na: doi: 10.15414/jmbfs.2019.9.special.370-375
- Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.*

## Funkčné nealkoholické pivo

### Functional non-alcoholic beer

Ján BRUNNER, Peter VAŠTÍK, Daniela ŠMOGROVIČOVÁ

Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave,  
Radlinského 9, 812 37 Bratislava

#### Abstract

This study aimed to characterize probiotic yeasts for potential use in wort fermentation to produce non-alcoholic beer. Two yeast strains, *Saccharomyces boulardii* HANSEN CBS 5926 and *Saccharomyces boulardii* DBVPG 6763, were tested, with *Saccharomyces pastorianus* (Brewferm® Lager) as a control. The probiotic yeasts showed high survival in beer's extreme conditions and the human digestive tract. Non-alcoholic beer was produced using *S. boulardii* HANSEN CBS 5926, with an ethanol content of  $0.45 \pm 0.04\%$  vol. The beer was notably sweet, containing maltotriose ( $9.71 \pm 0.31$  g/L), maltose ( $36.49 \pm 1.36$  g/L), and glucose ( $1.67 \pm 0.23$  g/L). The volatile profile showed no significant sensory compounds except ethyl decanoate, contributing to its sweet aroma.

**Keywords:** beer; probiotic yeasts; non-alcoholic beer; functional beer

#### ÚVOD

Pivovarnický trh neustále rastie, stáva sa čoraz populárnejším a v posledných rokoch prevláda snaha priniesť produkty, ktoré by tento trh obohatili. Povedomie spotrebiteľov o zdravie ovplyvňujúce potraviny sa neustále zvyšuje a práve probiotické nápoje sú vhodnými maticami obsahujúcimi prospešné mikroorganizmy, potenciálne využiteľné po konzumácii produktu (Latif a kol., 2023). Konzumácia probiotík má veľa pozitívnych zdravotných účinkov, medzi ktoré patrí: zníženie rizika rakoviny hrubého čreva, tmenie symptómov intolerancie laktózy, zlepšenie imunitného systému, zvýšenie nutričnej hodnoty produktov, zníženie hladiny cholesterolu a zníženie rizika črevných infekcií (Zendeboodi a kol., 2020; Pimentel a kol., 2018). Do popredia sa dostávajú tzv. „funkčné pivá“, medzi ktoré možno zaradiť pivá s probiotickými vlastnosťami. Keďže je etanol klasifikovaný ako droga, funkčné pivo obohatené o probiotické mikroorganizmy by malo obsahovať <0,5% obj. alkoholu (Senkarcinova a kol., 2019). Najznámejšími mikroorganizmami s probiotickými účinkami sú baktérie mliečneho kvasenia. Jedinou probiotickou kvasinkou je *Saccharomyces boulardii*, ktorá je schopná udržiavať stav gastrointestinálneho traktu na zdravotne vhodnej úrovni. Využitie kvasiniek ako probiotík má veľký potenciál, pretože podobne ako baktérie mliečneho kvasenia sú schopné rásť pri nízkych hodnotách pH, v širokom rozsahu teplôt a pri vysokých koncentráciách solí (Senkarcinova a kol., 2019; Loh a kol., 2021; Mulero-Cerezo a kol., 2019). V predkladanej štúdií sme charakterizovali mikrobiologické vlastnosti dvoch kmeňov probiotickej kvasinky *Saccharomyces boulardii* (HANSEN CBS 5926 a DBVPG 6763), overili sme, či dokážu prežiť v podmienkach žalúdka a piva. Voľbou vhodných podmienok fermentácie sa nám podarilo pripraviť nealkoholické pivo, ktoré sme po zastavení fermentácie pasterizovali. V pasterizovanom pive sme stanovili základné analytické parametre piva (koncentrácia etanolu, stupeň fermentácie,

pH), neprchavé organické molekuly v pive (sacharidy, kyseliny, glycerol a etanol) a prchavý profil piva (vyššie alkoholy, estery, karbonylové zlúčeniny).

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

**Tab. 1** Použité mikroorganizmy

Názov kvasinky	Pracovné označenie
<i>Saccharomyces boulardii</i> HANSEN CBS 5926	Yomogi
<i>Saccharomyces boulardii</i> DBVPG 6763	ExHelico
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Sp

### Testy skvasovania sacharidov

Na určenie schopnosti skúmaných kvasiniek (Tab. 1, s. 2) fermentovať sacharidy bolo použitých šesť rôznych sacharidov – glukóza, maltóza, sacharóza, laktóza a galaktóza. Testy prebiehali počas 48 h, pri teplote 25 °C, v sklenených skúmavkách obsahujúcich obrátenú Durhamovu skúmavku. Počas 48 h sa sledovala zmena farby média (brómtymolová modrá slúžila ako acidobázický indikátor) a tvorba plynu v Durhamových skúmavkách. Testy skvasovania jednotlivých sacharidov prebiehali v troch paralelných skúmavkách pre každú analyzovanú kvasinku.

### Stanovenie koncentrácie buniek

Koncentrácia buniek bola stanovená počítaním jednotlivých buniek pomocou svetelného mikroskopu Leica DM 2500 (Leica Microsystems) s Bürkerovou komorou.

### Stanovenie viability buniek s metylénovou modrou

Viabilita buniek sa stanovila použitím Bürkerovej komory, pričom boli bunky zafarbené použitím 0,1 % hm. metylénovej modrej.

### Stanovenie termotolerancie kvasiniek

Termotolerancia bola stanovená po 24 h inkubácie pri teplote 4 °C, 25 °C a 37 °C v YPD médiu (1 hm. % kvasničného extraktu, 2 hm. % glukózy, 2 hm. % sójového peptónu), pričom inokulačná dávka bola  $1 \times 10^6$  buniek/mL (Tab. 1, s. 2). Termotolerancia bola následne vyjadrená ako počet buniek/mL a percentuálny pomer živých a mŕtvych buniek. Stanovenie termotolerancie prebiehalo v troch paralelných skúmavkách pre každú analyzovanú kvasinku.

### Stanovenie pH tolerancie kvasiniek

pH tolerancia bola stanovená po 24 h inkubácie pri teplote 37 °C v YPD s pH 1; 2; 3; 4; 5; 6,5 (pH bolo upravované 35 % hm. kyselinou chlorovodíkovou), pričom inokulačná dávka bola  $1 \times 10^6$  buniek/mL (Tab. 1, s. 2). pH tolerancia bola následne vyjadrená ako počet buniek/ mL a percentuálny pomer živých a mŕtvych buniek. Stanovenie pH tolerancie prebiehalo v troch paralelných skúmavkách pre každú analyzovanú kvasinku.

### Stanovenie NaCl tolerancie kvasiniek

Tolerancia NaCl bola stanovená po 24h inkubácie pri teplote 37 °C v YPD médiu s výslednou koncentráciou NaCl 0; 2; 4; 6; 8; 10 % hm., pričom inokulačná dávka bola  $1 \times 10^6$  buniek/mL (Tab. 1, s. 2). Tolerancia NaCl bola následne vyjadrená ako počet buniek/mL

a percentuálny pomer živých a mŕtvych buniek. Stanovenie tolerancie NaCl prebiehalo v troch paralelných skúmavkách pre každú analyzovanú kvasinku.

#### **Stanovenie tolerancie kvasiniek na prítomnosť izo- $\alpha$ -horkých kyselín**

Tolerancia izo- $\alpha$ -horkých kyselín bola stanovená po 24h inkubácie pri teplote 37 °C v YPD médiu s výslednou horkosťou 0; 10; 30; 50; 80; 100 IBU (horkosť bola upravená 6% chmelovým extraktom), pričom inokulačná dávka bola  $1 \times 10^6$  buniek/mL (Tab. 1, s. 2). Tolerancia izo- $\alpha$ -horkých kyselín bola následne vyjadrená ako počet buniek/ mL a percentuálny pomer živých a mŕtvych buniek. Stanovenie tolerancie izo- $\alpha$ -horkých kyselín prebiehalo v troch paralelných skúmavkách pre každú analyzovanú kvasinku.

#### **Stanovenie flokulačnej aktivity kvasiniek**

Flokulačná aktivita kvasiniek bola stanovená metódou absorbancie. Kvasinky sa kultivovali v YPD médiu pri 25 °C a 200 rpm počas 24 hodín, s inokulačnou dávkou  $15 \times 10^6$  buniek/mL. Po kultivácii sa 10 mL kultúry rozdelilo do dvoch centrifugačných skúmaviek (A a B).

Skúmavka A: Po centrifugácii (2,5 minúty pri 2500 rpm) sa sediment po odliatí supernatantu rozsuspendoval v 9,9 mL destilovanej vody a 0,1 mL 0,5 mol/L EDTA, vortexoval sa 15 s, zriedil sa a absorbancia sa merala pri 600 nm.

Skúmavka B: Po centrifugácii (2,5 minúty pri 2600 rpm) sa sediment po odliatí supernatantu rozsuspendoval v 10 mL  $\text{CaSO}_4$  roztoku, znovu centrifugoval, a sediment sa rozsuspendoval v 10 mL pufovacieho roztoku. Po homogenizácii sa vzorka pripravila na meranie absorbancie pri 600 nm. Percento flokulácie sa vypočítalo podľa daného vzorca.

$$\text{Flokulácia, \%} = (A - B) / A \times 100$$

A = Absorbancia vzorky A pri 600 nm

B = Absorbancia vzorky B pri 600 nm

#### **Produkcia fenolických pachutí**

Kmene, produkujúce fenolické pachute sú schopné transformovať kyselinu ferulovú na 4-vinylguajakol, ktorý má štiplavú vôňu. Stanovenie prebiehalo počas 48h v skúmavkách s YPD médiom, do ktorého sa pridalo 100  $\mu\text{L}$  1% hm. roztoku kyseliny ferulovej a inokulačná dávka bola  $1 \times 10^6$  buniek/mL (Tab. 1, s. 2), pričom sa ako kontrola použila pozitívna (SafBrew™ LA-01) a negatívna (LalBrew® LoNa™) komerčná kvasinka. Po 48h bol test vyhodnotený senzoricou analýzou.

#### **Príprava mladiny**

Mladina s koncentráciou 8% hm. bola pripravená infúznym rmutovaním v 10 L laboratórnom automatizovanom mikropivovare Braumeister (Spiedel®). Chmeľovar prebiehal 60 minút, použitý chmeľ bol Žatecký poloraný červeňák. Po ukončení chmeľovaru sa mladina preliala do 5 L Erlenmeyerových baniek.

#### **Hlavné kvasenie**

Hlavné kvasenie prebiehalo v 5 L Erlenmeyerových bankách, do ktorých sa pridala inokulačná dávka  $1 \times 10^6$  buniek/mL (Tab. 1, s. 2). Hlavné kvasenie prebiehalo 4 dni pri 10 °C.

#### **Stáčanie a pasterizácia**

Pivo bolo stočené do 0,5 L PET fliašiek pomocou stáčača a následná pasterizácia prebiehala v 10 L kovovom hrnci 15 minút pri teplote 60 °C.

### Stanovenie základných parametrov piva

Základné parametre piva (koncentrácia etanolu, skutočný stupeň fermentácie a pH) sa stanovili pomocou laboratórneho hustomera prepojeného s alkoholmetrom a pH sondou od firmy Anton Paar.

### Stanovenie neprchavých organických látok

Sacharidy, kyseliny, glycerol a etanol v mladine a v pive sa stanovovali kvapalinovou chromatografiou. Na základe kalibračnej závislosti bola metódou HPLC kvantifikovaná koncentrácia sacharidov, kyselín, glycerolu a etanolu. Analýza bola vykonaná systémom Agilent 1260 SERIES, pričom kolónou použitou na separáciu látok bola AMINEX HPX – 87 H (300mm 7.8mm; Bio-Rad, Hercules, CA, USA), ktorá bola vyhriata na teplotu 24–25 °C. Mobilná fáza bola 5 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> s prietokom 0,6 mL/min. Prístroj bol vybavený odpľňovacím zariadením a automatickým dávkovačom vzorky. Nástrek vzorky bol 20 µL. Na detekciu signálu sa použil RID detektor. Kvalitatívne sa organické látky stanovovali porovnaním retenčných časov s retenčnými časmi štandardov a kvantitatívne sa stanovili metódou externej kalibrácie.

### Stanovenie prchavých organických látok

Prchavé látky vo výslednom pive sa stanovili pomocou plynovej chromatografie s FID detektorom. Na stanovenie prchavých látok bol použitý plynový chromatograf 8890 Agilent Technologies a kolónou Agilent 19095F-123 HP-FFAP. Mobilná fáza bol H<sub>2</sub> s prietokom 6,5 mL/min. Kvalitatívne sa prchavé látky stanovovali porovnaním retenčných časov s retenčnými časmi štandardov a kvantitatívne sa stanovili metódou externej kalibrácie.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Testy skvasovania sacharidov

Kvasné testy preukázali, že kvasinky *Saccharomyces boulardii* HANSEN CBS 5926 (Yomogi), *Saccharomyces boulardii* DBVPG 6763 (ExHelico) a *Saccharomyces pastorianus* (Sp) sú schopné skvasovať glukózu, maltózu a sacharózu, výsledky sa zhodujú s literatúrou (Kurtzman a Fell, 2011). Všetky tri kvasinky nie sú schopné skvasovať laktózu, pretože nemajú β-galaktózidázovú aktivitu (Okamoto a kol., 2019). Oba skúmané kmene *Saccharomyces boulardii* nie sú schopné okrem laktózy skvasovať aj galaktózu, čo potvrdili Pais a kol. (2020).

Tab. 2 Testy skvasovania sacharidov kvasinkami (Tab. 1, s. 2)

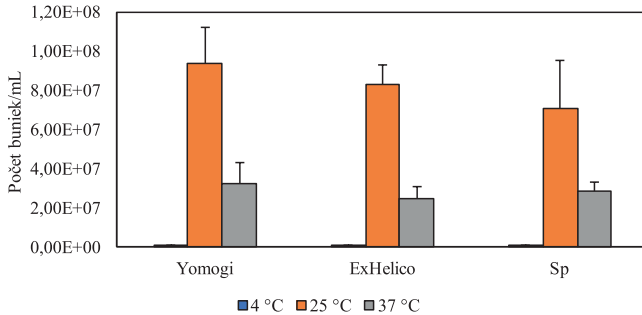
Kvasinka	Glukóza	Maltóza	Sacharóza	Laktóza	Galaktóza
<i>S. boulardii</i> (Yomogi®)	+	+	+	—	—
<i>S. boulardii</i> (ExHelico®)	+	+	+	—	—
<i>S. pastorianus</i>	+	+	+	—	+
(„—“ = neskvasuje daný sacharid, „+“ = skvasuje daný sacharid)					

### Termotolerancia kvasiniek

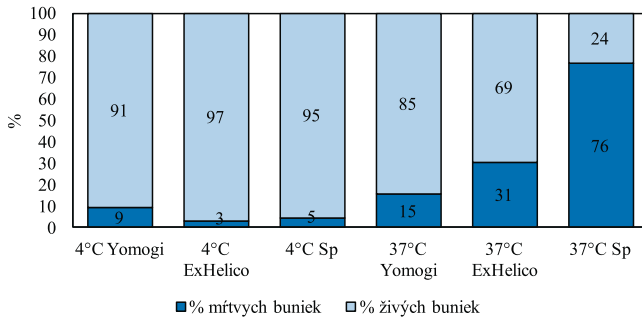
Meraním optickej hustoty pri 600 nm sme zistili, že pri 4 °C rast kvasiniek neprebíha.



Najväčší nárast bol pozorovaný pri 25 °C pre všetky pozorované kmene, čo nesúhlasí s optimálnou teplotou 37 °C pre *S. boulardii* podľa Pais a kol. (2020), ale zhoduje sa s teplotou 30 °C pre *S. pastorianus* podľa Harrison a Albanese (2019). Pri 4 °C kvasinky síce nerastú, ale zostávajú viabilné, čo potvrdzuje Cheung a kol. (2014). Pri 37 °C obidva kmene *S. boulardii* prežívajú (viabilita 85 % pre HANSEN CBS 5926 a 69 % pre DBVPG 6763), zatiaľ čo *S. pastorianus* má viabilitu 24%, môžeme teda konštatovať, že probiotická kvasinka *S. boulardii* má omnoho lepšiu termotoleranciu.



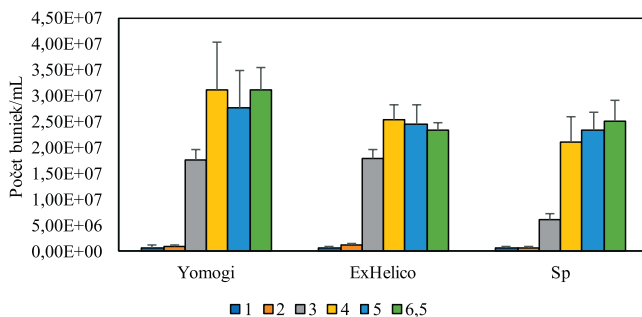
**Obr. 1** Počet buniek kvasiniek (Tab. 1, s. 2) v 1 mL YPD média pri 4 °C, 25 °C a 37 °C



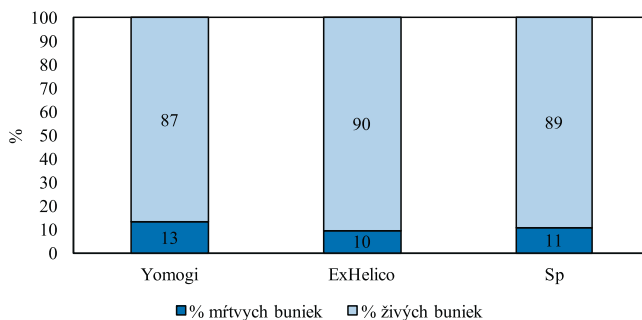
**Obr. 2** Viabilita testovaných kvasiniek (Tab. 1, s. 2) pri 4 °C a 37 °C

### pH tolerancia kvasiniek

Pri pH 1 a 2 nebol zaznamenaný rast kvasiniek po 24 h, no so zvyšujúcou sa hodnotou pH sa zvyšoval počet buniek/mL média. Najvyšší počet buniek sme zaznamenali pri pH 4–6,5, čo sa zhoduje s optimálnym pH pre tieto kvasinky (Graff a kol., 2008). Pri pH 3 všetky skúmané kmene prežívajú s viabilitou 87 % (Yomogi), 90 % (ExHelico) a 89 % (Sp).



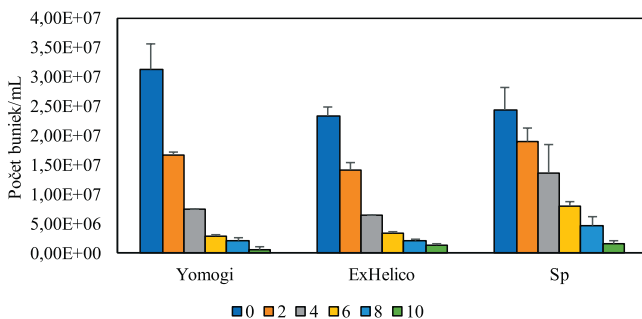
**Obr. 4** Počet buniek kvasiniek (Tab. 1, s. 2) v 1 mL YPD média pri pH 1-6,5



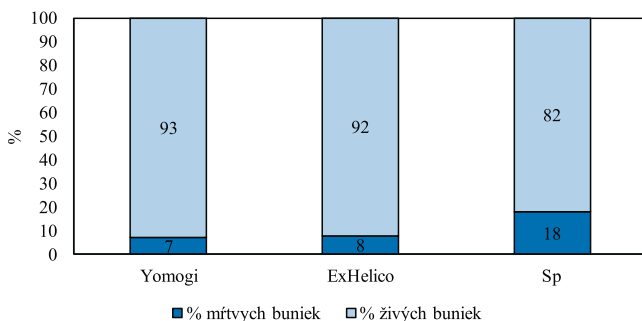
**Obr. 5** Viabilita kvasiniek (Tab. 1, s. 2) pri pH 3

### NaCl tolerancia kvasiniek

Na obrázku 6 pozorujeme, že skúmané kmene boli schopné rásť až do koncentrácie 8 % hm. NaCl. Rovnaké výsledky dosiahli Hossain a kol. (2020) a Logothetis a kol. (2007). Pri najvyššej koncentrácii NaCl (10 %) síce pozorované kmene nerastú ale sú schopné prežívať s viabilitou 93 % (Yomogi), 92 % (ExHelico) a 82 % (Sp).



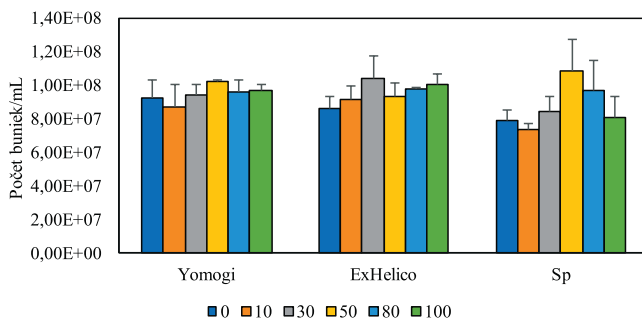
Obr. 6 Počet buniek kvasiniek (Tab. 1, s. 2) v 1 mL YPD média pri 0–10 hm. % NaCl



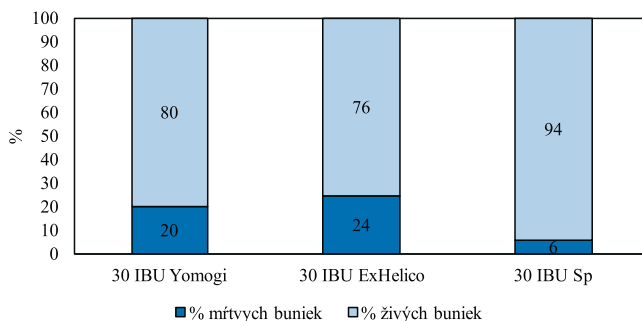
Obr. 7 Viabilita kvasiniek (Tab. 1, s. 2) pri 10% hm. NaCl

### Tolerancia kvasiniek na prítomnosť izo- $\alpha$ -horkých kyselín

Po 24 h bol počet buniek/mL pri všetkých hodnotách IBU rovnaký. Pri koncentrácii izo- $\alpha$ -horkých kyselín 30 IBU, ktorú väčšina nealkoholických pív neprekračuje, skúmané kmene prežívajú s viabilitou 80 % (Yomogi), 76 % (ExHelico) a 94 % (Sp). Probiotické kvasinky *S. boulardii* sú schopné prežiť v širokom rozsahu koncentrácií izo- $\alpha$ -horkých kyselín, čo podporuje použitie týchto kvasiniek v procese fermentácie mladín s rôznymi koncentraciami izo- $\alpha$ -horkých kyselín (Senkarcinova a kol., 2019).



Obr. 8 Počet buniek kvasiniek (Tab. 1, s. 2) v 1 mL YPD média pri 0–100 IBU



Obr. 9 Viabilita kvasiniek (Tab. 1, s. 2) pri 30 IBU

### Flokulačná aktivita

Výsledkom stanovenia bolo zistenie, že všetky skúmané kmene sú mierne flokulujúce, môžeme teda predpokladať, že nedôjde k predčasnému ukončeniu fermentácie alebo k problémom s šírením piva a filtráciou.

Tab. 3 Flokulačná aktivita kvasiniek (Tab. 1, s. 2)

	Flokulačná aktivita (%)
Yomogi	41,0
ExHelico	39,1
Sp	56,3
(< 20% = neflokulujúci kmeň, 20% – 80% = mierne flokulujúci kmeň, > 80% = veľmi flokulujúci kmeň)	

### Produkcia fenolických pachutí

Positívna produkcia fenolických pachutí bola dokázaná u oboch probiotických kmeňov *S. boulardii* HANSEN CBS 5926 (Yomogi) a *S. boulardii* DBVPG 6763 (ExHelico),

naše tvrdenie potvrdili aj Chan a kol. (2023). Spodná pivovarská kvasinka *S. pastorianus* (Sp) fenolické pachute neprodukovala.

**Tab. 4** Produkcia fenolických pachutí kvasiniek (Tab. 1, s. 2)

Kvasinka	
LA01 (pozitívna kontrola)	+++
LONA (negatívna kontrola)	—
Yomogi	++
ExHelico	+
Sp	—
(„—“ = neprodukujúci kmeň, „+“ = slabo produkujúci kmeň, „++“ = stredne produkujúci kmeň, „+++“ = silno produkujúci kmeň)	

#### Koncentrácia etanolu, skutočného stupňa fermentácie a pH

Koncentrácia etanolu je dôležitým analytickým parametrom piva, ovplyvňujúcim jeho plnosť, koloidnú a biologickú stabilitu a kvalitu (Habschied K. a kol. 2022). pH piva je tiež dôležitý ukazovateľ, ktorý ovplyvňuje jeho penivosť, čírosť a mikrobiologickú stabilitu (Siebert K., 2010). V produkovanom pive bola koncentrácia etanolu  $0,45 \pm 0,04\%$  obj., čo spĺňa požiadavky na nealkoholické pivo (30/2014 Z. z.). Priemerná hodnota pH bežných pív je 4,3–4,7, zatiaľ čo naše pivo malo pH  $5,34 \pm 0,11$ , čo bolo dôsledkom krátkočasovej fermentácie, čomu nasvedčuje aj nízky skutočný stupeň fermentácie ( $8,74 \pm 0,70\%$ ) (Bašarová a kol., 2021).

**Tab. 5** Koncentrácia etanolu, skutočného stupňa fermentácie a pH v mladine a v pive

	Koncentrácia etanolu (% obj.)	Skutočný stupeň fermentácie (%)	pH
Mladina	0,00	0,00	$6,49 \pm 0,04$
Pivo	$0,45 \pm 0,04$	$8,74 \pm 0,70$	$5,34 \pm 0,11$

#### Koncentrácia sacharidov, kyselín, glycerolu a etanolu v pive

Sacharidové zloženie piva dokáže výrazne ovplyvniť výslednú chuť piva, vyššie sacharidy (maltotrióza a maltóza) sa podieľajú na tele piva zatiaľ čo nižšie sacharidy (glukóza a sacharóza) prispievajú k sladkej chuti piva (Van Landschoot, 2009). Organické kyseliny majú nielen významný vplyv na kyslú chuť piva ale znižujú pH piva, čo ovplyvňuje kvalitu a stabilitu chuti piva (Li a Liu, 2015). Vo výslednom pive sme zaznamenali minimálny pokles maltotriózy (8,57%) a maltózy (10,98%) a koncentrácia glukózy vo výslednom pive bola  $1,67 \pm 0,23$  g/L, čo malo vplyv na sladký profil piva. Koncentrácie kyselín sú vo výslednom pive nízke takže pH piva bolo vyššie. Stanovením koncentrácie etanolu, ktorá bola  $3,77 \pm 0,31$  g/L a zodpovedá  $0,48 \pm 0,04\%$  obj. etanolu sme dokázali, že sa jednalo o nealkoholické pivo.

**Tab. 6** Koncentrácie sacharidov, kyselín, glycerolu a etanolu v mladine a v pive

	koncentrácia (g/L)	
	Mladina	Pivo
Maltotrióza	10,62 ± 0,29	9,71 ± 0,31
Maltóza	40,99 ± 0,69	36,49 ± 1,36
Glukóza	4,33 ± 0,08	1,67 ± 0,23
Kyselina citrónová	0,08 ± 0,01	0,1 ± 0,00
Kyselina octová	—	0,06 ± 0,01
Glycerol	—	0,29 ± 0,02
Etanol	—	3,77 ± 0,31

**Koncentrácia vyšších alkoholov, esterov a karbonylových zlúčenín v pive**

Medzi najdôležitejšie faktory ovplyvňujúce organoleptickú kvalitu piva patrí prítomnosť vyšších alkoholov, esterov a karbonylových zlúčenín. Väčšina prchavých zlúčenín, ktoré sme stanovili sa vyskytujú v mladine a v pive v nízkych koncentráciách pod prahom vnímania. Jedinou látkou, ktorá sa v pive vyskytovala v nadprahovej koncentrácii ( $\geq 0,2$  mg/L) bol etyl dekanóat ( $1 \pm 0,3$  mg/L), ktorý má sladký, ovocný jablkový aromatický profil (Liu a kol., 2023).

**Tab. 7** Koncentrácia prchavých látok v mladine a v pive

Názov látky	koncentrácia (mg/L)	
	Mladina	Pivo
Acetaldehyd	—	2,5 ± 0,1
Diacetyl	—	—
Acetoin	—	1,2 ± 0,3
2-Metyl-1-propanol (izobutanol)	—	0,5 ± 0,1
3-Metyl-1-butanol (izoamylalkohol)	—	4 ± 1
2,3-Butándiol	1,2 ± 0,9	1,4 ± 0,4
1-Fenyletanol	2,1 ± 1,7	2,1 ± 0,7
2-Fenyletanol	—	0,7 ± 0,2
Etyl oktanoát	—	0,2 ± 0,2
Etyl dekanóat	—	1 ± 0,3
Dietylsukcinát	—	0,9 ± 0,2
Kyselina izobutánová (izomaslová)	—	0,5 ± 0,3
Kyselina hexánová (kaprónová)	—	0,2 ± 0,2
Kyselina oktánová (kaprylová)	—	0,9 ± 0,3
Kyselina dekánová (kaprinová)	—	0,6 ± 0,1

## ZÁVER

Práca sa zaoberala charakterizáciou probiotických kvasiniek *Saccharomyces boulardii*, ich použitím pri výrobe nealkoholického piva a následnou analýzou pripraveného piva. Kvasinky *S. boulardii* HANSEN CBS 5926 a DBVPG 6763 preukázali schopnosť prežiť v podmienkach tráviaceho traktu a piva. Vhodnými fermentačnými podmienkami sme pripravili nealkoholické pivo s kvasinkou *S. boulardii* HANSEN CBS 5926, s obsahom etanolu  $0,45 \pm 0,04\%$  obj. Pasterizáciou sme zastavili fermentáciu a zabránili prekročeniu požadovanej koncentrácie etanolu ( $\leq 0,5\%$  obj.), čím sme z neho urobili pivo postbiotické. Zloženie reziduálnych sacharidov ovplyvnilo sladkú chuť piva, pričom boli namerané koncentrácie maltotriózy ( $9,71 \pm 0,31$  g/L), maltózy ( $36,49 \pm 1,36$  g/L) a glukózy ( $1,67 \pm 0,23$  g/L). Zníženie koncentrácie sacharidov je možné dosiahnuť úpravou rmutovacieho režimu alebo použitím sladov s nízkou aktivitou  $\beta$ -amylázy. Z esterov bol v pive prítomný iba etyl dekanoaát ( $1 \pm 0,3$  mg/L), prispievajúci k sladkému aromatickému profilu. V budúcnosti je dôležité zamerať sa na využitie postbiotík, ktoré majú veľký potenciál, pretože inhibujú rast patogénov, udržiavajú integritu črevnej sliznice a prispievajú k zachovaniu mikrobiálnej rovnováhy. Postbiotiká ponúkajú oproti probiotikám, dlhšiu trvanlivosť, menej náročnejšie skladovacie podmienky a vykazujú lepšiu stabilitu v ľudskom tráviacom trakte, čo z nich robí atraktívnu alternatívu k probiotikám.

## POĎAKOVANIE

Tento článok bol podporený vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied VEGA 1/0063/18, Slovenskou agentúrou pre výskum a vývoj APVV-15-0333 a s podporou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky v rámci Operačného programu Výskum a vývoj pre projekt „Univerzitný vedecký park STU Bratislava“, ITMS 26240220084.

## Kontaktná adresa

Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, e-mail: jan.brunner@stuba.sk

## LITERATÚRA

- BASAŘOVÁ, G. a kol. 2021. Pivovarství teorie a praxe výroby piva. Havlíček Brain Team. Praha. ISBN 978-80-87109-71-7.
- GRAFF, S. a kol. 2008. Influence of pH conditions on the viability of *Saccharomyces boulardii* yeast, *The Journal of General and Applied Microbiology*, Vol. 54, s. 221 – 227. <https://doi.org/10.2323/jgam.54.221>
- HABSCHIED, K. a kol. 2021. Beer Polyphenols—Bitterness, astringency, and off-flavors. *Beverages*, Vol. 7. <https://doi.org/10.3390/beverages7020038>
- HARRISON, M. a ALBANESE, J. 2019. Beer/Brewing, *Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition)*, Academic Press, s. 467 – 477, ISBN 9780128117378, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.13014-6>
- HOSSAIN, M. a kol. 2020. Identification and Growth Characterization of a Novel Strain of *Saccharomyces boulardii* Isolated From Soya Paste. *Frontiers in nutrition*, Vol. 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00027>
- CHAN, M. a kol. 2023. Effect of Co-Fermentation of *Saccharomyces boulardii* CNCM-1745

- with Four Different Probiotic *Lactobacilli* in Coffee Brews on Cell Viabilities and Metabolic Activities. *Fermentation*, Vol. 9. <https://doi.org/10.3390/fermentation9030219>
- KURTZMAN, C. a FELL, J. 2011. *The Yeasts: A Taxonomic Study*. Elsevier. ISBN 9780444521491
- LATIF, A. a kol. 2023. Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 14, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216674>
- LI, G. a LIU, F. 2015. Changes in Organic Acids during Beer Fermentation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, Vol. 73, s. 275–279. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0509-01>
- LIU, G. a kol. 2023. Alcohol acyltransferases for the biosynthesis of esters. *Biotechnology for biofuels and bioproducts*, Vol. 16, s. 93. <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02343-x>
- LOGOTHETIS, S. a kol. 2007. Effect of salt hyperosmotic stress on yeast cell viability, *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, s. 271–284. <https://doi.org/10.2298/ZMSP-N0713271L>
- LOH, L. a kol. 2021. Targeted and Nontargeted Metabolomics of Amino Acids and Bioactive Metabolites in Probiotic-Fermented Unhopped Beers Using Liquid Chromatography High-Resolution Mass Spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 69, s. 14024–14036. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03992>
- MULERO-CEREZO, J. a kol. 2019. *Saccharomyces Cerevisiae* Var. *Boulevardii*: Valuable Probiotic Starter for Craft Beer Production. *Applied Sciences*. Vol. 9, s. 3250. <https://doi.org/10.3390/app9163250>.
- OKAMOTO, K. a kol. 2019. Production from Cheese Whey and Expired Milk by the Brown Rot Fungus *Neolentinus lepideus*. *Fermentation*, Vol. 5. <https://doi.org/10.3390/fermentation5020049>
- PAIS, P. a kol. 2020. *Saccharomyces bouvardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic? *Journal of fungi*, Vol. 6. <https://doi.org/10.3390/jof6020078>
- PIMENTEL, T. a kol. 2018. *Minas frescal cheese as a probiotic carrier*. *Bioactive Molecules in Food*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6\\_66](https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_66)
- SENKARCINOVA, B. a kol. 2019. Probiotic alcohol-free beer made with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulevardii*, *LWT*, Vol. 100, s. 362–367, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.082>
- SIEBERT, K. 2007. The Effect of Beer pH on Colloidal Stabilization with Adsorbents. *Journal of The American Society of Brewing Chemists – ASBC*. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2007-0115-01>.
- VAN LANDSCHOOT, A. 2009. Saccharides and sweeteners in beer. *Cerevisia*. Vol. 34. s. 19–25.
- ZENDEBOODI, F. a kol. 2020. Probiotic: conceptualization from a new approach, *Current Opinion in Food Science*, Vol. 32, s. 103–123, ISSN 2214-7993, <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.009>



## Quality of black pepper from the Czech Republic's trade network

Pavel DIVIŠ and Marek LAMPLOT

*Brno University of Technology, Faculty of Chemistry*

### Abstract:

The study evaluated piperine extraction efficiency using different solvents and found acetone most effective, with 15 minutes as optimal extraction time. Increased time led to piperine degradation. Water content in tested samples ranged from 7% to 15%, meeting legal limits except one sample, likely due to air humidity contamination. Piperine content in black pepper varied from 42 to 82 mg/g, aligning with studies of other authors. Statistically significant differences in piperine content in black pepper purchased from the market suggest variability in pepper origin and quality.

### INTRODUCTION:

Since ancient times, pepper has been one of the world's most important spices. It played a central role in the medicine of ancient India and China, became a key ingredient in Roman cuisine, and remained a staple spice in medieval European cooking (Cobb, 2018). Pepper is the fruit of a climbing perennial plant from the Piperaceae family, known as the black pepper plant (*Piper nigrum*). Three varieties of pepper—black, green, and white—are harvested from the plant, with differences arising from variations in harvest times and processing methods (Dhas and Korikanthimath, 2003).

Global pepper production has grown significantly, increasing by 72% from 234,418 tons in 2010 to 561,500 tons in 2020, driven by high demand. According to the International Pepper Organization (IPC), Vietnam alone exported over 282,000 tons in 2020, accounting for nearly 60% of global exports (Nair, 2020). In 2021, export prices for black pepper rose in most major producing countries, except Indonesia.

Forecasts suggest that global pepper demand reached approximately 510,000 tons in 2021, growing annually by 2–3%, while production is increasing at a higher rate of 8–10%. Global production is projected to exceed 660,000 tons by 2021 and could reach 1 million tons by 2050. However, demand is expected to grow more slowly than supply. The largest importers of pepper are the United States, China, and South Korea (International Pepper Community, 2021). In 2023, the Czech Republic imported approximately 1.51 million kilograms of dried pepper, with a total value of around \$9.46 million (6W Research, 2024).

In the Czech Republic, the quality of pepper is regulated by the Decree of the Ministry of Agriculture No. 398/2016 Coll. For whole black pepper, the maximum allowable moisture content is 14% by weight, with a total ash content in dry matter not exceeding 6% and a minimum essential oil content of 2% (ml/100 g) in dry matter. Impurities are also strictly controlled, allowing up to 4% organic own impurities, 0.5% organic foreign impurities, and 0.5% inorganic impurities. For ground or crushed black pepper, the decree mandates a minimum essential oil content of 0.8% (ml/100 g) in dry matter and limits acid-insoluble ash to a maximum of 1.2% by weight. Both whole and ground black pepper

must have a piperine content of at least 4.0% by weight, ensuring its quality and pungency meet established standards.

This work focuses on the analysis of pepper purchased from the trade network in the Czech Republic. Its aim is to verify whether the quality of pepper sold in the country complies with current legislation, particularly regarding the content of piperine, the active component.

## MATERIAL AND METHODS:

All reagents used in this study were of analytical grade. The study was conducted with these substances: Ethanol (absolute, Fisher Scientific), Acetone (Fisher Scientific), Acetonitrile (VWR Chemicals), Acetic acid (Penta), Methanol (Sigma-Aldrich), Piperine ( $\geq 97\%$ , Sigma-Aldrich), Karl-Fisher titration solution (Hydranal, Honeywell). All water used in this study was ultrapure water with resistivity of 18 M $\Omega$ cm. In total, 10 different samples of black pepper was purchased in the local markets in Brno (Czech Republic).

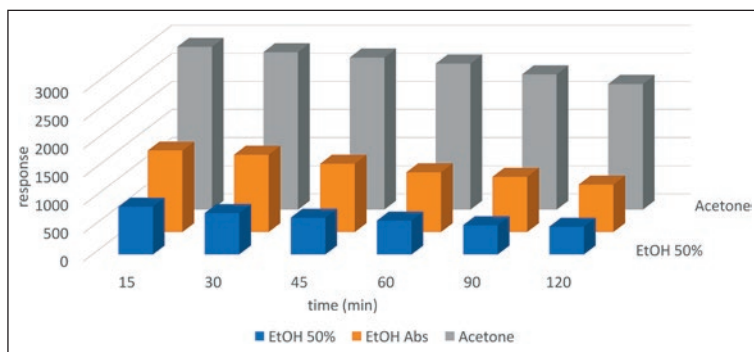
In the analytical part of this study following instruments were used: Liquid chromatograph (Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies): The mobile phase consisted of 60% acetonitrile and 40% 1% acetic acid solution (diluted with distilled water). The stationary phase used was the Kinetex EVO C18. The mobile phase flow rate was 0.700 ml/min, with a sample injection volume of 5  $\mu$ l. The column temperature was set to 30°C. The detector used was a DAD at a wavelength of 340 nm, and a mass detector with electrospray ionization, with the signal detected at a mass of 286.1. The analysis time for each sample was set to 20 minutes. The retention time for piperine was, on average, 4.5 minutes. Karl-Fisher titrator (KF831, Metrohm).

## RESULTS AND DISCUSSION:

At the beginning of the experiment, the efficiency of piperine extraction using various solvents was tested. Specifically, the use of absolute ethanol, a 50:50 mixture of ethanol and water, and acetone was evaluated. The effect of extraction time on piperine yield was also investigated. As can be seen in the Figure 1, an extraction time of 15 minutes was sufficient for extraction. With increased extraction time, the concentration of piperine in the extract decreased, possibly due to piperine degradation (Quijia and Chorilli, 2019). In terms of solvent choice, acetone was found to be the most effective. Absolute ethanol could also be used, although smaller yields were achieved. In contrast, dilute ethanol was found to be the least satisfactory.

The water content of the analyzed samples ranged from 7% to 15% (Table 1). According to Decree No. 398/2016 Coll., the maximum allowed water content is 14%. Based on the measurements, it can be stated that all tested samples comply with the applicable legislation. For sample 7, where the water content was slightly above 14%, it is possible that the sample absorbed air humidity during handling.

The piperine content in pepper should be at least 4% by weight according to Decree No. 398/2016 Coll. From Table 1, it can be seen that the piperine content in the examined samples ranged from 42 to 82 mg/g dry weight, so all samples met the requirements of the applicable legislation. The measured piperine content in the analyzed samples was comparable to studies conducted by Paracampo *et al.* (2020), who analyzed 23 samples of pepper from Brazil and determined piperine content in the range of 37 to 72 mg/g. Similarly, Park



**Figure 1:** Extraction efficiency of piperine using various solvents and extraction times

*et al.* (2020) analyzed 140 pepper samples from Vietnam and reported piperine content between 31 and 65 mg/g.

**Table 1:** Water content and piperine content in analysed samples

Sample No.	Water content (%)	Piperine content (mg/g) d.w.
1	12,8 ± 0,2	72,2± 2,4
2	9,10± 0,2	52,8± 2,7
3	8,00 ± 0,2	42,4± 0,4
4	8,20 ± 0,1	53,2± 0,4
5	13,9 ± 0,2	49,2± 1,3
6	13,6 ± 0,2	46,1± 0,9
7	14,9 ± 0,3	88,4± 5,7
8	11,6 ± 0,2	60,8± 0,8
9	11,5 ± 0,1	55,1± 1,5
10	7,50 ± 0,2	68,0± 2,9

Table 2 shows the differences in piperine content among the individual samples. With only few exceptions, the differences in piperine content among the pepper samples were statistically significant, which may indicate differences in the origin of the pepper. This also suggests that the quality of pepper available on the market varies, although in all cases it complies with the applicable legislation.

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	-	**	**	**	**	**	**	**	**	ns
2	**	-	**	ns	**	**	**	**	ns	**
3	**	**	-	**	**	**	**	**	**	**
4	**	ns	**	-	**	**	**	*	ns	**
5	**	**	**	**	-	ns	**	**	**	**
6	**	**	**	**	ns	-	**	**	**	**
7	**	**	**	**	**	**	-	**	**	**
8	**	**	**	*	**	**	**	-	*	**
9	**	ns	**	ns	**	**	**	*	-	**
10	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	-

Figure 2: Results from one-way ANOVA test comparing the difference between the samples in term of piperine content. ns = not significant  $p > 0.05$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

## CONCLUSION

In conclusion, the study highlighted acetone as the most effective solvent for piperine extraction, with a 15-minute extraction time yielding optimal results. Prolonged extraction reduced piperine concentration, likely due to degradation. All analyzed samples met legal water content requirements, except one, where handling may have caused excess moisture. Piperine content across samples ranged from 42 to 82 mg/g dry weight, satisfying legal standards and aligning with findings from previous studies on Brazilian and Vietnamese pepper. Statistically significant differences in piperine content suggest variability in pepper origin and quality, though all samples complied with applicable legislation. This underscores the need for standardized quality assessment in market-available pepper.

## REFERENCES:

- 6Wresearch. (n.d.). Czech Republic Pepper Market. Retrieved November 19, 2024, from <https://www.6wresearch.com/industry-report/czech-republic-pepper-market>
- Bhatkar, N.S., Shirkole, S.S. (2023). Future prospect and global market demand for dried herbs, spices, and medicinal plants. In *Drying of Herbs, Spices, and Medicinal Plants*, CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003269250>
- Charles, D.J. (2012). Black Pepper. In: *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4310-0\\_44](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4310-0_44)
- Cobb, M. (2018). Black Pepper Consumption in the Roman Empire. *Journal of the Economic and Social History of the Orient*, 61(4), 519-559. <https://doi.org/10.1163/15685209-12341462>
- Dhas, P.A., Korikanthimath, V.S. (2003). Processing and quality of black pepper: a review. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 12(1), 1-14.
- International Pepper Community. (2021). *Pepper Statistical Yearbook 2021*. International Pepper Community. Retrieved November 19, 2024, from <https://w3.ipcnet.org/>
- Nair, K.P. (2020). The Future of the Global Pepper Economy. In: *The Geography of Black Pepper (Piper nigrum)*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-52865-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-52865-2_10)

- Paracampo, N.E.N.P., Abreu, L.F., Lemos, O.F., Both, J.P.C.L. (2022). Quality of black pepper produced in northeastern Pará. *Revista de Agricultura Neotropical*, 9(3), e7020. <https://doi.org/10.32404/rean.v9i3.7020>
- Park, J.R., Kang, H.H., Cho, J.K., Moon, K.D., Kim, Y.J. (2020). Application of Non-Destructive Rapid Determination of Piperine in *Piper nigrum* L. (Black Pepper) Using NIR and Multivariate Statistical Analysis: A Promising Quality Control Tool. *Foods*, 9(10), 1437. <https://doi.org/10.3390/foods9101437>
- Quijia, C.R., Chorilli, M (2019). *Characteristics, Biological Properties and Analytical Methods of Piperine: A Review, Critical Reviews in Analytical Chemistry*, <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1573656>

## Kontrola dátumu spotreby a dátumu minimálnej trvanlivosti v obchodnej sieti

### Checking the date of consumption and the date of minimum durability in the shopping network

Jozef GOLIAN, Filip DVORSKÝ

*Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre,  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra*

#### Abstract

In the work, we evaluated a questionnaire aimed at obtaining the opinions of consumers on checking the use-by date and the date of the minimum shelf life of food. With the questionnaire, we addressed a total of 378 respondents of different age structures from individual regions of Slovakia. In the questionnaire, we asked a total of 20 questions in closed form. The answers obtained from the respondents indicate a shift in consumer awareness in the area of knowledge about the use-by date or minimum shelf life date. A positive finding is that up to 77.2% of respondents check the expiration date of food when buying food. Almost 2/3 of the respondents buy food 2-3 times a week, which means that they do not stock up and try to have fresh food at home. Planning purchases is a priority for about 1/3 of the respondents, which we recommend increasing. Consumers largely do not buy food with damaged packaging or after the expiry date. We see this finding as a significant shift in consumer behaviour, as is the ability to tell the difference between a use-by date and a best before date. However, consumers do not tend to always check the expiration date or minimum durability date, only 159 respondents check them regularly.

**Keywords:** food, expiry date, best before date, safety

#### ÚVOD

Vzhľadom na snahu znížiť plytvanie potravinami vznikli niektoré otázky týkajúce sa možnosti zmeny označovania dátumu na potravinách a zodpovednosti prevádzkovateľov potravinárskych podnikov v tejto súvislosti. Ak má údaj o trvanlivosti na etikete potravinárskeho výrobku nadmernú rezervu - t. j. dátum je zbytočne skorý - môže to mať za následok plytvanie potravinami, keďže dobré potraviny spotrebiteľia siahnu z regálu alebo vyhodia. Vzhľadom na tieto skutočnosti boli položené otázky týkajúce sa možnosti zmeny zákonných pravidiel týkajúcich sa označovania trvanlivosti a zodpovednosti za výrobok vrátane uplynutia platnosti týchto dátumov. Ako uvádza Aschemann-Witzel *et al.* (2021), povinnosť označiť výrobok dátumom spotreby má prevádzkovateľ potravinárskeho podniku, ktorý rozhoduje, dokedy je ochotný a schopný zaručiť kvalitu alebo bezpečnosť výrobku.

Pohorelá (2021) uvádza, že dátum spotreby je dátum, do ktorého je potravinu bezpečné konzumovať. Označujú sa ním potraviny, ktoré podliehajú rýchlej skaze (najmä čerstvé potraviny ako napríklad čerstvé mäso, čerstvé syry). To znamená, že pri potravinách, ktoré sa rýchlo kazia a z tohto dôvodu môžu po krátkom čase predstavovať riziko pre zdravie

ľudí, sa dátum minimálnej trvanlivosti nahrádza dátumom spotreby. Po uplynutí dátumu spotreby už potravinu nie je zo zdravotného hľadiska bezpečná, t. j. neodporúča sa ju konzumovať, a to ani za predpokladu, že boli dodržané podmienky skladovania. V opačnom prípade hrozia zdravotné komplikácie. Jednoducho povedané, po uplynutí dátumu spotreby sa potravinu považuje za nebezpečnú.

Hlavným rozdielom podľa Yassina et Soaresa (2020) je, že dátum minimálnej trvanlivosti sa týka kvality potravín, zatiaľ čo dátum spotreby sa týka ich bezpečnosti. Potraviny po dátume spotreby by sme nemali konzumovať, ale potraviny po dátume minimálnej trvanlivosti môžeme konzumovať, ak vyzerajú, voňajú a chutia dobre. Informácie o dátumoch expirácie je možné získať z obchodných rád, domácich právnych predpisov (zákon o komoditách), európskych právnych predpisov a celosvetových noriem *Codex Alimentarius*. Rôzne organizácie podľa Soethoudta *et al.*, (2013) poskytujú tieto informácie o dátumoch spotreby výrobcom, maloobchodníkom aj spotrebiteľom.

Hoci vlády zaviedli predpisy na informovanie spotrebiteľov o dôležitých vlastnostiach výrobkov a na ochranu spotrebiteľov pred klamlivými informáciami, empirický výskum o tom, ako spotrebiteľia interpretujú a vnímajú obaly potravín, často ukázal, že spotrebiteľia môžu byť zavádzaní spôsobom prezentácie informácií a dizajnom obalov. Jasnosti vo formuláciách, použití obrázkov a štýle zobrazovania môžu ovplyvniť dojmy, ktoré si spotrebiteľia vytvoria. Schifferstein *et al.* (2021) uvádza, že na podporu rozhodovania spotrebiteľov by zákonodarcovia nemali poskytovať len pravidlá a predpisy, ktoré sú formálne správne, ale mali by zohľadniť aj účinky, ktoré môže mať správa a spôsob jej komunikácie (napr. obsah, typ písma, veľkosť, použitie obrázkov, štylistické prvky) na kupujúcich.

Popri opise povinných údajov Nariadenie o poskytovaní informácií o potravinách (FIC) v článku 36 ustanovuje, že dobrovoľne poskytované informácie nesmú uvádzať spotrebiteľov do omylu a v príslušných prípadoch by mali byť založené na relevantných vedeckých údajoch. V mnohých prípadoch však býva otázne, čo presne je a čo nie je klamlivé. Preto zo všeobecnej zásady v potravinárskom práve, ktorá hovorí o ochrane spotrebiteľov pred klamlivými a nebezpečnými potravinami, boli odvodené špecifickejšie predpisy ako uvádza Schifferstein *et al.* (2021).

Ako uvádzajú rôzne zdroje (Dogan, Birant, 2021, Kavanaugh, Quinlan 2020, Van Royen *et al.* 2022), existuje niekoľko metód označovania dátumu spotreby na výrobku, ktoré sa líšia typom informácií, ktoré poskytujú, nákladmi a časom potrebným na označenie a tým, ako ľahko sa informácie čítajú. Najjednoduchšou metódou je označenie dátumu minimálnej trvanlivosti (dátum minimálnej trvanlivosti) na výrobkoch s nízkym rizikom. Môže to byť pomocou gumovej pečiatky s vymeniteľnými znakmi a pohyblivým písmom na vytvorenie dátumu minimálnej trvanlivosti alebo napísaním dátumu za slová „minimálna trvanlivosť do“ pomocou kódovacieho atramentu. Variantom tejto metódy je použitie jednorazovej etikety s predtlačným dátumom minimálnej trvanlivosti v kombinácii s ručnou etiketovacou pištoľou, ktorú možno nastaviť tak, aby vytlačila dátum balenia a počet dní s odstupom od dátumu minimálnej trvanlivosti. Ďalšou jednoduchou metódou je vytlačiť dátum ako súčasť čísla šarže. Môže mať podobu blokového kódu, ktorý sa aplikuje pomocou šablóny a valčeka s rýchlo schnúcim atramentom, alebo vopred pripraveného typu a ohrievacieho prvku, najčastejšie systému „horúcej fólie“. Hoci blokovaný kód bude viditeľný, bez kľúča nebude ľahké odlišiť dátum od zvyšku kódu a môže byť ťažké zistiť životnosť výrobku. Pri systéme s horúcou fóliou sa používajú špecifické typy kódovania dátumu, ktoré sa zvyčajne musia špeciálne objednať. Výhodou tejto metódy je,

že sa zaznamenáva typ označenia dátumu a životnosť výrobku. To je užitočné, keď sa spoločnosť snaží zúžiť príčinu chyby tlače, ktorá viedla k nedostatočnému alebo nadmernému označovaniu výrobkov.

Cieľom našej práce bolo na základe dotazníka vyhodnotiť názory spotrebiteľov na kontrolu dátumu spotreby a dátumu minimálnej trvanlivosti.

## MATERIÁL A METODIKA

V práci sme vyhodnotili výsledky anonymného dotazníka s názvom „Kontrola dátumu spotreby a dátumu minimálnej trvanlivosti“. Zámerom dotazníka bolo zistiť stav postojov spotrebiteľov ku kontrole DMT a DMS na obale potravín, ich prípadnému poškodeniu a stavu tovaru v obale. Odpovede v dotazníku sme analyzovali a vyhodnotili graficky aj percentuálne. Dotazník vyplnilo 379 respondentov a pýtali sme sa ich na 19 otázok. Charakteristika respondentov: Na odpovede reagovalo 231 žien, čo predstavuje 60,9 % všetkých respondentov a 148 mužov, čo je 39,1 %. Čo sa týka veku, tak 217 respondentov malo od 20 do 30 rokov, 45 respondentov malo menej ako 20 rokov, vo veku od 31 do 59 bolo 109 respondentov a s vekom nad 60 rokov odpovedali na otázky v dotazníku 8 respondenti. Stredoškolské vzdelanie bez maturity malo 31 respondentov dotazníka, stredoškolské s maturitou malo 172 respondentov, vysokoškolské vzdelanie malo 141 respondentov a k základnému vzdelaniu sa prihlásilo 35 respondentov. Z hľadiska pracovného zaradenia dotazník zaevidoval 190 zamestnaných, 6 dôchodcov, 158 študentov, 10 nezamestnaných a 15 boli na materskej dovolenke. V byte býva z nich 148 respondentov, v dome 59 a v dome so záhradou 172. Z celkového počtu 379 respondentov bolo 10 vegánov/vegetariánov.

## VÝSLEDKY PRÁCE

V práci sme vyhodnotili názory 379 respondentov, ktorí odpovedali na 20 uzatvorených otázok v dotazníku online formou. Pri niektorých otázkach niektorí respondenti neodpovedali a nevyjadrili tak svoj názor. Na základe vyhodnotenia jednotlivých otázok z dotazníkov konštatujeme nasledovné zistenia:

Väčšina z nich (77,2 %) si uvedomuje dôležitosť kontroly dátumu spotreby pri nákupe potravín a 17,2 % respondentov nekontroluje dátum spotreby, čo môže viesť k plytvaniu potravinami a zdravotným rizikám.

Frekvencia nakupovania môže súvisieť s domácou produkciou potravín, životným štýlom, blízkosťou obchodu, akciovým predajom a podobne, keďže väčšina respondentov (58,2 %) nakupuje potraviny 2 – 3 krát za týždeň, čo je z hľadiska čerstvosti, rôznorodosti a objemu nákupov ideálne. Nákupy raz za týždeň preferuje 24,3 % respondentov a nákupy každý deň robí 13,8 % respondentov.

Plánovanie nákupov potravín môže viesť k nižším výdavkom, zdravšiemu stravovaniu a menšiemu plytvaniu potravinami, keďže 42,3 % respondentov plánuje nákupy potravín, čo indikuje finančnú stabilitu alebo záujem o zdravý životný štýl. 48,7 % respondentov plánuje nákupy niekedy, s rôznymi faktormi ovplyvňujúcimi túto voľbu, ako napr. akcie v obchodoch či tvorba zásob, 8,4 % respondentov nákupy neplánuje.

Nákup potravín len podľa potreby je ekonomický a ekologický, avšak v kontexte pandémie a inflácie sa stáva bežným aj nákup do zásoby, pretože 19,8 % respondentov nakupuje len toľko, koľko spotrebuje, čím predchádza plytvaniu potravinami. Až 65,3 % respondentov nakupuje podľa potreby, ale občas využije zľavy, čo môže indikovať nákupy do zásoby



vplyvom pandémie. Len 14,8 % respondentov nakupuje vždy potraviny do zásoby s využitím zliav, pravdepodobne z dôvodu inflácie a snahy o úsporu.

Nákup výrobkov s poškodeným dátumom je rizikový a neodporúča sa, čím sa riadi aj väčšina respondentov (220), ktorí by si výrobok s poškodeným dátumom spotreby/trvanlivosti z obavy o bezpečnosť potravín a zdravie nekúpili. 38 respondentov by si ho kúpilo, 78 z nich by sa riadilo viditeľnosťou výrobku v obale a 42 by upozornilo obchod.

Väčšina respondentov (70,55 %) pozná rozdiel medzi DMT a DS, čo je pozitívne pre ochranu spotrebiteľov. Len 6,9 % respondentov rozdiel nepozná a 22,5 % si nie je istých. Je dôležité vzdelávať túto menšiu skupinu o rozdiel. Aj keď je percento znalosti vysoké, existuje riziko, že respondenti rozdiel nerozumejú dostatočne hlboko.

Väčšina respondentov (159) kontroluje DMT a DS pri nakupovaní, 156 občas, 29 nikdy. Z nich 31 kontroluje len dátum spotreby a 3 len DMT. Je dôležité, aby všetci spotrebiteľia kontrolovali DMT a DS pre čerstvosť a bezpečnosť potravín.

Je dôležité kontrolovať potraviny po záruke pred konzumáciou, ale je na individuálnom posúdení, či sú vhodné na konzumáciu. Väčšina respondentov (78,3 %) skontroluje potraviny po záruke a skonzumuje ju, ak je v poriadku. Menšia skupina (21,7 %) potraviny po záruke vždy vyhodí.

Väčšina respondentov (190) je ľahostajná k produktom po dátume spotreby. Je dôležité, aby si spotrebiteľia uvedomovali riziká konzumácie potravín po dátume spotreby a informovali predavačov o nesprávnom označení.

Je nevyhnutné, aby obaly potravín obsahovali všetky relevantné informácie pre informované rozhodnutie o kúpe. Zároveň by mali obsahovať len potrebné informácie, aby sa predišlo zahlteniu spotrebiteľov.

Až 55,8 % respondentov má záujem o možnosť klásť doplňujúce otázky pri obslužných pultoch, aby získali informácie a poradenstvo pri nákupe. Až 44,2 % respondentov o túto možnosť nemá záujem.

Názory na označovanie čerstvého pečiva dátumom spotreby sú rozdielne. Až 144 respondentov je za, 130 proti a 104 sa nevie rozhodnúť.

S cieľom minimalizovať zbytočnú spotrebu a plytvanie potravinami je potrebná jasnejšia informácia o trvanlivosti pre spotrebiteľov, keďže názory na trvanlivosť krabicového mlieka sa líšia. Najčastejšie uvádzaná trvanlivosť je 6 mesiacov (124 respondentov), nasleduje 3 mesiace (115 respondentov).

Väčšina respondentov preferuje kontrolu a konzumáciu podľa stavu. Existuje ale rôznorodosť postupov. Za vyhodenie bolo 94 respondentov, za kontrolu a konzumáciu podľa stavu bolo 143 respondentov, a konzumáciu do dátumu spotreby uprednostňuje 140 respondentov.

Pri potravinách po dátume minimálnej trvanlivosti 65,1 % kontroluje ich organoleptické vlastnosti a potom sa rozhodne. Vyhodí ju 10,3 % a skonzumovanie do dátumu preferuje 24,6 %.

Respondenti majú obavy o bezpečnosť potravín v reštauráciách, keďže 329 respondentov si myslí, že sa v reštauráciách dátumy nedodržia alebo nevedia to jednoznačne posúdiť. Len 12,6 % respondentov si bolo istých, že v reštauráciách sa DMT a DS striktné dodržia.

Až 68,5 % respondentov vníma potraviny po dátume spotreby ako významný príspevok k plytvaniu potravinami. Len 26,2 % si myslí, že vplyv je menší a 5,3 % uviedlo nízky vplyv (Graf 1).

Väčšina respondentov (88,6 %) sa stretla s predajom potravín so zľavou pred skončením dátumu spotreby, kedy sa predajcovia snažia minimalizovať odpad potravín a zákazníci si kupujú potraviny za zvýhodnenú cenu. Malá časť respondentov (5,3 %) sa s takýmto predajom nestretla a 6,1 % respondentov to nevedelo posúdiť (Graf 2).



**Graf 1** Grafické znázornenie odpovedí na otázku: „Do akej miery prispievajú potraviny po dátume spotreby k plytvaniu potravinami“?



**Graf 2** Grafické znázornenie odpovedí na otázku: „Predávajú sa v predajniach kde nakupujete aj potraviny so zľavou pred ukončením dátumu spotreby“?

## DISKUSIA

Dôležitými aspektmi rozhodovania spotrebiteľa pri výbere a nákupe potravín sú kvalita a vlastnosti konzumovaných potravín. Spotrebiteľia viac sledujú výživové a zdravotné tvrdenia o potravinách, ktoré však nie sú vždy pravdivé. Pre spotrebiteľov sú údaje uvedené na obaloch potravín zdrojom informácií pri ich rozhodovaní o kúpe. Všetky uvádzané informácie nesmú spotrebiteľa uvádzať do omylu, musia byť čitateľné presné, jasné a zrozumiteľné. Potravinám alebo výrobkom z nich nesmú pripisovať vlastnosti, ktoré môžu zabrániť chorobe, alebo ju zmierniť alebo vyliečiť. Všetky uvádzané údaje musia byť uvedené v jazyku zrozumiteľnom v príslušnej krajine. Za správne uvedené informácie zodpovedá prevádzkovateľ potravinárskeho podniku, pod ktorého menom alebo obchodným názvom sa potravina umiestňuje na trh (Informačné centrum bezpečnosti potravín, 2018).

Keďže informácií na etiketách výrobkov je pomerne dosť, spotrebiteľia ich všetky nevšímajú ako potrebné. Z našich zistení je podstatné, že len veľmi malý počet respondentov (29) si neoveruje údaje o spotrebe resp. trvanlivosti potravín.

Významným faktorom ovplyvňujúci správanie spotrebiteľa je aj cena a rôzne zľavnené akcie. V oblasti ochrany spotrebiteľa sa najčastejšie stretávame s nekalými obchodnými

praktikami zo strán podnikateľov. Nekalosť spočíva v jednaní v rozpore s požiadavkami náležitej profesionálnej starostlivosti tak, že ovplyvňuje spotrebiteľa podstatným spôsobom natolko, že spotrebiteľ urobí svoje rozhodnutie inak, než ako by ho býval urobil nebyť tohto nekalého konania (Vítová, Etlíková, 2017).

Predávajúci sú z hľadiska ekonomickej sily spravidla v prevahe, a preto sa snažia spotrebiteľa ovplyvniť vo svoj prospech práve v štádiu jeho rozhodovania. Klamlivá reklama je zakázaná, klamaním spotrebiteľa dochádza k ovplyvňovaniu jeho ekonomického správania (Týč, 2017).

Na falšovanie potravín dopláca vždy spotrebiteľ, ktorý vynakladá svoje prostriedky za nekvalitné potraviny alebo potravinové výrobky. Takýto výrobok nemá pravdivo označené svoje zloženie a spotrebiteľ je týmto správaním oklamáný. Právnymi predpismi na ochranu spotrebiteľa, označovaním potravín sa zaoberá Nariadenie (EÚ) 1169/2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom. Kontroly zameriavajúce sa na označovanie alebo falšovanie potravín. Za neštandardné môžeme považovať aj predaj potravín po DS/DMT, znepokojujúce je však naše zistenie, že až 190 respondentov nevenuje pozornosť výrobkom nájdeným po DS/DMT a len 5 respondentov napíše sťažnosť. Toto potom vedie obchodníkom k tomu, že problému nevedujú zvýšenú pozornosť a tovar neodstraňujú z regálov a pulov.

V rámci úradných kontrol vykonaných Štátnou veterinárnou a potravinovou správou SR sa na popredných miestach nachádza predaj potravín po dátume spotreby resp. dátume minimálnej trvanlivosti. V roku 2023 bol celkový počet kontrol s nedostatkami v DM/DMT 229 a v rámci nich bolo zistených 1 083 nedostatkov, čo je takmer 5 nedostatkov zistených pri jednej kontrole (Bíreš, 2024)

Naším zásadným zistením je aj fakt, že takmer polovica respondentov nemá dôveru v tom, že reštaurácie striktné dodržiavajú DS/DMT. Táto nedôvera často pramení aj z vlastných zistení kvality ponúkanej stravy. Pozitívne však môžeme hodnotiť fakt, že až 259 respondentov si myslí, že potraviny po dátume spotreby prispievajú k vysokej miere k ich plytvaniu. Aj tu je potrebné vzdelávanie spotrebiteľov najmä ohľadom veľkosti a sortimentu nákupov ako aj systémov stravovania. V súčasnom období sa už v predajniach rozšíril predaj potravín so zľavou pred ukončením dátumu spotreby, čo uviedlo 334 respondentov. Aj toto je cesta ako znížiť množstvo potravinového odpadu, obmedziť plytvanie a správať sa zodpovednejšie k vlastnej spotrebe potravín.

Dôležitými aspektmi rozhodovania spotrebiteľa pri výbere a nákupe potravín sú kvalita, vlastnosti a cena konzumovaných potravín. Spotrebiteľa viac sledujú výživové a zdravotné tvrdenia o potravinách, ktoré však nie sú vždy pravdivé. Veľká časť spotrebiteľov sa pri svojom nákupnom rozhodovaní dáva prednosť výberu podľa zloženia potravín. Tu sa stretávajú spotrebiteľia zo strán predajcov a výrobcov s nekalými obchodnými praktikami ako sú klamlivá reklama, dvojaká kvalita zdanlivo rovnako vyzerajúcich potravín v rôznych členských štátoch Európskej únie a tiež s problematikou falšovania potravín. Vo všetkých týchto prípadoch dochádza ku klamaniu spotrebiteľa.

## ZÁVER

Spotrebiteľia sú ochotní kontrolovať potraviny a ich dátumy minimálnej trvanlivosti a dátumy spotreby. Avšak akonáhle je táto schopnosť mimo ich kontroly (reštaurácie), existuje tam nedôvera. Správanie spotrebiteľov je teda na dobrej úrovni avšak v určitých prípadoch je potrebné ďalšie vzdelávanie o dátumoch spotreby a zodpovednom nákupe.

## LITERATÚRA

- Aschemann-Witzel, J., Giménez, A., Ares, G. 2020. Suboptimal Food, careless store? Consumer's associations with stores selling foods with imperfections to counter food waste in the context of an emerging retail market. In *Journal of Cleaner Production* [online]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652620312993>
- Bíreš, J. 2024. Úradná kontrola potravín v slovenskej republike v roku 2023. Bezpečnosť a kontrola potravín. Zborník odborných prác. Vydavateľ: Garmond Nitra, s.10 -16. ISBN: 978-80-8266-057-2
- Dogan, A., Birant, D. 2021. Machine Learning and data mining in manufacturing. In *Expert Systems with Applications* [online]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095741742030823X>
- EURÓPSKY PARLAMENT A RADA EÚ. 2011. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, ktorým sa menia a dopĺňajú nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a ktorým sa zrušuje smernica Komisie 87/250/EHS, smernica Rady 90/496/EHS, smernica Komisie 1999/10/ES, smernica Európskeho parlamentu a Rady 2000/13/ES, smernice Komisie 2002/67/ES a 2008/5/ES a nariadenie Komisie (ES) č. 608/2004. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/HTML/?uri=CELEX:32011R1169#d1e1817-18-1>. [cit. 2024-04-09].
- Informačné centrum bezpečnosti potravín. © 2018. [www.bezpecnostpotravin.cz](http://www.bezpecnostpotravin.cz) [online]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz>
- Kavanaugh, M., Quinlan, J. J. 2020. Consumer knowledge and behaviours regarding food date labels and Food Waste. In *Food Control* [online]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713520302012>
- Pohorelá, P. 2021. Dátum spotreby a minimálna trvanlivosť – povinné údaje na obale potravín. In [Podnikajte.sk](http://www.podnikajte.sk) [online]. Dostupné na: <https://www.podnikajte.sk/zakonne-povinnosti-podnikatela/datum-spotreby-minimalna-trvanlivost>
- Schifferstein, H. N. J., De Boer, A., Lemke, M. 2021. Conveying information through food packaging: A literature review comparing legislation with Consumer Perception. In *Journal of Functional Foods* [online]. [cit. 2024-04-08]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464621003832>
- Soethoudt, J. M., Van Der Sluis, A. A., Waarts, Y., Tromp, S. 2013. Expiry dates: A waste of time? In [Food.ec.europa.eu](http://food.ec.europa.eu) [online]. Dostupné na: [https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-11/fw\\_lib\\_report\\_2013\\_date-marking-and-food-waste\\_nl-en.pdf](https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-11/fw_lib_report_2013_date-marking-and-food-waste_nl-en.pdf)
- Týč, V. Základy práva Európskej únie pre ekonómov. 7. prepracované a aktualizované vydanie. Praha: Leges, 2017, 352 s. ISBN 978-80-7502-243-1.
- Van Royen, K., Pabian, S., Poels, K., De Backer, C. 2022. Around the same table: Uniting stakeholders of food-related communication. In *Appetite* [online]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195666322000897>
- Vítová, B., Etlíková, M. 2017. Nekalé obchodné praktiky. Praha: Wolters Kluwer, 212 s. ISBN 978-82-7552-867-4
- Yassin, C. A., Soares, A. M. 2020. Buy now before it expires: A study of expiration date-based pricing. In *International Journal of Retail & Distribution Management* [online]. Dostupné na: <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/IJ-RDM-10-2019-0328/full/html>

## Vyhodnotenie fyziologických reakcií viničových krov infikovaných komplexom húb ESCA

### Evaluation of physiological reactions of grapevines infected with ESCA fungal complex

Martin JANÁS<sup>1</sup>, Dávid ERNST<sup>2</sup>, Adrián SELNEKOVIČ<sup>1</sup>, Štefan AILER<sup>1</sup>, Tomáš VICIAN<sup>2</sup>, Ivan ČERNÝ<sup>2</sup>, Lucia BENEŠOVÁ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Horticulture, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia*

<sup>2</sup>*Institute of Agronomic Sciences, Faculty of Agrobiological and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia*

<sup>3</sup>*AgroBioTech Research Centre, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia*

#### Abstract

ESCA syndrome is a complex of wood-destroying fungi involved in the decomposition of the woody matter of the grapevine and the subsequent apoplexy of its aboveground organs. The aim of this study was to compare the physiological responses of symptomatic grapevines with asymptomatic grapevines and to compare amputated part of the trunk symptomatic and asymptomatic grapevines. The measurements were carried out at the site of the wine-growing village of Nitra on 5 August 2024 (BBCH 81). The analysed parameters included Leaf Area Index (LAI), Normalised Difference Vegetation Index (NDVI) and Photochemical Reflectance Index (PRI). We found statistically significant higher values of LAI (+44%), NDVI (+12%) and PRI (+11%) in asymptomatic grapevines compared to symptomatic grapevines. In the case of grapevines with an amputated part of the trunk, we found statistically significantly higher LAI values (+39%) for asymptomatic grapevines compared to symptomatic grapevines. For the NDVI and PRI indexes, we found no statistically significant differences in the measured values in the variants with the amputated part of the trunk. The values of the observed indexes confirm the negative effect of the ESCA syndrome on the physiological reactions of the grapevines. Based on the results, amputation of a part of the infected trunk may be an alternative method for eliminating the spread of pathogens in the ESCA complex.

**Keywords:** ESCA syndrome, Leaf Area Index, Normalised Difference Vegetation index, Photochemical Reflectance index

#### ÚVOD

Ochorenia kmienkov viniča (GTD, syndróm ESCA) sú celosvetovým problémom spôsobujúcim významné zníženie rentability produkcie hrozna a vína. Mikroskopické huby patriace do komplexu ESCA spôsobujú rozklad drevnej hmoty viničových krov, čo vedie k apoplexii viacročných orgánov viniča (Andreini *et al.*, 2009; Obrador-Sánchez a Hernandez-Martínez, 2020). Priemerný výskyt symptomatických krov vo Francúzsku je 13 % (Claverie, 2020; Bruez *et al.*, 2013). V Španielsku sa výskyt symptomatických krov

pohybuje od 1,8 do 10,5 % a v Taliansku od 8 do 19 %. V niektorých starých vinohradoch dosahuje výskyt týchto ochorení lokálne 60 až 80 %. V Argentíne je postihnutých 30 % starých vinohradov a významné hospodárske straty spôsobené ochoreniami kmienkov viniča boli zaznamenané aj v Spojených štátoch, v Austrálii, na Novom Zélande a na Blízkom východe (Lloreda *et al.*, 2016; Abu el Samen *et al.*, 2023). Mechanizmy vzniku a vývoja infekcií nie sú dostatočne preskúmané. Mikroskopické huby z komplexu ESCA sú prirodzenou súčasťou mikrobiómu vinohradov. Existuje spektrum faktorov, ktoré iniciujú zmenu endofytickej fázy mikroskopických húb na patogenickú fázu. Za tieto javy sa považuje najmä vystavenie rastliny biotickým alebo abiotickým stresom, ako je nedostatočná výživa, dlhotrvajúce sucho, mechanické poškodenie rastliny a zasolenie pôdy v danej lokalite (Hrycan *et al.*, 2020; Petrini, 1991; Stone *et al.*, 2000). Prejavy GTD sú sezónne premenlivé a korelujú s meteorologickými podmienkami počas vinohradníckych ročníkov. Nezanedbateľným faktorom je aj genetická variabilita viničových odrôd vo forme odlišnej miery rezistencie konkrétnych odrôd proti vzniku a rozvoju infekcií spôsobených drevokaznými hubami (Calzarano *et al.*, 2014; Di Marco, 2011). Od okamihu napadnutia hubou až po objavenie sa prvých symptómov sa na viniči ochorenia kmienkov vyvíjajú pomaly. Po niekoľkých rokoch od primárnej infekcie sa drevokazné huby začínajú správať invazívne, čo sa prejavuje vo forme špecifických foliárnych symptómov (Verhoeff, 1974).

Cieľom experimentu bolo prostredníctvom vybraných vegetačných indexov vyhodnotiť fyziologické reakcie viničových krov infikovaných komplexom húb ESCA počas vegetačného obdobia a zhodnotiť vplyv amputácie časti infikovaného viničového kmienka na fyziologické reakcie zmladených viničových krov.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Vinohradnícka obec Nitra sa nachádza v Nitrianskom vinohradníckom rajóne, ktorý je súčasťou Nitrianskej vinohradníckej oblasti. Vinohrad sa nachádza v Demonštračnej záhrade Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre. Rok výsadby vinohradu je 2007. Vinohrad je pestovaný na rýnsko-hessenskom vedení. Ročný súčet teplôt nad 10 °C je vyšší ako 3000 °C. Priemerná teplota počas vegetačného obdobia je 16–17 °C. Prevládajúcim pôdnym typom v lokalite je fluvizem. Geografické súradnice vinohradu sú 48,301220° s. š., 18,100772° v. d. (Džatko *et al.* 2009). Pre účely experimentu sme použili modrú muštovú odrodu viniča Cabernet Sauvignon, ktorá je pestovaná na podpníku SO4. V slovenských vinohradoch patrí Cabernet Sauvignon medzi najviac pestované odrody. Jeho pestovateľské plochy v SR sú 639,2 ha (Meravá, 2021). Priemerná výška úrod sa pohybuje medzi 6–9 t.ha<sup>-1</sup> s koeficientom rodivosti 1,6. Cukornatosť hrozna je v priemere 18–20 °NM (Pospíšilová *et al.*, 2005). Je citlivou odrodou na napadnutie ochoreniami kmienkov viniča. Experimentálne viničové kry sme rozdelili na 4 varianty (Tabuľka 1). V každom variante sme pracovali s 10 viničovými krami. Merania sme uskutočnili v 5 opakovaniach vo fenologickej fáze Začiatok dozrievania (BBCH 81) dňa 5. 8. 2024.

**Tabuľka 1** Charakteristika sledovaných variantov

Označenie variantu	Charakteristika variantu
AS	Viničové kry bez foliárnych symptómov ESCA syndrómu
S	Viničové kry prejavujúce foliárne symptómy ESCA syndrómu
A-AS	Viničové kry po amputácii časti kmeňa, bez foliárnych symptómov ESCA syndrómu v čase amputácie
A-S	Viničové kry po amputácii časti kmeňa, prejavujúce foliárne symptómy ESCA syndrómu v čase amputácie

V auguste 2022 sme pomocou prerezávacej píly (FELCO, Švajčiarsko) realizovali amputáciu viničovej hlavy s časťou viničového kmeňa (Obrázok 1) symptomatických a asymptomatických krov.



**Obrázok 1** Amputácia časti viničového kmeňa (Janás, 2022)

viničovými krami. Na vyhodnotenie normalizovaného rozdielového vegetačného indexu (NDVI) sme použili zariadenie Plant Pens NDVI 300 (Photon System Instruments, Brno, Česká republika). Toto zariadenie pracuje na princípe analýzy absorpcie vlnovej dĺžky odrazenej od povrchu listu. Merali sme pri vlnových dĺžkach 740 nm a 660 nm, ktoré sme vypočítali pomocou rovnice (Photon Systems Instruments, 2016b):

$$NDVI = (R740 - R660) / (R740 + R660)$$

Meranie sme realizovali prichytením zariadenia o viničový list vystavený priamemu slnečnému žiareniu.

Rezné rany po amputácii sme ošetri-  
li zmesou účinných látok obsahujúcou  
azoxystrobin 93,5 g/l, folpet 500 g/l,  
metrafenone 500 g/l, oxichlorid medi  
30 %. Po zaschnutí zmesi sme na ra-  
nu naniesli vrstvu akrylovej, vodou  
rozpustnej neriedenej farby. S cieľom  
zabezpečiť konzistenciu a presnosť sa  
všetky merania uskutočnili v ten istý  
deň – ekvivalentné rastliny, plne vy-  
vinuté listy a s analogickým štádiom  
vývoja - medzi 11:00 a 13:00. Na vy-  
hodnotenie indexu listovej plochy  
(LAI) sme použili LaiPen LP 100 (Pho-  
ton System Instruments, Brno, Čes-  
ká republika). LAI je definovaný ako  
jednostranná plocha zelených listov  
na jednotku plochy pôdy v korunách  
listnatých stromov. Zariadenie funguje  
na princípe merania slnečného žiarenia  
vykonaných pomocou širokouh-  
lého optického senzora (Photon Sys-  
tems Instruments, 2016a). V priebehu  
merania sme zariadenie umiestnili 0,5  
metra nad zemským povrchom, pod

Na vyhodnotenie fotochemického indexu odrazivosti (PRI) sme použili zariadenie Plant Pens PRI 200 (Photon System Instruments, Brno, Česká republika). Zariadenie pracuje na princípe komparácie odrazivosti listov v dvoch úzkych pásmach vlnových dĺžok so stredom blízko 530 nm a 590 nm. PRI detekuje zmeny karotenoidných pigmentov, ktoré svedčia o zmenách v miere absorpcie CO<sub>2</sub>, účinnosti využitia svetla rastlinou, a ako indikátor vodného stresu. Používa sa pri analýzach produktivity a stresu vegetácie. PRI index sme vypočítali pomocou rovnice (Photon Systems Instruments, 2016b):

$$PRI = (R530 - R590) / (R530 + R590)$$

Meranie sme realizovali prichytením zariadenia o viničový list vystavený priamemu slnečnému žiareniu.

Na štatistické vyhodnotenie sme použili metódu analýzy rozptylu v programe XLSTAT v.2021.4.1 (Addinsoft, Francúzsko). Na testovanie štatistickej významnosti výsledkov sme použili test LSD (test najmenších významných rozdielov,  $p \leq 0,05$ ). Rozdelenie údajov sme testovali pomocou Shapiro-Wilkovho testu na hladine štatistickej významnosti 0,05. Štatistickú významnosť rozdielu medzi vzorkami sme posudzovali pomocou ANOVA-Tukeyho testu ( $p = 0,05$ ).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V prípade asymptomatických krov sme zistili o 44 % vyššie priemerné hodnoty indexu LAI v porovnaní so symptomatickými viničovými krami. Rozdiel aritmetických priemerov bol štatisticky preukazný (Tabuľka 2). V prípade viničových krov s amputovanou časťou kmeňa sme zistili o 39 % vyššie hodnoty indexu LAI v prípade krov bez prvotných foliárnych symptómov ESCA syndrómu v porovnaní s krami prejavujúcimi foliárne symptómy pred amputáciou infikovanej časti kmeňa. Rozdiel medzi nameranými hodnotami bol štatisticky preukazný. V prípade variantov s amputovanou časťou kmeňa sme zistili vyššie hodnoty LAI v porovnaní s viničovými krami bez amputácie kmeňa. Hodnoty LAI potvrdzujú negatívne pôsobenie ESCA syndrómu na listovú plochu symptomatických viničových krov.

**Tabuľka 2** Index listovej plochy (LAI)

Variant	AS	S	A-AS	A-S
AP ± SD	1,576 ± 0,054a	1,093 ± 0,166b	1,713 ± 0,080a	1,229 ± 0,162b
Min	1,543	0,962	1,622	1,057
Max	1,730	1,454	1,876	1,537
CV (%)	3	15	5	13

Pozn.: AP – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, min – minimum, max – maximum, cv – variačný koeficient, S – symptomatické kry, AS – asymptomatické kry, A-S – symptomatické kry po amputácii časti viničového kmeňa, A-AS – asymptomatické kry po amputácii časti viničového kmeňa. a, b znamená, že riadky s rozdielnym písmenom sú štatisticky preukazne odlišné (Tukey test,  $p < 0,05$ ).

Su *et al.* (2022) zistili, že množstvo atmosférických zrážok, resp. režim závlahy majú vplyv na hodnoty LAI v prípade viničových krov. Na základe rôznych závlahových režimov dospeli k záveru, že index listovej plochy sa zvyšuje priamo úmerne k objemu aplikovanej vody. Nekróza cievnych zväzkov viniča ako následok infekcie mikroskopickými



hubami z komplexu ESCA vedie k narušeniu transportu vody do nadzemných orgánov viničových krov (Petit *et al.*, 2006; Magnin-Robert *et al.*, 2011). Znížené množstvo dostupnej vody pre nadzemné orgány viniča negatívne ovplyvňuje vývin listovej plochy viničových krov počas vegetačného obdobia. Naše zistenia sú v súlade so zisteniami Su *et al.* (2022).

V prípade asymptomatických krov sme zistili o 12 % vyššie priemerné hodnoty indexu NDVI v porovnaní so symptomatickými viničovými krami. Na základe štatistického vyhodnotenia sme zistili štatisticky preukazné rozdiely medzi symptomatickými a asymptomatickými viničovými krami v hodnotách NDVI indexu (Tabuľka 3). V prípade viničových krov s amputovanou časťou kmeňa sme zistili o 2 % vyššie hodnoty indexu NDVI v prípade krov bez prvotných foliárnych symptómov ESCA syndrómu v porovnaní s krami prejavujúcimi foliárne symptómy pred amputáciou infikovanej časti kmeňa. Medzi experimentálnymi variantmi krov s časťou amputovaného kmeňa sme medzi nameranými hodnotami nezistili štatisticky preukazné rozdiely. Hodnoty NDVI potvrdzujú zmenu fyziologických reakcií symptomatických viničových krov.

**Tabuľka 3** Normalizovaný rozdielový vegetačný index (NDVI)

Variant	AS	S	A-AS	A-S
AP ± SD	0,579 ± 0,012ac	0,518 ± 0,022bc	0,573 ± 0,025c	0,560 ± 0,028c
Min	0,560	0,480	0,490	0,530
Max	0,590	0,550	0,600	0,610
CV (%)	2	4	4	5

Pozn.: AP – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, min – minimum, max – maximum, cv – variačný koeficient, S – symptomatické kry, AS – asymptomatické kry, A-S – symptomatické kry po amputácii časti viničového kmeňa, A-AS – asymptomatické kry po amputácii časti viničového kmeňa. a, b znamená, že riadky s rozdielnym písmenom sú štatisticky preukazne odlišné (Tukey test,  $p < 0,05$ ).

Junges *et al.* (2017) vo svojej štúdií sledovali hodnoty NDVI indexu vo vinohradoch počas vegetačného obdobia v lokalite Rio Grande do Sul, v Brazílii. Pre odrodu Cabernet Sauvignon (CS) zistili vyššie hodnoty NDVI v porovnaní s odrodou Chardonnay, čo odôvodňujú vyššou vegetatívnou vitalitou odrody CS. Autori zistili hodnoty NDVI medzi fenofázami BBCH 71 a BBCH 81 blízke 0,8. Na základe porovnania s našimi výsledkami sme zistili nižšie hodnoty NDVI pre oblasť Slovenka v porovnaní s lokalitou Rio Grande do Sul. Rozdiely možno vysvetliť vyššími priemernými teplotami a vysokými úhrnmi zrážok v lokalite Rio Grande do Sul počas vegetačného obdobia. Predpokladom nižšieho NDVI indexu v prípade symptomatických krov je nekroza častí listovej čepele, ktorá vedie k jej fyziologickým zmenám.

V prípade asymptomatických krov sme zistili o 11 % vyššie priemerné hodnoty indexu PRI v porovnaní so symptomatickými viničovými krami. Zistili sme štatisticky preukazné rozdiely v hodnotách indexu PRI medzi asymptomatickými a symptomatickými krami (Tabuľka 4). V prípade viničových krov s amputovanou časťou kmeňa sme zistili o 1 % vyššie hodnoty indexu PRI v prípade krov prejavujúcich foliárne symptómy pred amputáciou infikovanej časti kmeňa v porovnaní s krami bez prvotných foliárnych symptómov ESCA syndrómu. Rozdiel medzi variantmi s amputovanou časťou kmeňa nebol

štatisticky preukazný. Vyššie hodnoty PRI indexu v prípade krov prejavujúcich foliárne symptómy pred amputáciou infikovanej časti kmeňa môžu súvisieť s objavením sa foliárnych symptómov na 33 % krov bez prvotných foliárnych symptómov ESCA syndrómu v čase amputácie kmeňa. Štatisticky preukazné rozdiely medzi symptomatickými krami a krami prejavujúcimi foliárne symptómy pred amputáciou infikovanej časti kmeňa potvrdzujú opodstatnenosť amputácie viničového kmeňa ako alternatívnej metódy pre sanáciu patogénov spôsobujúcich ochorenia kmeňov viniča.

**Tabuľka 4** Fotochemický index odrazivosti (PRI)

Variant	AS	S	A-AS	A-S
AP ± SD	-0,008 ± 0,009a	-0,104 ± 0,032b	-0,025 ± 0,018ab	-0,015 ± 0,008a
Min	-0,023	-0,155	-0,061	-0,023
Max	0,005	-0,049	-0,001	0,004
CV (%)	1	4	2	1

Pozn.: AP – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, min – minimum, max – maximum, cv – variačný koeficient, S – symptomatické kry, AS – asymptomatické kry, A-S – symptomatické kry po amputácii časti viničového kmeňa, A-AS – asymptomatické kry po amputácii časti viničového kmeňa. a, b znamená, že riadky s rozdielnym písmenom sú štatisticky preukazne odlišné (Tukey test,  $p < 0,05$ ).

Cogato *et al.* (2022) uvádzajú, že PRI index reaguje na stresové podmienky pri pestovaní viniča. Pri strese rastliny vyvolanom silným deficitom zrážok sa hodnoty PRI znižujú v dôsledku vädnutia listov, interkonverzie xantofylových pigmentov a zmien v pomere karotenoidov ku chlorofylu. Infekcia viniča hubami z komplexu ESCA vedie k nekróze cievnych zväzkov (Petit *et al.*, 2006; Magnin-Robert *et al.*, 2011). Narušenie transportu vody a živín do nadzemných orgánov viniča vyvoláva stresové podmienky v dôsledku deficitu dostupnej vody pre orgány viniča. Deficit vody vedie k expresii foliárnych symptómov ESCA syndrómu a zároveň znižuje intenzitu fotosyntézy, čo sa prejavuje v nižších hodnotách PRI indexu. Vyššie hodnoty PRI indexu v prípade viničových krov s amputovanou časťou starého dreva sú výsledkom normálneho transportu vody a živín prostredníctvom zdravých cievnych zväzkov v novo zapestovaných viničových kmeňoch.

## ZÁVER

Ochorenia kmeňov viniča sú jednou z najväčších výziev, ktorým svetové vinohradníctvo v súčasnosti čelí. Na základe vyhodnotenia fyziologických reakcií viničových krov môžeme potvrdiť negatívne pôsobenie ESCA syndrómu na fyziologické reakcie viniča. Ochrana proti ESCA syndrómu sa obmedzuje len na preventívne opatrenia, ktoré zmierňujú počiatkový nástup ochorenia a môžu predĺžiť životnosť vinohradu. Základom prevencie je znižovanie pestovateľského stresu, ktorý zohráva zásadnú úlohu v odolnosti viniča proti patogénom. Alternatívnou metódou pre ošetrovanie symptomatických krov sa javí amputácia časti infikovaného kmeňa a následné zapestovanie nového viničového kmeňa vyrastajúceho z vizuálne zdravého starého viničového dreva. Nevyhnutnosťou pre elimináciu ďalšieho šírenia drevokazných je zavedenie prísneho medzinárodného monitoringu biologického množiteľského materiálu. Vinohrady s výskytom foliárnych symptómov nad 10 % odporúčame zlikvidovať.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore projektu (VEGA 1/0676/22) “Blue-green infrastructure as a water policy tool in the process of adaptation to climate change”.

## Kontaktná osoba

Lucia Benešová: AgroBioTech Research centre, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, +421 37 641 4922, lucia.benesova@uniag.sk, <https://orcid.org/0000-0002-2321-6627>.

## ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- Abu El Samen, F. M., Nasrallah, M., Alfaqih, M. A., Alananbeh, K. M. 2023. Prevalence and pathogenicity of fungi associated with grapevine trunk diseases in Jordan. In *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 62, no. 2, p. 255-268. Dostupné na: <https://doi.org/10.36253/phyto-13766>
- Andreini, L., Caruso, G., Bertolla, C., Scalabrelli, G., Viti, R., Gucci R. 2009. Gas exchange, stem water potential and xylem flux on some grapevine cultivars affected by Esca disease. In *Sout African Journal of Enology and Viticulture*, vol. 30, p. 142-147. Dostupné na: <https://doi.org/10.21548/30-2-1434>
- Bruetz, E., Lecomte, P., Grosman, J., Doublet, B., Bertsch, C., Rey, P. 2013. Overview of grapevine trunk diseases in France in the 2000s. In *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 52, p. 262-275.
- Calzarano, F., Di Marco, S., D'agostino, V., Schiff, S., Mugnai, L. 2014. Grapevine leaf stripe disease symptoms (esca complex) are reduced by a nutrients and seaweed mixture. In *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 53, no. 3, p. 543-558.
- Claverie, M., Notaro, M., Fontaine, F., Wery, J. 2020. Current knowledge on Grapevine Trunk Diseases with complex etiology: a systemic approach. In *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 59, no. 1, p. 29-53. Dostupné na: [10.14601/Phyto-11150](https://doi.org/10.14601/Phyto-11150)
- Cogato, A.; Jewan, S.Y.Y.; Wu, L.; Marinello, F.; Meggio, F.; Sivilotti, P.; Sozzi, M.; Pagay, V. 2022. Water Stress Impacts on Grapevines (*Vitis vinifera* L.) in Hot Environments: Physiological and Spectral Responses. *Agronomy* 2022, vol. 12, 1819. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/agronomy12081819>
- Di Marco, S., Osti, F., Mugnai, L. 2011. First studies on the potential of a copper formulation for the control of leaf stripe disease within esca complex in grapevine. In *Phytopathologia Mediterranea*. vol. 50, 7<sup>th</sup> IWGTD – Special issue on Grapevine Trunk Diseases. Dostupné na: <https://doi.org/10.36253/phyto-5458>
- Džatko, M., Sobocká, J. et al. 2009. *Príručka pre používanie máp pôdnoekologických jednotiek*. Výskumný ústav pôdnoznanectva a ochrany pôdy, Bratislava, 2009. (In Slovak). ISBN 978-80-89128-55-6. Dostupné na: [http://www.podnemapysk/portal/verejnost/bpej/prirucka\\_BPEJ.pdf](http://www.podnemapysk/portal/verejnost/bpej/prirucka_BPEJ.pdf)
- Heemann Junges, A., Cybis Fontana, D., Anzanello, R., Bremm, C. 2017. Normalized difference vegetation index obtained by ground-based remote sensing to characterize vine cycle in Rio Grande do Sul, Brazil. In *Ciência e Agrotecnologia*, 41(5): 543-553. Dostupné na: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542017415049016>
- Hrycan, J., Hart, M., Bowen, P., Forge, T., Úrbez-Torres, J. R. 2020. Grapevine trunk disease fungi: their roles as latent pathogens and stress factors that favour disease develop-

- ment and symptom expression. In *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 59, no. 3, p. 395-424. Dostupné na: [10.14601/Phyto-11275](https://doi.org/10.14601/Phyto-11275)
- Lloreda, M., De La F., Fontaine, F., Gramaje, D., Armengol, J., Smart, R., Nagy, Z. A., Borgo, M., Rego, C., Corio-Costet, M.-F. 2016. *Grapevine Trunk Diseases*. A review. Edition: 1<sup>st</sup> Edition: May 2016. Publisher: ©OIV publications, (Paris, France). ISBN: 979-10-91799-60-7.
- Magnin-Robert, M., Letousey, P., Spagnolo, A., Rabenoelina, F., Jacquens, L., Mercier, L. et al. 2011. Leaf stripe form of esca induces alteration of photosynthesis and defence reactions in presymptomatic leaves. In *Functional Plant Biology*, vol. 38, no. 11, p. 856-866. Dostupné na: [10.1071/FP11083](https://doi.org/10.1071/FP11083)
- Meravá, E. 2021. *Vinič hroznorodý, hroznové víno: Situačná výhľadová správa k 31. 7. 2021*. Bratislava, VÚEPP, 2021, roč. 23, 53 s. ISBN 978-80-8058-564-8
- Petit, A.N., Vaillant, N., Boulay, M., Clément, C., Fontaine, F. 2006. Alteration of photosynthesis in grapevines affected by Esca. In *Phytopathology*. vol. 96, p. 1060-1066. Dostupné na: [10.1094/PHYTO-96-1060](https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1060)
- Petrini, O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: *Microbial ecology of the leaves* (J.H. Andrews, S.S Hirano, eds). Springer-Verlag, New York, USA, p. 179-197.
- Pospíšilová, D., Sekera, D., Ruman, T. 2005. *Ampelografia Slovenska*. Bratislava: Výskumná a šlachtiteľská stanica vinárska a vinohradnícka Modra, n.o., 368 s. ISBN 80-969350-9-7
- Obrador-Sánchez, J., Hernandez-Martínez, R. 2020. Microscope observations of Botryosphaeriaceae spp. in the presence of grapevine wood. *Phytopathologia Mediterranea*, 59(1), 119-129. Dostupné na: <https://doi.org/10.14601/Phyto-11040>
- Stone, J. K., Bacon, C. W., White, J. 2000: An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In *Microb. Endophytes*, vol. 3, p. 29-33.
- Su, L.; Tao, W.; Sun, Y.; Shan, Y.; Wang, Q. 2022. Mathematical Models of Leaf Area Index and Yield for Grapevines Grown in the Turpan Area, Xinjiang, China. In *Agronomy* 2022, vol. 12, 988. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/agronomy12050988>
- Photon Systems Instruments. 2016a. In *LaiPen LP 110*. Dostupné na: <https://handheld.psi.cz/products/laipen/#details>
- Photon Systems Instruments, 2016b. In *PlantPen PRI 210 and PlantPen NDVI 310*. Dostupné na: <https://handheld.psi.cz/products/plantpen-ndvi-and-pri/#details>
- Verhoeff, K. 1974. Latent Infections by Fungi. Annual Review of In *Phytopathology*, vol. 12, p. 99-110. Dostupné na: [doi:10.1146/annurev.py.12.090174.000531](https://doi.org/10.1146/annurev.py.12.090174.000531)

## ***Corymbia citriodora* ako antimikrobiálny agent a konzervant ovocia a zeleniny**

### ***Corymbia citriodora* as an antimicrobial agent and preservative of fruits and vegetables**

Miroslava KAČÁNIOVÁ, Andrea VEREŠOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### **Abstrakt**

Plant components are assessed for their antibacterial and preservative qualities on food products as part of the ongoing continuous for natural food preservatives. Our study's objective was to assess the antimicrobial activity of *Corymbia citriodora* essential oil against a species of phytopathogenic microorganisms, including *Fusarium solani*, *Botrytis cinerea*, *Xanthomonas arboricola*, *Pectobacterium carotovorum*, *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium radiobacter*, and *Monilia fructigena*. The minimal inhibitory concentration and the disc diffusion method were used to track the antibacterial activity *in vitro*. The antimicrobial activity of kohlrabi, strawberry, kiwi, and beet was observed *in situ*. The most effective antimicrobial activity was discovered *in vitro* against *X. arboricola* using the disc diffusion method, *A. radiobacter*, and *P. syringae* using the agar dilution method. *In situ* conditions also showed evidence of antimicrobial activity against *A. radiobacter*, *B. cinerea* and *M. fructigena* on vegetables and fruits model. We believe that the essential oil of *C. citriodora* is a good antibacterial agent that can prolong the shelf life of food that comes from plants. **Keywords:** *Corymbia citriodora*, disc diffusion method, minimal inhibition concentration, bacteria, vapor phase

#### **ÚVOD**

Rastliny sú vo svojom prostredí neustále konfrontované so širokým spektrom potenciálnych škodcov a patogénov, medzi ktoré patrí hmyz, háďatká, vírusy, baktérie, huby a oomycéty. Zatiaľ čo mnohé patogény sa vyvinuli tak, aby infikovali nadzemné časti rastliny (listy, stonky, kvety a plody), iné sa zameriavajú na podzemné orgány (korene a hľuzy) (Yadeta a Thomma 2013; Ghalem, 2016). Bakteriálne a hubové patogény spôsobujúce ochorenie rastlín sa podieľajú na výrobných a ekonomických stratách v poľnohospodárstve tým, že znižujú kvalitu a úrodu konkrétnych plodín alebo obmedzujú ich produkciu v oblastiach s podmienkami prostredia priaznivými pre rozvoj ochorení (Obradovic *et al.* 2008; Sankaran *et al.* 2010; Khan, 2023). Okrem hubovitých ochorení, ktoré sú príčinou mnohých problémov v dôsledku ich prevalencie a množstva strát spôsobených v rastlinnej výrobe, existuje významný počet bakteriálnych ochorení, ktoré sú extrémne deštruktívne a predstavujú hrozbu pre plodiny (Obradovic *et al.* 2008). Napriek tomu, že chemická kontrola účinne a vo veľkej miere znižuje účinky väčšiny hubovitých a bakteriálnych ochorení, nie je vždy žiadúca a predstavuje nebezpečenstvo pre zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie, ak sa používajú nadmerným a nevhodným spôsobom (Shabana *et al.* 2008; El-Mohamedy a Aboelfetoh 2014). Navyše, mnohí farmári najmä v rozvojových kra-

jinách ich nemôžu využívať pre ich vysoké náklady a nedostatok vedomostí o ich aplikácii (Dhalmi *et al.* 2005).

Z tohto dôvodu sa v posledných dvoch desaťročiach uskutočnili rozsiahle štúdie biopesticídov, ktoré sú ľahko biologicky odbúrateľné a bezpečné pre životné prostredie na kontrolu hubovitých a bakteriálnych ochorení plodín (Al-Askar 2012). Slubným riešením a múdрым nástrojom by teda mohli byť aromatické rastliny, ktoré sa v tradičnej medicíne používajú pre svoje antimikrobiálne aktivity už od staroveku (Ismail *et al.* 2012; Pawar 2013). Štúdie vykonané v minulosti potvrdili, že mnohé rastlinné silice vykazovali antimikrobiálny účinok na grampozitívne a gramnegatívne baktérie, huby a fytopatogény.

Cieľom našej práce bolo sledovanie antimikrobiálnej aktivity *Corymbia citriodora* rastlinnej silice proti fytopatogénom s využitím diskovej difúznej metódy a minimálnej inhibičnej koncentrácie *in vitro* podmienkach a v parnej fáze metódou *in situ*.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Corymbia citriodora* bola zakúpená od firmy Hanus, s.r.o. (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica (RS) bola vyrobená destiláciou suchých listov vodnou parou. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Výrobca uvádza chemické zloženie silice nasledovne: citronelal, citronelol, citronellyl acetát, limonén, 1,8-cineol, beta pinén, alfa pinén, beta karyofylén, linalol, eugenol.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita *Corymbia citriodora* rastlinnej silice (CCRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100  $\mu$ l sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10  $\mu$ l CCRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB,

Oxid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa CCRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbanca merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### *In situ* analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy CCRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli jahôd, kivi, cvikli a kalerábu. Zahriatý MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jahody, kivi, cvikla a kaleráby na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. CCRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)  $BGI = [(C - T)/C] \times 100$ , kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

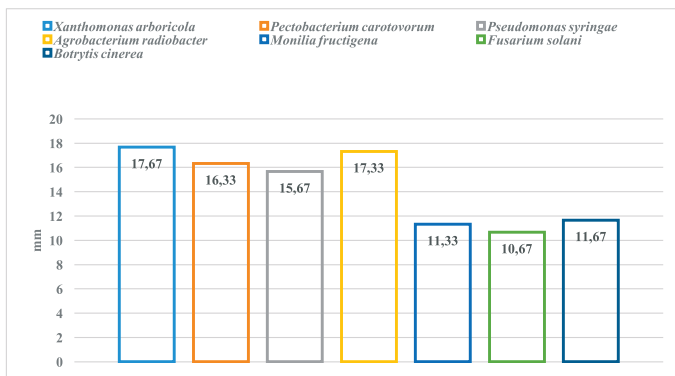
## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antimikrobiálna aktivita *C. citriodora* rastlinnej silice (CCRS) bola hodnotená diskovou difúznou metódou a minimálnou inhibičnou koncentráciou. Silná až stredná inhibičná aktivita CCRS bola pozorovaná v prípade väčšiny testovaných mikroorganizmov (obrázok 1). *Xanthomonas arboricola* bol najcitlivejšou baktériou zo všetkých testovaných baktérií, pričom CCRS vykazovala veľmi silnú inhibičnú aktivitu. Z testovaných mikroskopických húb bol najcitlivejší *Botrytis cinerea*.

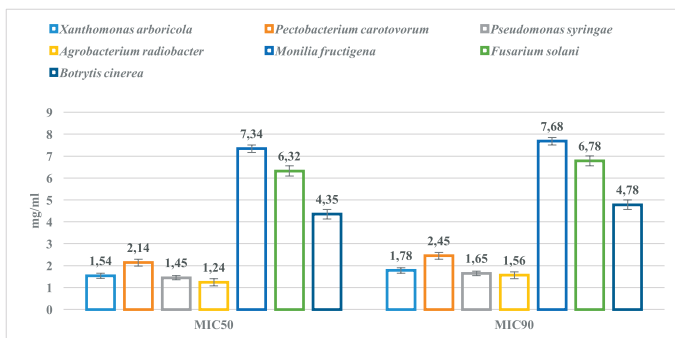
MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií (obrázok 2). Pre *Agrobacterium radiobacter* a *Pseudomonas syringae* sme zistili najnižšie hodnoty MIC 50 (1,24 mg/ml resp. 1,45 mg/ml) a MIC 90 (1,56 mg/ml resp. 1,65 mg/ml). Najvyššie hodnoty MIC 50 a MIC 90 boli stanovené pre *Monilia fructigena* a *Fusarium solani*.

Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia CCRS v mg/ml

Naše pozorovania ukázali, že CCRS bola aktívnejší proti baktériám, po ktorých nasle-



**Obrázok 1.** Antimikrobiálna aktivita CCRS diskovou difúznou metódou v mm



**Obrázok 1.** Antimikrobiálna aktivita CCRS diskovou difúznou metódou v mg/ml

dovali MVH, čo nie je v súlade s predtým publikovanými výsledkami (Ramezani *et al.*, 2002; Ramsewak *et al.*, 2003; Sartorelli *et al.*, 2007). Vyššia citlivosť gramnegatívnych mikroorganizmov voči CCRS môže byť spôsobená prítomnosťou vonkajšej membrány obklopujúcej bunku, čo obmedzuje difúziu hydrofóbných zlúčenín cez jeho lipopolysacharidový obal. V súčasnom globálnom scenári si mikroorganizmy spôsobujúce ochorenia získavajú rezistenciu voči väčšine antimikrobiálnych látok používaných na liečbu antifungálnych a antibakteriálnych infekcií (Ramezani *et al.*, 2002; Ramsewak *et al.*, 2003; Sartorelli *et al.*, 2007).

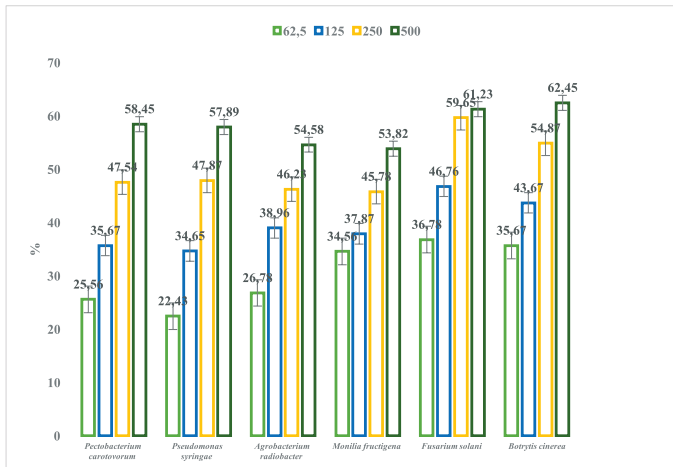
CCRS je známa svojou antimikrobiálnou aktivitou (Chandra *et al.*, 2012). V štúdií CCRS extrahovaná z listov a kvetov rastlín bola testovaná oddelene na antibakteriálnu aktivitu pri rôznych koncentráciách metódou diskovej difúzie, kde sa pre optimálne zhodnotenie výsledkov merala inhibičná zóna (Sharma *et al.*, 2011). Rôzne štúdie ukázali, že CCRS má potenciálny účinok na rôzne baktérie a môže inhibovať ich rast (Javed *et al.*, 2012). V inej štúdií bolo pozorované, že CCRS nebola takmer účinná proti multirezistentným baktériám (Menut *et al.*, 1995). Mishra *et al.* (2010) zistili, že CCRS vykazovala



inhibičný účinok proti *S. aureus*, *S. typhimurium* a *B. cereus*. *B. subtilis* je tiež baktéria prenášaná potravinami, o ktorej sa uvádza, že ju inhibuje CCRS, ktorý môže byť dobrým antimikrobiálnym zdrojom pre potravinársky priemysel (Magiorakos *et al.*, 2012). Existuje len málo dostupných správ o antifungálnej aktivite CCRS. Podľa inej štúdie je CCRS schopná inhibovať *A. fumigatus* (Tolba *et al.*, 2015). Hodnoty MIC boli vypočítané pre kmene húb aj baktérií, výsledky MIC ukázali významnú inhibíciu oboch skupín mikroorganizmov, keď boli ošetrované CCRS. CCRS z listov vykazovala hodnotu MIC 5 µg ml voči *S. aureus* a 10 µg ml voči *A. fumigatus*. Podobne kvetinová CCRS vykazovala hodnotu MIC 10 µg ml voči *B. subtilis* a 5 µg ml voči *S. cerevisiae*. Obidve CCRS teda majú dobré protihubové a antibakteriálne vlastnosti (Sharma *et al.*, 2011).

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli jahody ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované CCRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii CCRS (500 µl/l) bola na jahode *B. cinerea* najsilnejšie inhibovaná MVH (62,45 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Monilia fructigena*.

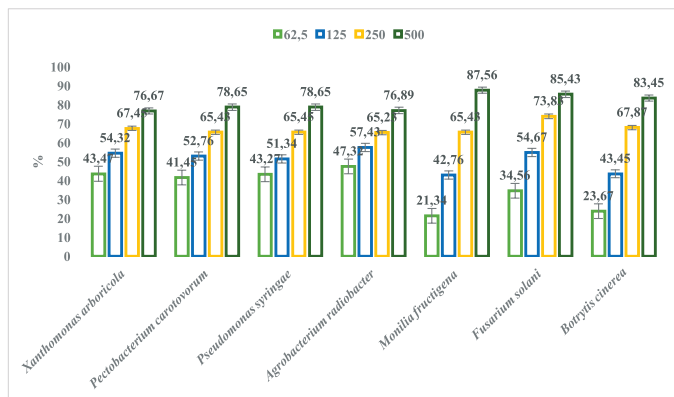
Rôzne prírodné produkty, vrátane RS, boli skúmané z hľadiska ich antimikrobiálneho potenciálu proti patogénom a hubám spôsobujúcim kazenie v rôznych produktoch z ovocia a zeleniny, najmä v jahodách. RS sa nedávno používali v jedlých filmoch na zlepšenie fyzikálno-chemických, antioxidačných a antimikrobiálnych vlastností (Martínez *et al.*, 2018; Kahramanoğlu, 2019). Niektoré štúdie uvádzajú rôznu antimikrobiálnu aktivitu RS pri rôznych koncentráciách a celkový efekt zlepšenia trvanlivosti a zachovania kvality plodov jahôd (Rahmawati *et al.*, 2017). Výkon jedlých fólií bol posilnený kombináciou rôznych bioaktívnych zlúčenín, najmä RS z aromatických rastlín, ktoré môžu nielen zlepšiť antimikrobiálne vlastnosti, ale aj znížiť biochemické poškodenia spôsobené spracovaním, ako je kolaps textúry, a enzymatické hnednutie (Valdés *et al.*, 2015).



**Obrázok 3.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jahody v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli kivi ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované CCRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najvyššej koncentrácii CCRS (500 µl/l) bola na kivi *M. fructigena* najsilnejšie inhibovaná MVH (87,56 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *X. arboricola*.

Hoci sa ukázalo, že aplikácia syntetických fungicídov, najmä benzimidazolu, dimetyl-linhibitorov a dikarboximidu, je mimoriadne účinná proti širokému spektru patogénov v ovoci a zelenine (Martínez *et al.*, 2018), ich potenciálny negatívny vplyv na životné prostredie a ľudské zdravie povzbudil výskumníkov, aby našli alternatívne prírodné prostriedky na zamedzenie nežiaduceho rastu mikroorganizmov, a tým zabránili znehodnoteniu potravín na zachovanie kvality ovocia počas skladovania. Rovnako pokračujúce a opakované pridávanie fungicídov viedlo k vývoju rezistentných kmeňov napr. mikroskopických vláknitých húb (Wills a Golding, 2016; Martínez *et al.*, 2018). Preto je dôležitá aplikácia vhodných technológií na zníženie strát a predĺženie pozerovej trvanlivosti ovocia a zeleniny počas skladovania (Aloui a Khwaldia, 2016). Prírodné a organické zlúčeniny získali široký význam pre svoje aplikácie v potravinách, pretože sú zdraviu prospešné s malými alebo žiadnymi vedľajšími účinkami, sú nákladovo efektívne a šetrné k životnému prostrediu v porovnaní s neorganickými syntetickými zlúčeninami. Preto sa prírodné antimykotiká rastlinného pôvodu stali ideálnymi alternatívami komerčných syntetických chemických konzervačných látok na zlepšenie kvality a bezpečnosti potravín (Sheikh *et al.*, 2013). V tomto ohľade RS pritiahli väčšiu pozornosť kvôli svojim širokospektrálnym insekticídnym, antibakteriálnym a antifungálnym vlastnostiam spolu s ich vysokými výťažkami, vôňami a chuťami (Chanthaphon *et al.*, 2008).

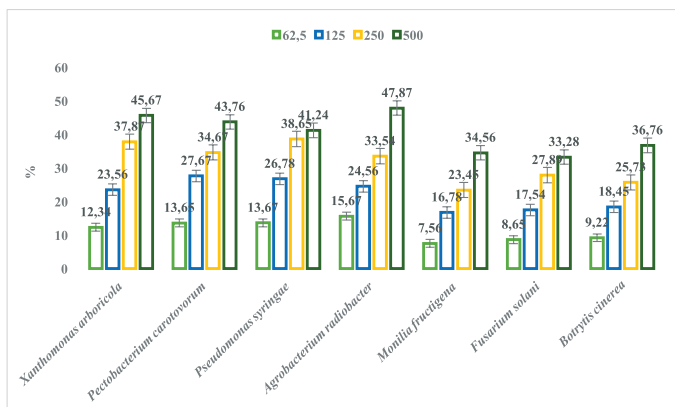


Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli kivi v %

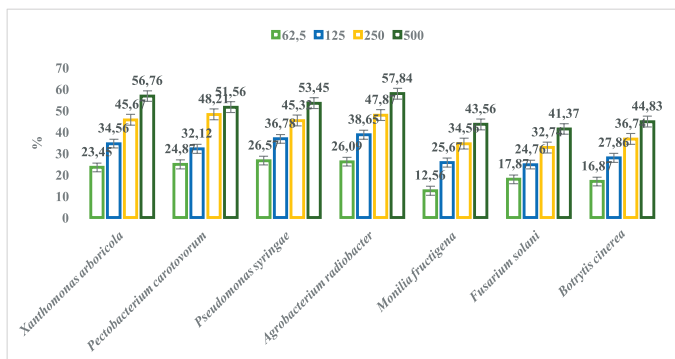
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli cvikle ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované CCRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najvyššej koncentrácii CCRS (500 µl/l) bola na cvikle *A. radiobacter* najsilnejšie inhibovaná baktériou (47,87 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Fusarium solani*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli kalerábu ukázala, že všetky fytopatogény bo-

li inhibované CCRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najvyššej koncentrácii CCRS (500  $\mu\text{l/l}$ ) bola na kalerábe *A. radiobacter* najsilnejšie inhibovaná baktériou (57,84 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná rovnako ako na modeli cvikle pre *F. solani*.



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli cvikle v %



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli kalerábu v %

## ZÁVER

Konzervácia potravín je mimoriadne dôležitá pre zaistenie ich bezpečnosti, kvality a predĺženej trvanlivosti. Tradičné metódy sa často spoliehajú na chemické prísady, ale rastie záujem o prírodné alternatívy. RS, získané z rôznych rastlín, ponúkajú sľubné riešenie vďaka svojim antimikrobiálnym vlastnostiam. V kontexte potravín sa RS využívajú pre ich chuťové a aromatické vlastnosti. Môžu poskytnúť intenzívne, prirodzené chute

a arómy na zlepšenie zmyslového zážitku z potravinárskych produktov. Okrem toho sú RS uznávané pre ich potenciálne antimikrobiálne a antioxidačné vlastnosti, vďaka ktorým sú cenné pri konzervácii potravín. Pri používaní RS pri ovocí a zelenine je rozhodujúca kontrola kvality a získavanie zdrojov. Pre zachovanie konzistencie a bezpečnosti je dôležité zabezpečiť, aby sa RS získavali z renomovaných zdrojov a prešli riadnym testovaním čistoty a zloženia, a mali významný konzervačný účinok vo vzťahu k rôznym mikroorganizmom.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Al-Askar, A. A. A. 2012. *In vitro* antifungal activity of three Saudi plant extracts against some Phytopathogenic fungi. In *Journal of Plant Protection Research*, vol. 52, no. 4, pp. 458–462. ISSN 1427-4345, Dostupné na: doi: org/10.2478/v10045-012-0073-9
- Aloui, H., Khwaldia, K. 2016. Natural Antimicrobial Edible Coatings for Microbial Safety and Food Quality Enhancement. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 15, no. 6, pp. 1080–1103. ISSN 1541-4337, Dostupné na: doi: org/10.1111/1541-4337.12226
- Dhlamini, Z., Spillane, C., Moss, J.P. 2005. *FAO status of research and application of crop biotechnologies in developing countries*. Preliminary assessment. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, p. 25.
- El-Mohamedy, R.S.R., Aboelfetoh, M.A. 2014. Evaluation of antifungal activity of *Moringa oleifera* extracts as natural fungicide against some plant pathogenic fungi *in vitro*. In *International Journal of Agricultural Technology* vol. 10, no. 4, pp. 963–982
- Ghalem, B. R. 2016. Essential Oils as Antimicrobial Agents Against Some Important Plant Pathogenic Bacteria and Fungi. In *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*, pp. 271–296. Dostupné na: doi: org/10.1007/978-981-10-2854-0\_13
- Chanthaphon, S., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T. 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. In *Songklanakarin Journal Science and Technology*, vol. 30, pp. 125–131.
- Islam, Md. T., Ahn, S.-Y., Cho, S. M., Yun, H. K. 2013. Isolation of antibacterial compounds from hairy vetch (*Vicia villosa*) against grapevine crown gall pathogen. In *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, vol. 54, no. 4, pp. 338–345. ISSN 2211-3452, Dostupné na: doi:org/10.1007/s13580-013-0028-8
- Javed, S., Shoaib, A., Mahmood, Z., Mushtaq, S., Iftikhar, S. 2011. Analysis of phytochemical constituents of *Eucalyptus citriodora* L. responsible for antifungal activity against

- post-harvest fungi. In *Natural Product Research*, vol. 26, no. 18, pp. 1732–1736. ISSN 1478-6419, Dostupné na: doi: org/10.1080/14786419.2011.607451
- Kahramanoğlu, İ. 2019. Effects of lemongrass oil application and modified atmosphere packaging on the postharvest life and quality of strawberry fruits. In *Scientia Horticulturae*, vol. 256, pp. 108527. ISSN 0304-4238, Dostupné na: doi:org/10.1016/j.scienta.2019.05.054
- Khan, Z. 2023. *Methods for Designing Disease-Resistant Plants Using CRISPR Technology. Engineering Disease Resistance in Plants Using CRISPR-Cas*, pp. 65–80. Dostupné na: doi: org/10.1201/b22901-4
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., Monnet, D. L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. In *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 18, no. 3, pp. 268–281. ISSN 1198-743X, Dostupné na: doi: org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Martínez, K., Ortiz, M., Albis, A., Gilma Gutiérrez Castañeda, C., Valencia, M. E., Grande Tovar, C. D. 2018. The Effect of Edible Chitosan Coatings Incorporated with *Thymus capitatus* Essential Oil on the Shelf-Life of Strawberry (*Fragaria x ananassa*) during Cold Storage. In *Biomolecules*, vol. 8, no. 4, pp. 155. ISSN 2218-273X, Dostupné na: doi: org/10.3390/biom8040155
- Menut, C., Molangui, T., Lamaty, G. E., Bessiere, J.-M., Habimana, J.-B. 1995. Aromatic Plants of Tropical Central Africa. 23. Chemical Composition of Leaf Essential Oils of *Eucalyptus goniocalyx* F. Muell. and *Eucalyptus patens* Benth. Growth in Rwanda. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 43, no. 5, 1267–pp. 1271. ISSN 0021-8561, Dostupné na: doi: org/10.1021/jf00053a026
- Mishra, A. K., Sahu, N., Mishra, A., Ghosh, A. K., Jha, S., Chattopadhyay, P. 2010. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of *Eucalyptus* leaf. In *Pharmacognosy Journal*, vol. 2, no. 16, pp. 25–28. ISSN 0975-3575, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0975-3575(10)80045-8
- Obradovic, A., Jones, J. B., Balogh, B., Momol, M. T. 2008. *Integrated Management of Tomato Bacterial Spot. Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria*, 211–223. ISBN 978-1-4020-8570-3, Dostupné na: doi: org/10.1007/978-1-4020-8571-0\_11
- Pawar, B.T. 2013. Antifungal activity of some fruit extracts against seedborne pathogenic fungi. In *Advances Bioreserch*, vol. 4, no. 3, pp. 95–97
- Rahmawati, D., Chandra, M., Santoso, S., Puteri, M. G. 2017. *Application of lemon peel essential oil with edible coating agent to prolong shelf life of tofu and strawberry*. AIP Conference Proceedings. Dostupné na: doi: org/10.1063/1.4973164
- Ramezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K. 2002. Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. In *Fitoterapia*, vol. 73, no. 3, pp. 261–262. ISSN 0367-326X, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0367-326x(02)00065-5
- Ramsewak, R. S., Nair, M. G., Stommel, M., Selanders, L. 2003. *In vitro* antagonistic activity of monoterpenes and their mixtures against 'toenail fungus' pathogens. In *Phytotherapy Research*, vol. 17, no. 4, pp. 376–379. ISSN 0951-418X, Dostupné na: doi: org/10.1002/ptr.1164

- Sankaran, S., Mishra, A., Ehsani, R., Davis, C. 2010. A review of advanced techniques for detecting plant diseases. In *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 72, no. 1, pp. 1–13. ISSN 0168-1699, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.compag.2010.02.007
- Sartorelli, P., Marquioreto, A. D., Amaral-Baroli, A., Lima, M. E. L., Moreno, P. R. H. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. In *Phytotherapy Research*, vol. 21, no. 3, pp. 231–233. ISSN 0951-418X, Dostupné na: doi: org/10.1002/ptr.2051
- Shabana, Y. M., Abdel-Fattah, G. M., Ismail, A. E., Rashad, Y. M. (2008). Control of brown spot pathogen of rice (*Bipolaris oryzae*) using some phenolic antioxidants. In *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 39, no. 3, pp. 438–444. ISSN 1678-4405, Dostupné na: doi: org/10.1590/s1517-83822008000300006
- Sharma, A.; Sharma, K. 2011. Efficacy of *Lawsonia inermis* Linn. and *Eucalyptus citriodora* Hook. Extracts as Inhibitors of Growth and Enzymatic Activity of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. In *Journal of Biologically Active Products from Nature*, vol. 1, pp. 168–182, ISSN 2231-1866
- Sheikh, M., Safiuddin, A., Khan, Z., Rizvi, R., Mahmood, I. 2013. Antibacterial and antifungal potential of some medicinal plants against certain phytopathogenic microorganisms. In *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, vol. 46, no. 9, pp. 1070–1080. ISSN 0323-5408, Dostupné na: doi: org/10.1080/03235408.2012.757859
- Tolba, H., Moghrani, H., Benelmouffok, A., Kellou, D., Maachi, R. 2015. Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition, antifungal activity. In *Journal de Mycologie Médicale*, vol. 25, no. 4, pp. e128–e133. ISSN 1156-5233, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.mycmed.2015.10.009
- Valdés, A., Burgos, N., Jiménez, A., Garrigós, M. 2015. Natural Pectin Polysaccharides as Edible Coatings. In *Coatings*, vol. 5, no. 4, pp. 865–886. ISSN 2079-6412, Dostupné na: doi: org/10.3390/coatings5040865
- Wills, R. B. H., Golding, J. (Eds.). 2016. *Advances in Postharvest Fruit and Vegetable Technology*. CRC Press. Dostupné na: doi: org/10.1201/b18489
- Yadeta, K. A., Thomma, B. P. H. 2013. The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. In *Frontiers in Plant Science*, vol. 4. ISSN 1664-462X, Dostupné na: doi: org/10.3389/fpls.2013.00097

## Antimikrobiálny potenciál rastlinnej silice *Eucalyptus globulus* *in vitro* a v parnej fáze proti fytopatogénnym mikroorganizmom

### Antimicrobial potential of *Eucalyptus globulus* essential oil *in vitro* and vapour phase against phytopathogenic microorganisms

Miroslava KAČÁNIOVÁ, Andrea VEREŠOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

*Eucalyptus globulus* essential oil (EGEO) is considered as a potential source of bioactive compounds with significant biological activity. The aim of this study was to analyze the *in vitro* and *in situ* antimicrobial activity of EGEO. Antimicrobial activity *in vitro* was determined via two methods: disk diffusion and minimum inhibitory concentration. The best antimicrobial activity was shown against *Pectobacterium carotovorum* (19,67 mm) and *Pseudomonas syringae* (18,33 mm). The minimum inhibitory concentration showed the best results against *Monilia fructigena* (MIC 50 0.17 mg/ml, MIC 90 0.23 mg/m.). The antimicrobial activity *in situ*, i.e., in the vapor phase, was significantly stronger than in the contact application. At the highest concentration of EGRS (500 µl/l), *Agrobacterium radiobacter* was the most strongly inhibited bacterium (78.65%) on plums. At the lowest concentration of EGRS (62.5 µl/l), *A. radiobacter* was the most strongly inhibited bacterium (87.68%) on kiwifruit. At the highest concentration of EGRS (500 µl/l), fungi (75.45%) was most strongly inhibited *B. cinerea* on cucumber. At the lowest concentration of EGRS (62.5 µl/l), *Fusarium solani* was the most strongly inhibited fungi (68.9%) on eggplant. EGEO was comprehensively investigated in this study and information regarding the antimicrobial activities and chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus globulus* was expanded.

**Keywords:** *Eucalyptus globulus*, *in situ*, *in vitro*, antimicrobial potential, bacteria, fungi

#### ÚVOD

Eukalyptus je vždýzelený vysoký strom, pôvodom z Austrálie, úspešne introdukovaný po celom svete, teraz sa vo veľkom pestuje v mnohých iných krajinách vrátane Indie (Tyagi a Malik, 2011). Eukalyptus je veľký rod z čeľade Myrtaceae, ktorý zahŕňa asi 900 druhov a poddruhov (Bruhl, 2004). V čínskej ľudovej medicíne sa tradične používa veľa druhov eukalyptov. Napríklad extrakty horúcej vody zo sušených listov *Eucalyptus citriodora* (eukalyptus s citrónovou vôňou) sa používajú ako protizápalové, analgetické a antipyretické lieky na symptómy respiračných infekcií, ako je prechladnutie, chrípka a upchatie dutín (Silva *et al.*, 2003). Rastlinné silice produkované *E. citriodora* sa používajú na lekárske a farmaceutické účely (Ghisalberti, 1996). Extrakt z listov eukalyptu bol schválený ako prírodná potravinová prísada a je tiež zahrnutý ako jeden z antioxidantov v zozname existujúcich potravinárskych prísad v Japonsku (Amakura *et al.*, 2002). Nedávne štúdie sa zameriavali na funkčné aspekty eukalyptových extraktov/rastlinných silíc. Eukalyptové extrakty vykazujú rôzne biologické účinky, ako sú antibakteriálne, antifungálne, anti-

hyperglykemické a antioxidantné aktivity (Takahashi *et al.*, 2004), pričom ústrednú úlohu v týchto biologických funkciách zohrávajú rastlinné silice. Chemické zloženie a biologické účinky rastlinných silíc, vrátane ich antimikrobiálnych vlastností a potenciálneho použitia v potravinárskych výrobkoch boli preskúvané v rôznych štúdiách (Bakkali *et al.*, 2008). Množstvo štúdií preukázalo antimikrobiálne vlastnosti eukalyptových rastlinných silíc proti širokému spektru mikroorganizmov. Ukázalo sa, že silica *E. citriodora* má široké spektrum antifungálnej aktivity. Okrem toho sú *Eucalyptus camaldulensis* a *Eucalyptus urophylla* sú tiež dobre známe pre svoje antibakteriálne (Cimanga *et al.*, 2002) a antifungálne (Bardawel *et al.*, 2014) aktivity. Hoci sa niekoľko štúdií zameralo na antifungálne vlastnosti eukalyptových rastlinných silíc (Ramezani *et al.*, 2002; Somda *et al.*, 2007), len niekoľko štúdií hodnotilo ich aktivitu proti patogénnym baktériám a kvasinkám, ktoré kazia potraviny (Delaquis, 2002; Sartorelli *et al.*, 2007). Rastlinné silice (RS) majú vysokú účinnosť proti potravinovým patogénom a mikroorganizmom kaziacim sa v kvapalnej fáze, ale tento účinok v potravinách sa dosiahne len s vyššou koncentráciou RS v porovnaní s MIC v živných médiách (Burt, 2004). Táto skutočnosť môže znamenať organoleptický vplyv spôsobený zmenou prirodzenej chuti jedla prekročením prijateľných prahových hodnôt chuti (Nazer *et al.*, 2005). Preto na zníženie účinku RS na senzoričné vlastnosti môže byť jedným z alternatívnych prístupov použitie RS v parnej fáze. Antimikrobiálne štúdie hodnotili účinok iba vtedy, keď existuje priamy kontakt medzi mikroorganizmom a antimikrobiálnou látkou. RS v parnej fáze by mohli byť vysoko účinné proti potravinovým patogénom a baktériám kaziacich sa v relatívne nižších koncentráciách ako kvapalná fáza, čím by mal minimálny vplyv na organoleptické vlastnosti. Vilela *et al.* (2009) tiež študovali účinok eukalyptovej RS pomocou kontaktných testov a testov prchavosti na hubách kaziace potraviny. Preto by hodnotenie antimikrobiálnych vlastností eukalyptovej RS v parnej fáze otvorilo novšiu dimenziu s obrovskými potenciálnymi aplikáciami.

Cielom našej práce bolo zistiť antimikrobiálny potenciál rastlinnej silice *Eucalyptus globulus* proti fytopatogénnym mikroorganizmom v *in vitro* podmienkach pomocou diskovej difúznej metódy a metódy minimálnej inhibičnej koncentrácie, a v *in situ* podmienkach v parnej fáze na vybranom ovocí a zelenine.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Eucalyptus globulus* bola zakúpená od firmy Hanus, s.r.o. (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica mala pôvod zo Španielska a bola vyrobená destiláciou čerstvých listov vodnou parou. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavnými zložkami, ktoré uvádza výrobca boli 1,8-cineol min. 80%,  $\alpha$ -pinén, kamfén, borneol.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).



### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita *E. globulus* rastlinnej silice (EGRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVH) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100 µl sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10 µl EGRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre mikroskopické vláknité huby (MVH) pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa EGRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 µg/ml do 0,2 µg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbancia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy EGRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli jablka, banána, zemiaka a tekvice. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jablko, banán, zemiak a tekvica na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. EGRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)

$$BGI = [(C - T)/C] \times 100,$$

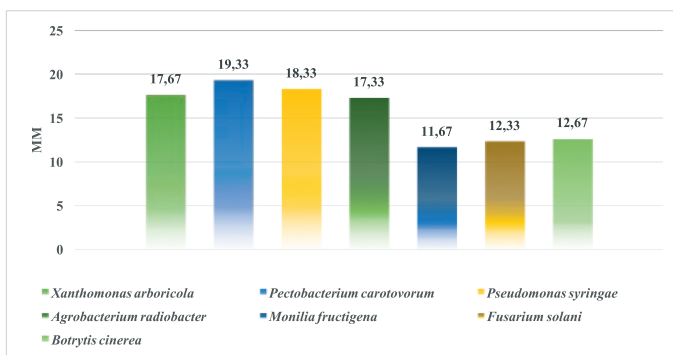
kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft Excel.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *E. globulus* (EGRS) bola hodnotená diskovou difúznou metódou a minimálnou inhibičnou koncentráciou. Silná až stredná inhibičná aktivita EGRS bola pozorovaná v prípade väčšiny testovaných mikroorganizmov (obrázok 1). *Pectobacterium carotovorum* bol najcitlivejšou baktériou zo všetkých testovaných baktérií, pričom EGRS vykazovala veľmi silnú inhibičnú aktivitu. Z testovaných mikroskopických húb bol najcitlivejší *Botrytis cinerea*. Podobné výsledky už skôr pozorovali mnohí výskumníci (Takahashi *et al.*, 2004; Bakkali *et al.*, 2008). Okrem toho boli grampozitívne (G<sup>+</sup>) bakteriálne kmene citlivejšie ako gramnegatívne (G<sup>-</sup>) kmene. Gilles *et al.* (2010) tiež uviedli, že sa zistilo, že najodolnejšia voči testovaným eukalyptovým siliciam je gramnegatívna baktéria *P. aeruginosa* spôsobujúca kazenie potravín.

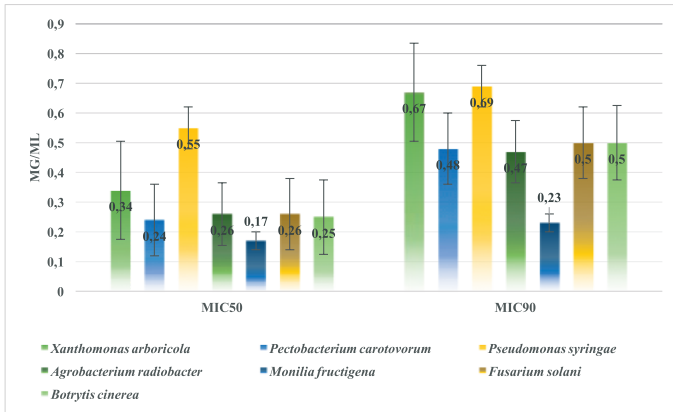


**Obrázok 1.** Antimikrobiálna aktivita EGRS diskovou difúznou metódou v mm

MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií (obrázok 2). Pre *Monilia fructigena* sme zistili najnižšie hodnoty MIC 50 (0,17 mg/ml) a MIC 90 (0,23 mg/ml). Najvyššie hodnoty MIC 50 a MIC 90 boli stanovené pre *Pseudomonas syringae* a *Xanthomonas arboricola*.

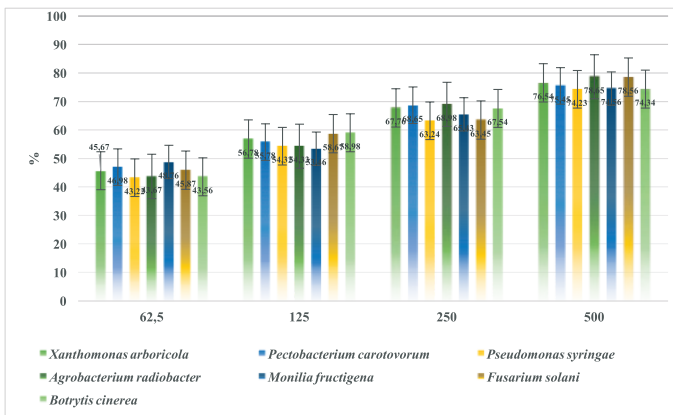
V štúdií Tyagi a Malik (2011) pre bakteriálne kmene sa MIC pohybovala od 2,25 do 9 mg/ml. MIC grampozitívnych baktérií (*B. subtilis* a *S. aureus*) bola nižšia ako u gramnegatívnych baktérií (*E. coli* aDH5, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*). Najvyššiu MIC (9 mg/ml) vykazovali pseudomonády. MBC bakteriálnych kmeňov sa pohybovali od 4,5 do 18 mg/ml a vykazovali podobný profil, t.j. *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* (18 mg/ml) > *E. coli* aDH5, *E. coli* ATCC 25922 (9 mg/ml) > *B. subtilis* a *S. aureus* (4,5 mg/ml). MIC pre kmene húb sa pohybovali od 2,25 do 9 mg/ml. MIC pre *P. digitatum*, *A. niger* bola vyššia (t.j. 9 mg/ml) ako *A. flavus*, *R. nigricans* a *F. oxysporum* (t. j. 4,5 mg/ml), nasledovaná *Mucor* spp. (t.j. 2,25 mg/ml). MFC sa pohybovala od 4,5 do 18 mg/ml a vykazovala podobný vzorec, t.j. *P. digitatum*, *A. niger* (18 mg/ml) > *A. flavus*, *R. nigricans*, *F. oxysporum* (9,0 mg/ml) > *Mucor* spp. (4,5 mg/ml). MIC *C. albicans* (2,25 mg/ml) bola vyššia

ako *S. cerevisiae* (1,13 mg/ml), podobne aj MFC *C. albicans* (4,5 mg/ml) bola vyššia ako *S. cerevisiae* (2,25 mg/ml).



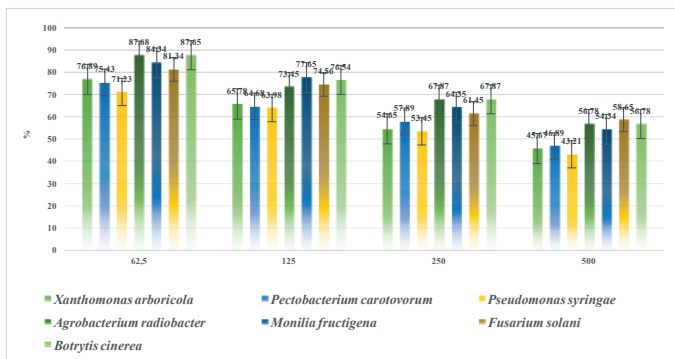
Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia EGRS v mg/ml

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli slivky ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované EGRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii EGRS (500  $\mu$ l/l) bola na slivky *Agrobacterium radiobacter* najsilnejšie inhibovaná baktériou (78,65 %). Najsľabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Pseudomonas syringae*.



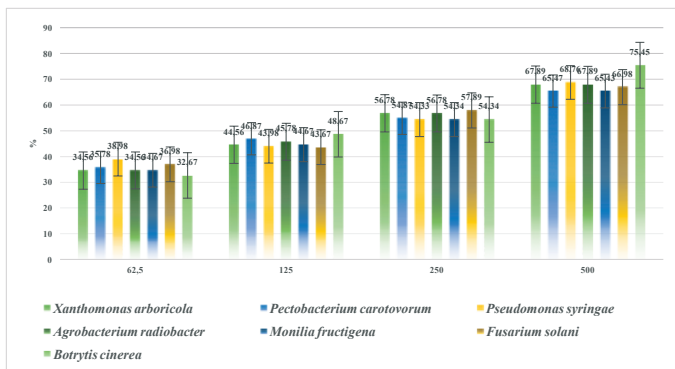
Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli slivky v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli kivi ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované EGRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najnižšej koncentrácii EGRS (62,5  $\mu$ l/l) bola na kivi *A. radiobacter* najsilnejšie inhibovaná baktériou (87,68 %). Najsľabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. syringae*.



Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli kivi v %

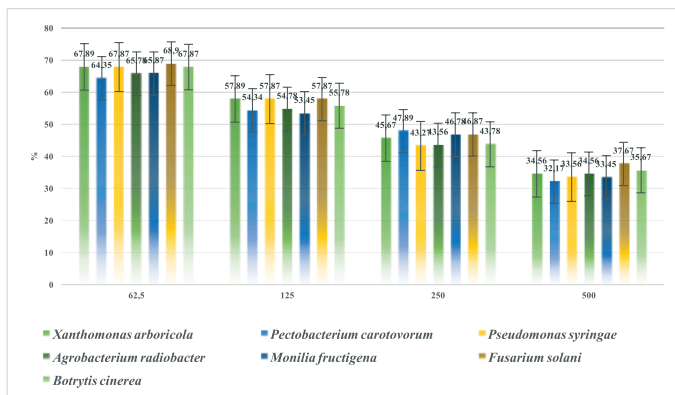
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli uhorky ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované EGRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najvyššej koncentrácii EGRS (500 µl/l) bola na uhorku *B. cinerea* najsilnejšie inhibovaná MVH (75,45 %). Najsľabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *M. fructigena*.



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli uhorky v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli baklažánu ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované EGRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najnižšej koncentrácii EGRS (62,5 µl/l) bola na baklažáne *Fusarium solani* najsilnejšie inhibovaná MVH (68,9 %).

V štúdií Čmiková *et al.* (2023) antimikrobiálna aktivita EGRS v parnej fáze bola testovaná proti rôznym mikroorganizmom a pri rôznych koncentráciách. Použité koncentrácie EGRS boli 500 µl/L, 250 µl/L, 125 µl/L a 62,5 µl/L a potravinový model na testovanie antimikrobiálnej aktivity proti G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup> baktériám, kvasinkám a mikroskopickým hubám bola biela redkivka. Najúčinnější koncentrácia proti vybraným G<sup>+</sup> baktériám bola 62,5 µl/l,



**Obrázok 6.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli baklažánu v %

a to proti *E. faecalis* ( $76,86 \pm 1,43$  %) a *S. aureus* ( $76,79 \pm 2,15$  %). Všetky ostatné koncentrácie mali inhibičný účinok proti  $G^+$  baktériám, aj keď slabší; EGEO v parnej fáze vykazovalo probakteriálnu aktivitu proti *B. subtilis*, čím podporovalo rast pri koncentráciách 500  $\mu\text{L/L}$ , 125  $\mu\text{L/L}$  a 62,5  $\mu\text{L/L}$ . Inými štúdiami sa zistilo, že stále neexistuje štandardná metódička na hodnotenie antimikrobiálnej aktivity RS v parnej fáze, ale doteraz vykonané štúdie naznačujú, že RS v parnej fáze by sa mohli použiť na konzerváciu potravín (Reyes-Jurado *et al.*, 2019). Naše výsledky potvrdzujú, že EGRS má antimikrobiálne vlastnosti v parnej fáze.

## ZÁVER

Výsledky tejto práce ukázali, že rastlinná silica *E. globulus* vykazuje antimikrobiálny potenciál proti celému spektru fytopatogénnym mikroorganizmov, či už sa jedná o baktérie alebo mikroskopické vlákňité huby. Okrem toho bola parná fáza účinnejšia pri inhibícii mikrobiálneho rastu a spôsobila úplnú inhibíciu kmeňov baktérií a mikroskopických húb na štyroch modeloch ovocia a zeleniny. Na potvrdenie antimikrobiálnej aktivity *E. globulus* v parnej fáze je potrebná ďalšia štúdia *in vivo*, ktorá sa môže použiť na konzerváciu a/alebo predĺženie skladovateľnosti surových a spracovaných potravín.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T., Tonogai, Y. 2002. Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. In *Food Chemistry*, vol. 77, no. 1, pp. 47–56. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0308-8146(01)00321-1
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446–475. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2007.09.106
- Bardaweel, S., Hudaib, M., Tawaha, K. 2014. Evaluation of Antibacterial, Antifungal, and Anticancer Activities of Essential Oils from Six Species of Eucalyptus. In *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 17, no. 6, pp. 1165–1174. ISSN 0972-060X, Dostupné na: doi: org/10.1080/0972060x.2014.963169
- Bruhl, J. J. 2004. EUCLID: Eucalypts of Southern Australia (2nd Edition). In *Austral Ecology*, vol. 29, no. 4, pp. 480–482. ISSN 1442-9985, Dostupné na: doi: org/10.1111/j.1442-9993.2004.01399.x
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 94, no. 3, pp. 223–253. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A. J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. In *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 79, no. 2, pp. 213–220. ISSN 0378-8741, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0378-8741(01)00384-1
- Čmiková, N., Galovičová, L., Schwarzová, M., Vukic, M. D., Vukovic, N. L., Kowalczewski, P. Ł., Bakay, L., Kluz, M. I., Puchalski, C., Kačániová, M. 2023. Chemical Composition and Biological Activities of *Eucalyptus globulus* Essential Oil. In *Plants*, vol. 12, no. 5, pp. 1076. ISSN 2223-7747, Dostupné na: doi: org/10.3390/plants12051076
- Delaquis, P. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 74, no. 1–2, pp. 101–109. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0168-1605(01)00734-6
- Ghisalberti, E. L. 1996. Bioactive acylphloroglucinol derivatives from *Eucalyptus* species. In *Phytochemistry*, vol. 41, no. 1, pp. 7–22. ISSN 0031-9422, Dostupné na: doi: org/10.1016/0031-9422(95)00484-x
- Gilles, M., Zhao, J., An, M., Agboola, S. 2010. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. In *Food Chemistry*, vol. 119, no. 2, pp. 731–737. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodchem.2009.07.021
- Nazer, A. I., Kobilinsky, A., Tholozan, J.-L., Dubois-Brissonnet, F. 2005. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. Typhimurium: a synergistic effect? In *Food Microbiology*, vol. 22, no. 5, pp. 391–398. ISSN 0740-0020, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fm.2004.10.003
- Ramezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K. 2002. Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. In *Fitoterapia*, vol. 73, no. 3, pp. 261–262. ISSN 0367-326X, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0367-326x(02)00065-5
- Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Ochoa-Velasco, C. E., Palou, E., López-Malo, A.,

- Ávila-Sosa, R. 2019. Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, no. 10, pp. 1641–1650. ISSN 1040-8398, Dostupné na: doi: [org/10.1080/10408398.2019.1586641](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1586641)
- Sartorelli, P., Marquioreto, A. D., Amaral-Baroli, A., Lima, M. E. L., Moreno, P. R. H. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. In *Phytotherapy Research*, vol. 21, no. 3, pp. 231–233. ISSN 1099-1573, Dostupné na: doi: [org/10.1002/ptr.2051](https://doi.org/10.1002/ptr.2051)
- Silva, J., Abebe, W., Sousa, S. M., Duarte, V. G., Machado, M. I. L., Matos, F. J. A. 2003. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. In *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 89, no. 2–3, pp. 277–283. ISSN 0378-8741, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.jep.2003.09.007](https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.007)
- Somda, I., Serem, P. 2007. Antifungal Effect of *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Azadirachta indica* Oil Extracts on Sorghum Seed-Borne Fungi. In *Asian Journal of Plant Sciences*, vol. 6, no. 8, pp. 1182–1189. ISSN 1682-3974, Dostupné na: doi: [org/10.3923/ajps.2007.1182.1189](https://doi.org/10.3923/ajps.2007.1182.1189)
- Takahashi, T., Kokubo, R., Sakaino, M. 2004. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 39, no. 1, pp. 60–64. ISSN 0266-8254, Dostupné na: doi: [org/10.1111/j.1472-765x.2004.01538.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2004.01538.x)
- Tyagi, A. K., Malik, A. 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. In *Food Chemistry*, vol. 126, no. 1, pp. 228–235. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.foodchem.2010.11.002](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.002)
- Vilela, G. R., de Almeida, G. S., D'Arce, M. A. B. R., Moraes, M. H. D., Brito, J. O., da Silva, M. F. das G. F., Silva, S. C., de Stefano Piedade, S. M., Calori-Domingues, M. A., da Gloria, E. M. 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. In *Journal of Stored Products Research*, vol. 45, no. 2, pp. 108–111. ISSN 0022-474X, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.jspr.2008.10.006](https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.10.006)

## Využitie badiánovej silice proti fytopatogénnym mikroorganizmom v podmienkach *in vitro* a *in situ*

### The use of star anise essential oil against phytopathogenic microorganisms in *in vitro* and *in situ* conditions

Miroslava KAČÁNIOVÁ, Andrea VEREŠOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

The volatile oil known as star anise essential oil is taken from the star anise fruit (*Illicium verum*), a little star-shaped fruit with an anise flavour that is the fruit of a fragrant evergreen tree in the Magnoliaceae family. Natural ingredients with antibacterial and antioxidant capabilities to stop infections can be used as food preservatives to extend shelf life. The goal of our study was to evaluate the antimicrobial activity of *Illicium verum* essential oil against a range of phytopathogenic microorganisms. The antibacterial activity was monitored *in vitro* using the disc diffusion method and the lowest inhibitory concentration. *In situ* observations were made of the antibacterial activity of pear, strawberry, carrot, and white radish. Using the disc diffusion method against *Xanthomonas arboricola*, the agar dilution method against *Agrobacterium radiobacter*, the most potent antibacterial activity was found *in vitro*. Antimicrobial activity against *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae* on fruits and vegetables, was also demonstrated under *in situ* study. We think that star anise essential oil is a potent antibacterial that can extend the shelf life of plant-based food.

**Keywords:** *Illicium verum*, antimicrobial activity, phytopathogenic microorganisms, vegetable and fruits model, *in vitro*, *in situ*

#### Úvod

Pozornosť, ktorú rastlinné silice (RS) priťahujú kvôli ich biologickému účinku ako potenciálnych činidiel na ničenie škodcov, mikroorganizmov evidentne z roka na rok rastie. Sú považované za vedľajšie produkty metabolizmu rastlín a považujú sa za odpariteľné sekundárne metabolity rastlín, ktoré sú zmesou mono a seskviterpénov (Yu *et al.*, 2020). Biologická aktivita RS závisí od ich chemického zloženia, časti rastliny, z ktorej boli extrahované, fenologickej fázy rastliny, podmienok prostredia a metód extrakcie (Ukeh a Umotok, 2011). Veľký počet izolovaných alelochemikálií vykazuje svoju bio aktivitu v nízkych ( $10^{-5}$ - $10^{-6}$  mol/l) alebo extrémne nízkych koncentráciách ( $10^{-10}$  mol/l) (Shutava *et al.*, 2018). Badián je vždyzelená aromatická rastlina z čeľade Schisandraceae pôvodom z juhozápadnej Číny. Vo veľkej miere sa pestuje v tropických a subtropických oblastiach a používa sa ako potravina aj ako liek, čo naznačuje malé alebo žiadne toxické účinky na človeka (Zhou *et al.*, 2016). RS badiánu sa aplikuje lokálne pri reume a po pôrode, používa sa aj ako antiseptikum, ako aj na liečbu zvracania, bolesti žalúdka, rôznych iných bolestíach a nespavosti. Obsah RS v čerstvom ovocí je 2,5- 3,5%, zatiaľ čo v prípade sušenej suroviny medzi 8 a 9 percentami (Wang *et al.*, 2011).



Antimikrobiálny účinok badiánu je jedným z dôležitých zameraní moderného farmakologického výskumu. Badiánová RS má široké inhibičné spektrum aktivít proti rastlinným patogénnym mikroorganizmom (Wang *et al.*, 2019). Niektoré štúdie navyše ukázali, že extrakty z rôznych častí, ako sú korene, konáre, šupky a listy badiánu, majú určité antibakteriálne a protiplesňové účinky. V prípade štyroch testovaných húb (*Helminthosporium maydis*, *Rhizoctonia cerealis*, *Helminthosporium carposaprum*, *Verticillium dahlia*) boli antifungálne koncentrácie v extraktoch semien a listov *I. verum* vyššie ako 50% a v extraktoch z koreňov a konárov nižšie ako 50%. Antimikrobiálna aktivita badiánovej RS (minimálna inhibičná koncentrácia, MIC = 0,5 µL/ml) bola zistená pre *Bacillus subtilis*, a táto aktivita bola silnejšia ako u bežných konzervačných látok, ako je napr. parabén (Damayanti *et al.*, 2019).

Cieľom našej štúdie bolo zistiť antimikrobiálny potenciál *Illicium verum* rastlinnej silice proti fytopatogénnym mikroorganizmom v *in vitro* podmienkach za pomoci diskovej difúznej metódy a minimálnej inhibičnej koncentrácie, a v parnej fáze metódou *in situ*.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Illicium verum* (IVRS) bola zakúpená od firmy Hanus, s.r.o. (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica (RS) bola vyrobená destiláciou sušených plodov. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavné zložky silice uvádzané výrobcom boli trans anetol, metyl chavikol, limonén, cis anetol, alfa pinén, kubebén, fenikulín, alfa karyofylén, beta karyofylén, p-anízaldehyd, eugenol, linalol.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita *Illicium verum* rastlinnej silice (IVRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu (1,5 x 10<sup>8</sup> KTJ/ml) a 100 µl sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10 µl IVRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1% DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkový mikrotitračnú platňu. Následne sa IVRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulum v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 20 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulum bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbanca merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy IVRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli hrušky, jahôd, mrkvy a bielej redkvy. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané hrušky, jahody, mrkva a biela redkova na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. IVRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)

$$BGI = [(C - T)/C] \times 100,$$

kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

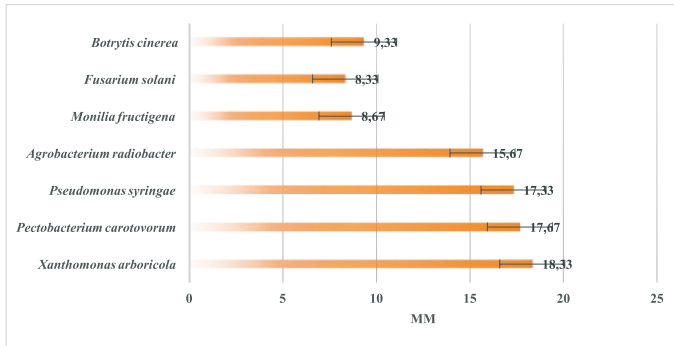
Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antimikrobiálna aktivita *I. verum* rastlinnej silice (IVRS) bola hodnotená diskovou difúznou metódou a minimálnou inhibičnou koncentráciou. Silná až stredná inhibičná aktivita IVRS bola pozorovaná v prípade väčšiny testovaných mikroorganizmov (obrázok 1). *Xanthomonas arboricola* bol najcitlivejšou baktériou zo všetkých testovaných baktérií, pričom IVRS vykazovala veľmi silnú inhibičnú aktivitu. Z testovaných mikroskopických húb bol najcitlivejší *Botrytis cinerea*.

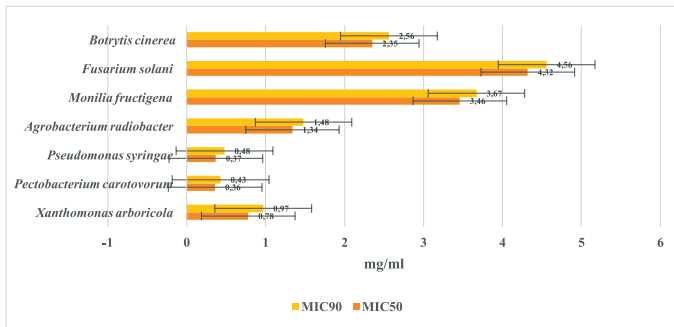
Ibrahim *et al.* (2017) použili metódy agarovej diskovej difúzie, techniky riedenia agaru a stanovenia MIC a MBC (minimálna baktericídna koncentrácia) na vyhodnotenie antibakteriálnej aktivity extraktu z badiánu proti najsilnejším multirezistentným kmeňom

*Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Escherichia coli* a *P. aeruginosa*. Výsledky ukázali, že badián mal významnú antibakteriálnu aktivitu proti všetkým testovaným baktériám s hodnotami MIC medzi 16 až 128 µl/ml. Kombinácia badiánu a niektorých antibiotík môže predstavovať novú možnosť na liečbu infekčných chorôb, pretože odpadové extrakty môžu pôsobiť ako činidlá modifikujúce aktivitu antibiotík. Bakteriostatický mechanizmus badiánu je hlavne prostredníctvom rôznych bakteriostatických zložiek v extraktoch. Tieto pôsobia synergicky na degradáciu bakteriálnych bunkových stien a spôsobujú poškodenie cytoplazmatických membrán. Môžu tiež denaturovať membránové proteíny, čo vedie k strate glukózy, proteínov a DNA z bunky, čo spôsobuje anabolické poruchy a vedie k smrti baktérií a húb (Ibrahim *et al.*, 2017).



**Obrázok 1.** Antimikrobiálna aktivita IVRS diskovou difúznou metódou v mm

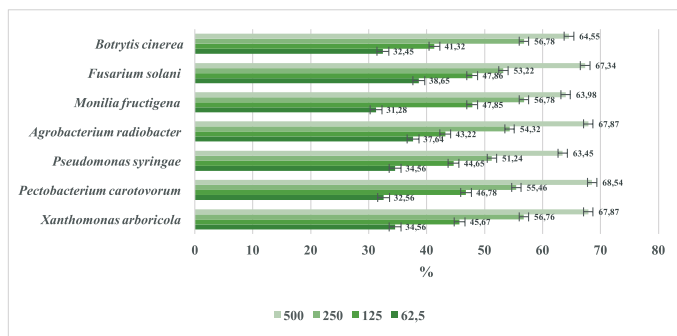
MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií (obrázok 2). Pre *Pectobacterium carotovorum* a *Pseudomonas syringae* sme zistili najnižšie hodnoty MIC 50 (0,36 mg/ml resp. 0,37 mg/ml) a MIC 90 (0,43 mg/ml resp. 0,48 mg/ml). Najvyššie hodnoty MIC 50 a MIC 90 boli stanovené pre *Monilia fructigena* a *Fusarium solani*.



**Obrázok 2.** Minimálna inhibičná koncentrácia IVRS v µg/ml

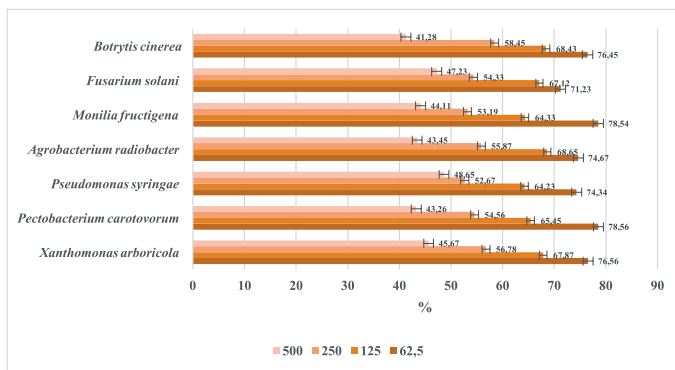
Pre niektoré huby, ako sú *Aspergillus flavus*, *Fusarium tricinctum* a *Candida albicans*, badián vykazuje aj fungicídne vlastnosti s hodnotami MIC a MFC (minimálna fungicídna koncentrácia) 2,5–25  $\mu\text{l/ml}$  (Dzamic *et al.*, 2009). Huang *et al.* (2010) stanovili hodnoty IC50 pre 11 rastlinných patogénov (vrátane *Alternaria solani*, *Bipolaris maydis* a *Botryodiplodia theobromae*) pomocou testu priameho kontaktu a hodnoty IC50 IVRS proti rastu mycélia sa pohybovali od 0,06 do 0,25 mg/ml. *Pythium aphanidermatum* a *Botryodiplodia theobromae* boli vybrané na vyhodnotenie antifungálnej aktivity RS v parnej fáze z *I. verum*, ako aj trans-anetolu pomocou testu kontaktu s parou. Pri použití inhibičného testu došlo tiež k silnej inhibícii klíčenia spór *Magnaporthe oryzae* a hodnota IC50 silice bola stanovená na 0,32 mg/ml. Pri všetkých koncentráciách v médiu vykazoval trans-anetol veľmi podobnú inhibičnú aktivitu ako IVRS proti testovaným hubám, čo opäť naznačuje, že ide o hlavnú aktívnu zložku medzi prchavými látkami v silici (Li *et al.*, 2020). V súlade s týmito štúdiami Singh *et al.* (2006) použili techniku obrátených Petriho misiek a zistili, že RS vykazuje 100% zónu inhibície pre *Fusarium moniliforme*. Zistilo sa tiež, že je vysoko účinný pri kontrole rastu *Penicillium citrium*, *Aspergillus flavus* a *Penicillium viridicatum* tým, že vykazuje viac ako 75% inhibíciu mycéliovej zóny, ako aj 50% inhibíciu pre *Aspergillus niger*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli hrušky ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované IVRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii IVRS (500  $\mu\text{l/l}$ ) bola na hruške *P. carotovorum* najsilnejšie inhibovaná baktériou (68,54%). Najsľabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Pseudomonas syringae*.



Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli hrušky v %

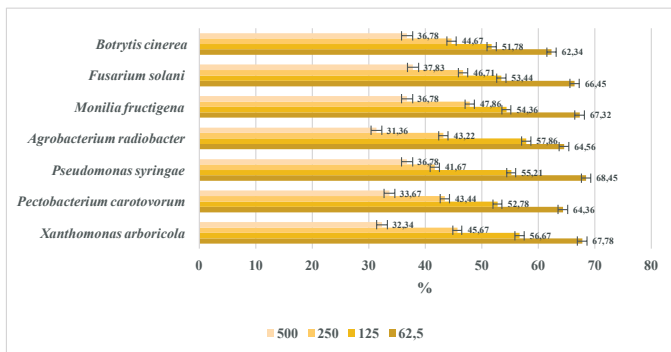
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli jahody ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované IVRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najnižšej koncentrácii IVRS (62,5  $\mu\text{l/l}$ ) bola na jahode *P. carotovorum* najsilnejšie inhibovaná baktériou (78,56%). Najsľabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *F. solani*.



**Obrázok 4.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jahody v %

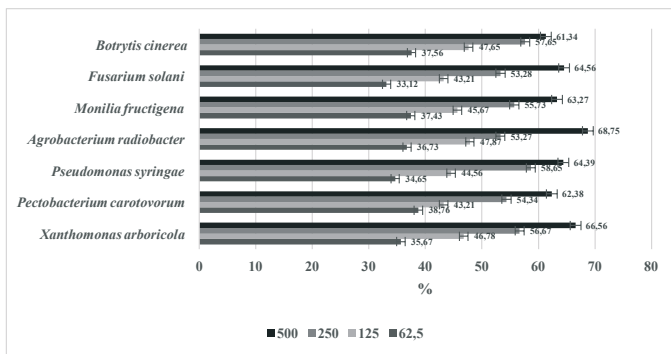
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli mrkvy ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované IVRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najnižšej koncentrácii IVRS (62,5 µl/l) bola na mrkve *P. syringae* najslabšie inhibovaná baktériou (68,45 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Botrytis cinerea*.

Huby a baktérie kaziace potraviny môžu produkovať toxíny a spôsobiť rozklad potravín, ktoré ohrozujú zdravie spotrebiteľov. S dopytom po prírodných potravinových konzervačných látkach, výskum uvádzajúci účinky RS na mikroorganizmy v čerstvých potravinách v posledných rokoch je horúcou témou (Dwivedy *et al.*, 2018). Trvanlivosť potravín je najviac významná pre spotrebiteľa, ktorá sa skraca peroxidáciou lipidov a enzymatickou hydrolyzou. Najviac obmedzujúca je oxidácia tukov a olejov spôsobujúcich pachute, čo je faktor ovplyvňujúci trvanlivosť dehydrovaných potravín (Pedmashree *et al.*, 2007). Prírodné látky, ktoré majú ako antimikrobiálne, tak aj antioxidantné vlastnosti na prevenciu kazení sa môže stať vhodnou konzervačnou látkou potravín (Dwivedy *et al.*, 2018). Rocha Neto *et al.* (2019) zistili, že 0,125 g/l IVRS v parnej fáze úplne inhibovala rast *Penicillium expansum* v jablkách. Dwivedy *et al.* (2019) zistili, že 0,7 µl/ml IVRS preukázala 38,33 % účinnosť pri ochrane skladovania pistácií proti rastu kmeňov *Aspergillus flavus*, pričom úroveň ochrany sa zvýšila až na 61,66 % pri použití pri dvojnásobnej dávke (1,4 µl/ml). Yu *et al.* (2018) zistili, že 600 mg IVRS/kg potraviny v nosník môže zvýšiť aktivitu u vajec skladovaných od 0 d do 56 d, čo naznačovalo predĺženie trvanlivosti vajec. Zhang *et al.* (2023) zistil, že výpary IVRS môže účinne inhibovať mikrobiálny rast na povrchu mäsa a udržuje ho čerstvé. Yu *et al.* (2020) tiež zistili pokles celkového počtu baktérií v chladených bravčových polovičkách. Liu *et al.* (2020) zistili, že povlak IVRS s nanoemulziou predĺžil trvanlivosť mäsa od 8 d do 16 d kvôli antimikrobiálnym účinkom. Sun *et al.* (2014) zistili, že IVRS by mohla zlepšiť chuť duseného kurčaťa.



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli mrkvy v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli bielej redkvočky ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované IVRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najvyššej koncentrácii IVRS (500 µl/l) bola na bielej redkvočke *Agrobacterium radiobacter* najsilnejšie inhibovaná baktériou (68,75 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná rovnako ako na modeli cvikli pre *B. cinerea*.



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli bielej redkvočky v %

## ZÁVER

Záverom môžeme konštatovať, že badiánová RS má významnú antimikrobiálnu aktivitu v *in vitro* a *in situ* podmienkach. Je vhodnou antimikrobiálnou látkou proti širokému spektru fytopatogénnych mikroorganizmov. Jej aktivita môžu byť spôsobená chemickým zložením a koncentráciou bioaktívnych zlúčenín. Vzhľadom na dobrú antimikrobiálnu

aktivitu, prírodnú aromatickú anízovú príchuť, IVRS má dobrý potenciál byť skvelou alternatívou ako tradičná potravinová konzervačná látka. IVRS je vysoko účinná, bezpečná a ekonomická antimikrobiálna látka pre budúci potravinársky priemysel. Okrem toho, antimikrobiálny mechanizmus účinku IVRS a jej aktívnych komponentov vyžaduje ďalšie štúdiá. Pokusy v komerčnej aplikácii a v ďalších štúdiách na potravinách môžu zistiť jej možnosti aplikácie ako prírodného konzervačného prostriedku v potravinách a potravinárskom priemysle.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- da Rocha Neto, A. C., Navarro, B. B., Canton, L., Maraschin, M., Di Piero, R. M. 2019. Antifungal activity of palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and star anise (*Illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action. In *LWT*, vol. 105, pp. 385–392. ISSN 0023-6438, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.lwt.2019.02.060
- Damayanti, R., T., Alfian, E. Z. 2019. *Illicium verum* Essential Oil as Antibacterial Agent. *Proceedings of the 1st International Conference on Chemical Science and Technology Innovation*. Dostupné na: <https://doi.org/10.5220/0008855200960099>
- Dwivedy, A. K., Singh, V. K., Prakash, B., Dubey, N. K. 2018. Nanoencapsulated *Illicium verum* Hook. f. essential oil as an effective novel plant-based preservative against aflatoxin B 1 production and free radical generation. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 111, pp. 102–113. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2017.11.007
- Dzamic, A., Sokovic, M., Ristic, M. S., Grijic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., Marin, P. D. 2009. Chemical composition and antifungal activity of *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils. In *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 45, no. 2, pp. 259–261. ISSN 0009-3130, Dostupné na: doi: org/10.1007/s10600-009-9283-4
- Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, Y., Chen, X., Guo, Z., Wang, Q., Jiang, W. 2010. Antifungal Activity of the Essential Oil of *Illicium verum* Fruit and Its Main Component trans-Anethole. In *Molecules*, vol. 15, no. 11, pp. 7558–7569. ISSN 1420-3049, Dostupné na: doi: org/10.3390/molecules15117558
- Ibrahim, M. K., Mattar, Z. A., Abdel-Khalek, H. H., Azzam, Y. M. 2017. Evaluation of antibacterial efficacy of anise wastes against some multidrug resistant bacterial isolates. In *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 10, no. 1, pp. 34–43. ISSN 0449-3060, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.jrras.2016.11.002
- Li, Y., Wang, Y., Kong, W., Yang, S., Luo, J., Yang, M. 2020. *Illicium verum* essential oil, a potential natural fumigant in preservation of lotus seeds from fungal contamination.

- In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 141, pp. 111347. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2020.111347
- Liu, Q., Zhang, M., Bhandari, B., Xu, J., Yang, C. 2020. Effects of nanoemulsion-based active coatings with composite mixture of star anise essential oil, polylysine, and nisin on the quality and shelf life of ready-to-eat Yao meat products. In *Food Control*, vol. 107, pp. 106771. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106771
- Padmashree, A., Roopa, N., Semwal, A. D., Sharma, G. K., Agathian, G., Bawa, A. S. 2007. Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants. In *Food Chemistry*, vol. 104, no. 1, pp. 59–66. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.074
- Shutava, H. G., Shutava, T. G., Kavalenka, N. A., Supichenka, H. N. 2018. Antiradical and Antibacterial Activity of Essential Oils from the Lamiaceae Family Plants in Connection with their Composition and Optical Activity of Components. In *International Journal of Secondary Metabolite*, vol. 5, no. 2, pp. 109–122. ISSN 2148-6905, Dostupné na: doi: org/10.21448/ijsm.408165
- Singh, G., Maurya, S., deLampasona, M., Catalan, C. 2005. Chemical constituents, antimicrobial investigations and antioxidative potential of volatile oil and acetone extract of star anise fruits. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 86, no. 1, pp. 111–121. ISSN 0022-5142, Dostupné na: doi: org/10.1002/jsfa.2277
- Sun, L., Chen, J., Li, M., Liu, Y., Zhao, G. 2014. Effect of Star Anise (*Illicium verum*) on the Volatile Compounds of Stewed Chicken. In *Journal of Food Process Engineering*, vol. 37, no. 2, pp. 131–145. ISSN 0145-8876, Dostupné na: doi: org/10.1111/jfp.12069
- Ukeh, D. A., Umoetok, S. B. A. 2011. Repellent effects of five monoterpenoid odours against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.) in Calabar, Nigeria. In *Crop Protection*, vol. 30, no. 10, pp. 1351–1355. ISSN 0261-2194, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.cropro.2011.05.016
- Wang, G.-W., Hu, W.-T., Huang, B.-K., Qin, L.-P. 2011. *Illicium verum*: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 136, no. 1, pp. 10–20. ISSN 0378-8741, Dostupné na: doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.051
- Wang, Y., Ding, H., Xu, X., Dan, C., Wang, Z., Liu, L. 2019. Antibacterial Effect of Plant Essential Oil on *Bacillus subtilis*. In *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, vol. 19, pp. 72-78. ISSN 1009-7848
- Yu, C., Wei, J., Yang, C., Yang, Z., Yang, W., Jiang, S. 2018. Effects of star anise (*Illicium verum* Hook.f.) essential oil on laying performance and antioxidant status of laying hens. In *Poultry Science*, vol. 97, no. 11, pp. 3957–3966. ISSN 0032-5791, Dostupné na: doi: org/10.3382/ps/pey263
- Yu, C., Zhang, J., Wang, T. 2020. Star anise essential oil: chemical compounds, antifungal and antioxidant activities: a review. In *Journal of Essential Oil Research*, vol. 33, no. 1, pp. 1–22. ISSN 1041-2905, Dostupné na: doi: org/10.1080/10412905.2020.1813213
- Zhang, L., Zhang, M., Ju, R., Bhandari, B., Liu, K. 2023. Antibacterial mechanisms of star anise essential oil microcapsules encapsulated by rice protein-depolymerized pectin electrostatic complexation and its application in crab meatballs. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 384, pp. 109963. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109963
- Zhou, B.-G., Wang, S., Dou, T.-T., Liu, S., Li, M.-Y., Hua, R.-M., Li, S.-G., Lin, H.-F. 2016.



Aphicidal Activity of *Illicium verum* Fruit Extracts and Their Effects on the Acetylcholinesterase and Glutathione S-transferases Activities in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). In *Journal of Insect Science*, vol. 16, no. 1, pp. 11. ISSN 1536-2442, Dostupné na: doi: org/10.1093/jisesa/iev163

## Antimikrobiálny efekt kardamónovej rastlinnej silice na fytopatogénne baktérie a mikroskopické vláknité huby

### Antimicrobial effect of cardamom essential oil on phytopathogenic bacteria and microscopic filamentous fungi

Miroslava KAČÁNIOVÁ, Andrea VEREŠOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

*Elettaria cardamomum* essential oil is low in toxicity and readily broken down in the human body, exhibiting a broad spectrum of biological actions. Because of these qualities, it is a strong contender for extending the shelf life and protecting agricultural products. Our research used the lowest inhibition concentration approach and the disc diffusion method to examine the antibacterial activity of *E. cardamomum* essential oil against phytopathogenic microorganisms. Furthermore, we used the method of plant essential oil evaporation at varying concentrations to study the antibacterial action on a food model. *Pseudomonas syringae* had the highest antibacterial activity via the disk diffusion method, while *Fusarium solani* had the lowest. *Agrobacterium radiobacter* had the lowest MIC 50 (1.18 mg/ml) and MIC 90 (1.28 mg/ml) values. In models of vegetables and fruits, the development of *Pectobacterium carotovorum* and *Monilia fructigena* was suppressed by the greatest concentration of essential oil (500 µl/l).

**Keywords:** *Elettaria cardamomum*, antimicrobial activity, phytopathogenic bacteria and fungi, vapor phase

#### ÚVOD

*Elettaria cardamomum* (L.) Maton, patrí do čeľade Zingiberaceae (miestny názov: kardamóm), je drahé a komerčne významné korenie, ktoré je žiadané na celom svete. Hoci pochádza z Indie a Srí Lanky, pestuje sa aj v Guatemale, Thajsku, Salvádore, Malajskom súostroví, Vietname, Papui Novej Guinei, Kambodži, Laose a Tanzánii, pričom Guatemala je najväčším producentom *E. cardamomum* vo svete (Cyriac *et al.*, 2016; Aghasi *et al.*, 2018). Rastlinné silice sú dobrým zdrojom bio aktívnych zlúčenín vo forme cyklických a acyklických, neokysličených alebo okysličených uhľovodíkov monoterpénov, seskviterpénov a diterpénov. V ľudovom liečiteľstve sa používa pri liečbe niekoľkých chorobných stavov, ako je zmiernenie bolesti, rán, nevoľnosti a rakovinových lézií (Man *et al.*, 2019). Zloženie rastlinnej silice závisí od čeľade, rodu, druhu a chemotypu rastliny, ako aj od materiálu, z ktorého sa získava, podmienok pestovania, obdobia zberu a geografického pôvodu (Figueiredo *et al.*, 2008). Biologická aktivita rastlinnej silice *E. cardamomum* je úzko spojená s ich chemickým zložením, ako je ester  $\alpha$ -terpinylacetát a monoterpén 1,8-cineol,  $\alpha$ -terpineol, linalool,  $\alpha$ -pinén a niekoľko ďalších (Ashokkumar *et al.*, 2020). Široká škála aromatických rastlín alebo ich častí bola skúmaná na prítomnosť prchavých zlúčenín a hodnotená z hľadiska antibakteriálnych, antifungálnych a antivírusových účinkov (Swamy *et al.*, 2016). Rastlinné silice majú vďaka svojim biologickým aktivitám a vý-

rzným chuťovým a vonným vlastnostiam vynikajúci obchodný potenciál na globálnom trhu kvôli vysokým požiadavkám v kozmetickom, farmaceutickom, potravinárskom priemysle a tradičnej medicíne (Sarkic a Stappen, 2018; Helal *et al.*, 2019). Nielen kardamónová silica, ale aj jeho extrakty majú sľubný potenciál na použitie ako konzervačné látky v potravinárskom priemysle vďaka svojim antibakteriálnym a aromatickým vlastnostiam a sú považované za preferované alternatívy k syntetickým zlúčeninám (Singh *et al.*, 2018). Rastlinná silica *E. cardamomum* je známa svojou charakteristickou arómou a je široko používaná v potravinárskom a kozmetickom priemysle ako ochucovadlo a vonné činidlo. Je to relaxant hladkého svalstva čriev (Al-Zuhair, 1996) a vykazuje antispazmodické, protihnačkové a antibakteriálne účinky (Gilani *et al.*, 2008; Özkan *et al.*, 2018). U tejto rastlinnej silice bol zistený antimikrobiálny účinok proti niekoľkým gramnegatívnym baktériám, ako sú *Escherichia coli* (Singh *et al.*, 2007) a *Pseudomonas aeruginosa* (Boxall *et al.*, 2020).

Cieľom našej práce bolo overiť antimikrobiálnu schopnosť rastlinnej silice *Elettaria cardamomum* proti fytopatogénnym mikroorganizmom *in vitro* podmienkach, a v parnej fáze na vybranom ovocí a zelenine.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Elettaria cardamomum* bola zakúpená od firmy Hanus, s.r.o. (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica mala pôvod z Guatemaly. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Výrobca uvádza chemické zloženie silice nasledovne: 1,8-cineol (eukalyptol) 34 %, D-limonén, neral, geraniol, geranial.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita *Elettaria cardamomum* rastlinnej silice (ECRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu (1,5 x 10<sup>8</sup> KTJ/ml) a 100 µl sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10 µl ECRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 25 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa ECRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 µg/ml do 0,2 µg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulum v jamkách. Bakteriálne zorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulum bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbanca merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy ECRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli jablka, banána, zemiaka a tekvice. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jablko, banán, zemiak a tekvica na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. ECRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a nanesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)  $BGI = [(C - T)/C] \times 100$ , kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

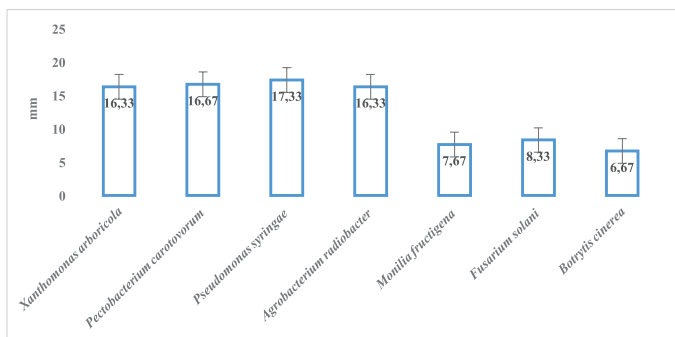
Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Prírodné produkty a prirodzene odvodené zlúčeniny z rastlín môžu mať uplatnenie pri kontrole patogénov v potravinách (Bowles a Juneja, 1998; Davidson *et al.*, 2014). Výzvou je izolovať, stabilizovať a začleniť prírodné antimikrobiálne látky do potravín bez nepriaznivého ovplyvnenia senzorických, nutričných a bezpečnostných charakteristík (ElMalti *et al.*, 2007). To sa musí dosiahnuť bez výrazného zvýšenia výrobných, spracovateľských a marketingových nákladov.

Antimikrobiálna aktivita *Elettaria cardamomum* rastlinnej silice (ECRS) bola hodnotená diskovou difúznou metódou a minimálnou inhibičnou koncentráciou. Silná až stredná inhibičná aktivita ECRS bola pozorovaná v prípade väčšiny testovaných mikroorganizmov (obrázok 1). *Pseudomonas syringae* bol najcitlivejšou baktériou zo všetkých testovaných

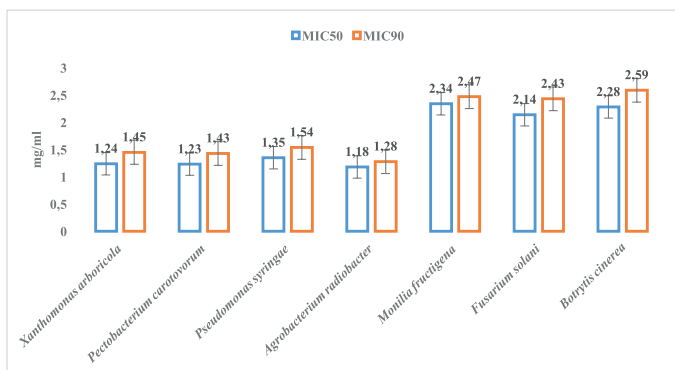
baktérií, pričom ECRS vykazovala veľmi silnú inhibičnú aktivitu. Z testovaných mikroskopických húb bol najcitlivejší *Fusarium solani*.



**Obrázok 1.** Antimikrobiálna aktivita ECRS diskovou difúznou metódou v mm

Výsledky inej štúdie preukázali rôzny stupeň antimikrobiálnej aktivity ECRS proti rôznym kmeňom bakteriálnych druhov. V štúdií boli *C. albicans* a *S. mutans* najcitlivejšie mikroorganizmy s maximálnymi zónami inhibície  $11,6 \pm 0,56$  mm a  $11,4 \pm 0,55$  mm, po ktorých nasledovali kmene *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* a *S. typhimurium* s veľkosťou inhibičnej zóny  $9,8 \pm 0,20$ ,  $9,8 \pm 0,17$ ,  $8,1 \pm 0,15$  a  $5,7 \pm 0,20$  mm. *P. aeruginosa* bol najodolnejší kmeň (Abdullah, Asghar *et al.*, 2017).

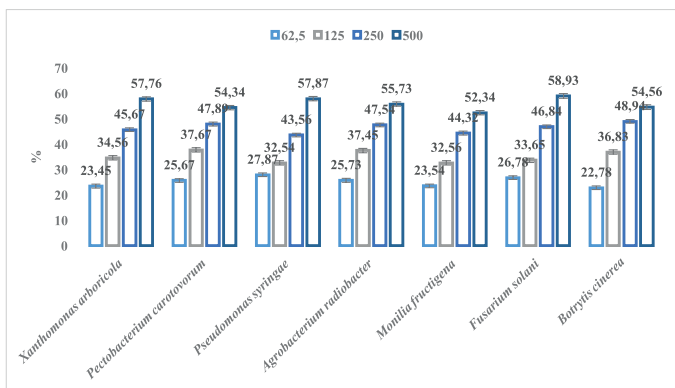
MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií (obrázok 2). Pre *Agrobacterium radiobacter* sme zistili najnižšie hodnoty MIC 50 (1,18 mg/ml) a MIC 90 (1,28 mg/ml). Najvyššie hodnoty MIC 50 a MIC 90 boli stanovené pre *Monilia fructigena* a *Fusarium solani*.



**Obrázok 2.** Minimálna inhibičná koncentrácia ECRS v mg/ml

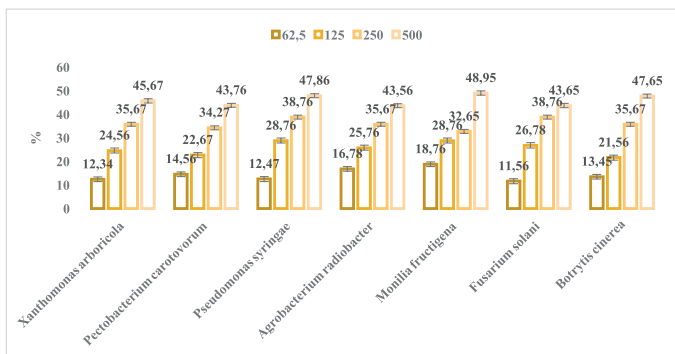
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli jablka ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované ECRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii ECRS (500  $\mu$ l/l) bola na jablku *F. solani* najsilnejšie inhibovaná

MVH (57,87 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *M. fructigena*.



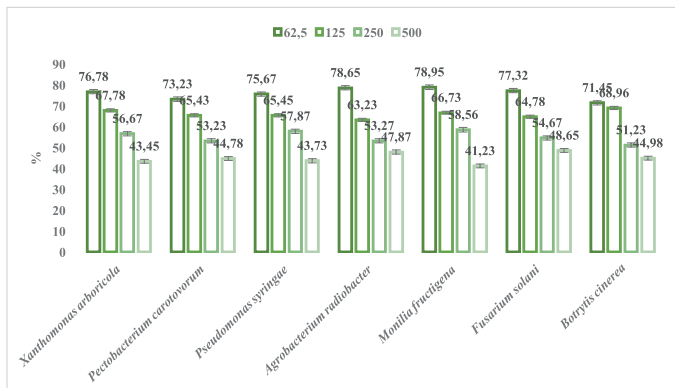
**Obrázok 3.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jablka v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli banána ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované ECERS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najvyššej koncentrácii ECERS (500 µl/l) bola na banáne *M. fructigena* najsilnejšie inhibovaná MVH (48,95 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *A. radiobacter*.

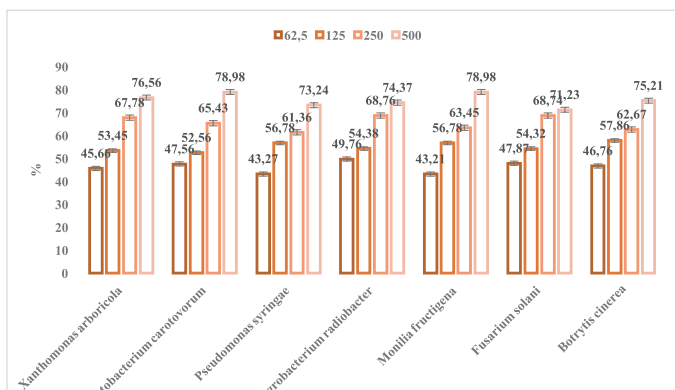


**Obrázok 4.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli banána v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli zemiaka ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované ECERS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najnižšej koncentrácii ECERS (62,5 µl/l) bola na zemiaku *M. fructigena* najsilnejšie inhibovaná baktériou (78,95 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Botrytis cinerea*.



**Obrázok 5.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli zemiaka v %



**Obrázok 6.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli tekvice v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli tekvice ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované ECRS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najvyššej koncentrácii ECRS (500 µg/l) bola na tekvici *Pectobacterium carotovorum* a *M. fructigena* najsilnejšie inhibovaná baktériou (78,98 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná rovnako ako na modeli cvikli pre *F. solani*.

Ochorenia prenášané potravinami sú stále veľkým problémom vo svete, dokonca aj vo vyspelých krajinách (Mead *et al.*, 1999). Rôzne mikroorganizmy tiež vedú ku kazeniu potravín, čo je jedna z najdôležitejších vecí v potravinárskom priemysle. Doteraz bolo zistených mnoho patogénnych mikroorganizmov, ako napríklad *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* a *Listeria monocytogenes*, ako pôvodcovia chorôb prenášaných potravinami a/alebo kazením potravín (Deak, 2007). Surové a/alebo spraco-

vané potraviny sú vystavené kontaminácii počas výroby, predaja a distribúcie potravín (Deak, 2007). Spôľahlivosť syntetických chemikálií používaných na úpravu potravín bola spochybňovaná z dôvodu ekonomických dopadov a obáv spotrebiteľov o ich bezpečnosti. Veľká pozornosť sa teda venovala prírodným zlúčeninám alebo prírodným produktom (Alzoreky a Nakahara, 2003). V poslednej dobe je značný záujem o extrakty a rastlinné silyce z aromatických rastlín s antimikrobiálnymi aktivitami na kontrolu patogénov a/alebo mikroorganizmov produkujúcich toxíny v potravinách (Alzoreky a Nakahara, 2003).

Testovala sa aj antimikrobiálna aktivita niektorých zložiek RS proti patogénom z potravín, vrátane húb produkujúcich mykotoxíny (Kim *et al.*, 1995; Ultee *et al.*, 2000; Ultee a Smid, 2001). Okrem toho boli RS vyvinuté a navrhnuté na rovnaký účel v potravinách ako prírodné antioxidanty a/alebo antimikrobiálne látky (Ginesta-Peris *et al.*, 1994; Del Campo *et al.*, 2000; Hsieh *et al.*, 2001).

## ZÁVER

Výsledkami našich analýz sme zistili, že rastlinná silica kardamónu mala vyšší inhibičný účinok na rast fytopategénnych baktérií ale aj mikroskopických húb podľa zvolenej metódy antimikrobiálnej aktivity baktérie. Výsledkami našich analýz sme zistili, že táto rastlinná silica sa vyznačuje silnou antimikrobiálnou aktivitou proti rôznym baktériám a MVH a môže sa podieľať na predlžovaní trvanlivosti ovocia a zeleniny.

## PODĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných sílic z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Abdullah, Asghar, A., Butt, M. S., Shahid, M., Huang, Q. 2017. Evaluating the antimicrobial potential of green cardamom essential oil focusing on quorum sensing inhibition of *Chromobacterium violaceum*. In *Journal of Food Science and Technology*, vol. 54, no. 8, pp. 2306–2315. ISSN 0022-1155, Dostupné na: doi:org/10.1007/s13197-017-2668-7
- Aghasi, M., Ghazi-Zahedi, S., Koohdani, F., Siassi, F., Nasli-Esfahani, E., Keshavarz, A., Qorbani, M., Khoshamal, H., Salari-Moghaddam, A., Sotoudeh, G. 2018. The effects of green cardamom supplementation on blood glucose, lipids profile, oxidative stress, sirtuin-1 and irisin in type 2 diabetic patients: a study protocol for a randomized placebo-controlled clinical trial. IN *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 18, no. 1. ISSN 1472-6882, Dostupné na: doi: org/10.1186/s12906-017-2068-6
- Alzoreky, N. S., Nakahara, K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 80, no. 3, pp. 223–230. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0168-1605(02)00169-1



- Al-Zuhair, H. 1996. Pharmacological studies of cardamom oil in animals. In *Pharmacological Research*, vol. 34, no. 1–2, pp. 79–82. ISSN 1043-6618, Dostupné na: doi: org/10.1006/phrs.1996.0067
- Bowles, B. L., Juneja, V. K. 1998. Inhibition of foodborne bacterial pathogens by naturally occurring food additives. In *Journal of Food Safety*, vol. 18, no. 2, pp. 101–112. ISSN 0149-6085, Dostupné na: doi: org/10.1111/j.1745-4565.1998.tb00206.x
- Boxall, M. D., Day, M. R., Greig, D. R., Jenkins, C. 2020. Antimicrobial resistance profiles of diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolated from travellers returning to the UK, 2015–2017. In *Journal of Medical Microbiology*, vol. 69, no. 7, pp. 932–943. ISSN 0022-2615, Dostupné na: doi: org/10.1099/jmm.0.001214
- Campo, J. D., Amiot, M.-J., Nguyen-The, C. 2000. Antimicrobial Effect of Rosemary Extracts. In *Journal of Food Protection*, vol. 63, no. 10, pp. 1359–1368. ISSN 0362-028X, Dostupné na: doi: org/10.4315/0362-028x-63.10.1359
- Cyriac, A., Paul, R., Anupama, K., Senthil kumar, R., Sheeja, T. E., Nirmal Babu, K., Parthasarathy, V. A. 2016. Isolation and characterization of genomic microsatellite markers for small cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) for utility in genetic diversity analysis. In *Physiology and Molecular Biology of Plants*, vol. 22, no. 2, pp. 219–229. ISSN 0971-5894, Dostupné na: doi: org/10.1007/s12298-016-0355-1
- Davidson, P. M., Taylor, T. M., Schmidt, S. E. 2014. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. In *Food Microbiology*, pp. 765–801. ISSN 0740-0020, Dostupné na: doi: org/10.1128/9781555818463.ch30
- Deak, T. 2007. Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press. Dostupné na: doi: org/10.1201/9781420044942
- Elmalti, J., Mountassif, D., Amarouch, H. 2007. Antimicrobial activity of *Elettaria cardamomum*: Toxicity, biochemical and histological studies. In *Food Chemistry*, vol. 104, no. 4, pp. 1560–1568. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodchem.2007.02.043
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Scheffer, J. J. C. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. In *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 23, no. 4, pp. 213–226. ISSN 0882-5734, Dostupné na: doi: org/10.1002/ffj.1875
- Gilani, A. H., Jabeen, Q., Khan, A., Shah, A. J. 2008. Gut modulatory, blood pressure lowering, diuretic and sedative activities of cardamom. In *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 115, no. 3, pp. 463–472. ISSN 0378-8741, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.jep.2007.10.015
- Ginesta-Peris, E., Garcia-Breijo, F. J., Primo-Yúfera, E. 1994. Antimicrobial activity of xanthatin from *Xanthium spinosum* L. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 18, no. 4, pp. 206–208. ISSN 0266-8254, Dostupné na: doi: org/10.1111/j.1472-765x.1994.tb00848.x
- Helal, I. M., El-Bessoumy, A., Al-Bataineh, E., Joseph, M. R. P., Rajagopalan, P., Chandramoorthy, H. C., Ben Hadj Ahmed, S. 2019. Antimicrobial Efficiency of Essential Oils from Traditional Medicinal Plants of Asir Region, Saudi Arabia, over Drug Resistant Isolates. In *BioMed Research International*, vol. 2019, pp. 1–9. ISSN 2314-6133, Dostupné na: doi: org/10.1155/2019/8928306
- Hsieh, P.-C., Mau, J.-L., Huang, S.-H. 2001. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. In *Food Microbiology*, vol. 18, no. 1, pp. 35–43. ISSN 0740-0020, Dostupné na: doi: org/10.1006/fmic.2000.0376

- Kim, J., Marshall, M. R., Wei, C. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol 43, no. 11, pp. 2839–2845. ISSN 0021-8561, Dostupné na: doi: org/10.1021/jf00059a013
- Man, A., Santacroce, L., Iacob, R., Mare, A., Man, L. 2019. Antimicrobial Activity of Six Essential Oils Against a Group of Human Pathogens: A Comparative Study. In *Pathogens*, vol. 8, no. 1, pp. 15. ISSN 2076-0817, Dostupné na: doi: org/10.3390/pathogens8010015
- Mead, P. S., Slutsker, L., Griffin, P. M., Tauxe, R. V. 1999. Food-Related Illness and Death in the United States Reply to Dr. Hedberg. In *Emerging Infectious Diseases*, vol. 5, no. 6, pp. 841–842. ISSN 1080-6040, Dostupné na: doi: org/10.3201/eid0506.990625
- Özkan, O. E., Olgun, Ç., Güney, B., Gür, M., Güney, K., Ateş, S. 2018. Chemical composition and antimicrobial activity of *Myristica fragrans* & *Elettaria cardamomum* essential oil. In *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, vol. 18, no. 2, pp. 225–229. ISSN 1309-4181, Dostupné na: doi: org/10.17475/kastorman.356765
- Sarkic, A., Stappen, I. 2018. Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. In *Cosmetics*, vol. 5, no. 1, pp. 11. ISSN 2079-9284, Dostupné na: doi: org/10.3390/cosmetics5010011
- Singh R., Kaushik R., Jaglan V. 2018. Antibacterial and antioxidant activity of green cardamom and rosemary extract in food products: A brief review. In *Journal of Pharmaceutical Innovation*, vol. 7, pp. 568–573. ISSN 1872-5120, Dostupné na: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:222262055>
- Singh, G., Kiran, S., Marimuthu, P., Isidorov, V., Vinogorova, V. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and various oleoresins of *Elettaria cardamomum* (seeds and pods). In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 88, no. 2, pp. 280–289. ISSN 0022-5142, Dostupné na: doi: org/10.1002/jsfa.3087
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Sinniah, U. R. 2016. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. In *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2016, pp. 1–21. ISSN 1741-427X, Dostupné na: doi: org/10.1155/2016/3012462
- Ultee, A., & Smid, E. J. (2001). Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 64(3), 373–378. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00480-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00480-3)
- Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., & Smid, E. J. (2000). Antimicrobial Activity of Carvacrol toward *Bacillus cereus* on Rice. *Journal of Food Protection*, 63(5), 620–624. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.5.620>

## ***Santalum album* ako antimikrobiálny produkt proti fytopatogénnym mikroorganizmom**

### ***Santalum album* as antimicrobial product against phytopathogenic microorganisms**

Miroslava KAČÁNIOVÁ, Andrea VEREŠOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### **Abstrakt**

The essential oil in the heartwood of *Santalum album* is what gives it its commercial and cultural importance; the amount of oil varies greatly between and even between species. Because of its lingering scent when used as a fixative, *Santalum album* essential oil (SAEO) is highly sought after by the food sectors. There are a number of EOs available to add flavour to products and *Santalum album* EO plays a vital role with its strong sweet fragrance. *S. album* EO keeps it contamination free, provides a rich flavour, and extends shelf-life of the product. The main objective of the study was to evaluate the antibacterial activity of the essential oil produced in Slovakia *in vitro* and *in situ*. The zones of inhibition for phytopathogenic bacteria ranged from 15.33 to 16.33 mm and for pathogenic fungi from 8.33 to 9.33 mm, respectively, indicating antibacterial activity that was either moderate or very high. *Xanthomonas arboricola* had the lowest MIC values among the bacteria tested. *In situ* antimicrobial analysis using apple, banana, cucumber and carrot showed that most of the bacteria were inhibited by vapour phase SAEO at all concentrations tested. Using the apple and banana model, the highest inhibition against *Fusarium solani* and *Pseudomonas syringae* was observed at a concentration of 500 µl/l. Conversely, *P. syringae* and *X. arboricola* on the cucumber and carrot model was most inhibited at the lowest concentration of 62.5 µl/l. According to research, *S. album* essential oil exhibits antibacterial activity and is safe and aesthetic, making it a possible alternative to conventional food preservatives.

**Keywords:** sandalwood, essential oil, *in situ*, *in vitro*, shelf life, bacteria, fungi

#### **ÚVOD**

Rastlinná silica zo santalového dreva (SARS) sa používa lokálne po stáročia v ajurvédskej aj tradičnej čínskej medicíne. SARS sa destiluje z jadrového dreva stromu *Santalum album* a obsahuje viac ako 125 štruktúrne príbuzných zlúčenín, pričom menej ako tucet zložiek je prítomných v koncentráciách vyšších ako 1 % hmotnosti (Roy *et al.*, 2017). Pretože SARS je významným obchodným artiklom, používa sa v mnohých kozmetických produktoch a parfumoch. Je známe, že SARS má protizápalové vlastnosti *in vitro* prostredníctvom viacerých mechanizmov. SARS inhibuje oxidačný enzým 5-lipoxygenázu a má aktivitu zachytávajúcu DPPH radikály a *in vivo*, čím sa získali informácie, že SARS chráni pečeň myši pred poškodením spôsobeným oxidačným stresom a tvorbou reaktívnych foriem kyslíka (Baylac, 2003; Kamal *et al.*, 2012; Misra a Dey, 2013a). V spoločných kultúrach dermálnych fibroblastov a keratinocytov RS potlačala produkciu mnohých pro-

zápalových chemokínov a cytokínov produkovaných ako odpoveď na stimuláciu lipopolysacharidov (LPS). Produkcia PGE2 bola tiež potlačená, čo naznačuje, že SARS by mohol pôsobiť, aspoň čiastočne, prostredníctvom inhibície cyklooxygenázy (Sharma *et al.*, 2013). Uvádza sa, že protizápalová aktivita v kože závisí od aktivácie enzýmu 11b-HSD1, ktorý hrá úlohu pri syntéze kortizolu keratinocytmi. SARS tiež potláčala expresiu prozápalového cytokínu IL-1b v keratinocytoch a redukovala dráždivú dermatitídu v koži myši stimulovanej hapténom (Itoi-Ochi *et al.*, 2016). Nedávny záujem o špecifické ciele pre zápal na liečbu kožných stavov, ako je psoriáza a atopická dermatitída, viedol k vývoju množstva liekov, ktoré znižujú hladiny IL-17 a aktivitu PDE4 (Golden *et al.*, 2013; Wittmann a Helliwell, 2013; Wasilewska *et al.*, 2016). Ukázalo sa, že špecificky inhibuje oba tieto ciele v rôznych modeloch *in vitro*, (Sharma *et al.*, 2017) čo naznačuje mechanizmus aktivity pozorovanej v klinických štúdiách RS pri liečbe týchto kožných ochorení. Zistilo sa, že alfa-santalol je inhibítor tyrozinázy, kľúčového enzýmu v biosynthetickej dráhe kožného pigmentu melanínu. Toto zaujímavé zistenie naznačuje, že SARS môže potenciálne pôsobiť ako inhibítor abnormálnej pigmentácie spojenjej so starnutím a vystavením ultrafialovému svetlu (Misra a Dey, 2013b).

Používanie RS upadlo do nemilosti v roku 1900 s príchodom sulfátových liečiv a iných antibiotík, ale záujem o RS, ako je SARS, sa v posledných rokoch znovu oživil kvôli ich aktivite proti kmeňom rezistentným na antibiotiká (Cao *et al.*, 2008; Warnke *et al.*, 2009). Zistilo sa, že santalová RS je široko účinná proti mnohým grampozitívnym kmeňom baktérií, vrátane *Staphylococcus* (vrátane kmeňov MRSA a VRSA rezistentných na antibiotiká), *Streptococcus* a niektorých gramnegatívnych baktérií (Jirovetz *et al.*, 2006; Mishra a Dey, 2012). SARS preukázala silnú aktivitu proti mnohým hubovým dermatofytom a kvasinkám vrátane *Trichophyton*, *Microsporum* a *Candida* (Inouye *et al.*, 2006; Nardoni *et al.*, 2015). Santalová RS je účinná proti vírusom Herpes simplex-1 a -2 (Koch *et al.*, 2008). Zistilo sa, že beta-santalol, jedna z hlavných zložiek SARS, inhibuje replikáciu chrípkového vírusu A/HK (H3N2) *in vitro* pri 100 µg/ml (Paulpandi *et al.*, 2012). Antimikrobiálny mechanizmus (mechanizmy) účinku santalovej RS neboli dôkladne objasnené, ale pozorované účinky môžu byť čiastočne spôsobené narušením integrity membrány, fenoménom, ktorý bol preukázaný pri iných RS (Carson *et al.*, 2006; Bakkali *et al.*, 2008).

Cielom našej práce bolo zistiť antimikrobiálnu aktivitu rastlinnej silice *Santalum album* proti mikroorganizmom v *in vitro* a v *in situ* podmienkach na vybranom ovocí a zelenine.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Santalum album* bola zakúpená od firmy Hanus, s.r.o. (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica mala pôvod z Austrálie a bola vyrobená destiláciou rozdrveného dreva vodnou parou. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavnými zložkami, ktoré uvádza výrobca boli  $\alpha$ -santalol 41 až 55%,  $\beta$ -santalol 16 až 24%, tranz- $\alpha$ -bergamotol 3 až 6%.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructige-*

na CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita *Santalum album* rastlinnej silice (SARS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVH) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100  $\mu$ l sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10  $\mu$ l SARS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre mikroskopické vláknité huby (MVH) pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50  $\mu$ l inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa SARS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400  $\mu$ g/ml do 0,2  $\mu$ g/ml v MHB, SDB a 100  $\mu$ l suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbancia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy SARS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli jablka, banána, zemiaka a tekvice. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jablko, banán, zemiak a tekvica na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. SARS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5  $\mu$ l/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)  $BGI = [(C -$

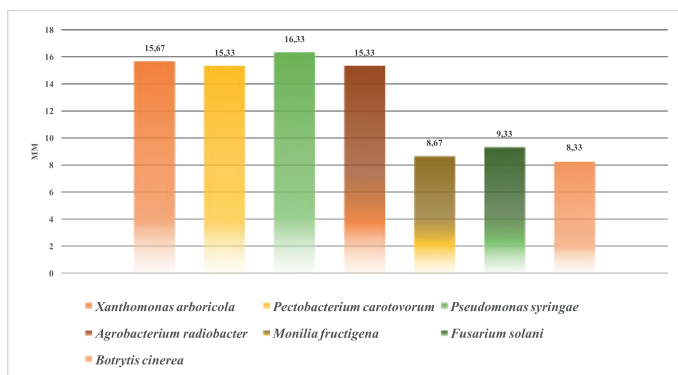
T)/C] × 100, kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

### Výsledky a diskusia

Antimikrobiálna aktivita *S. album* rastlinnej silice (SARS) bola hodnotená diskovou difúznou metódou a minimálnou inhibičnou koncentráciou. Silná až stredná inhibičná aktivita SARS bola pozorovaná v prípade väčšiny testovaných mikroorganizmov (obrázok 1). *Pseudomonas syringae* bol najcitlivejšou baktériou zo všetkých testovaných baktérií, pričom SARS vykazovala veľmi silnú inhibičnú aktivitu. Z testovaných mikroskopických húb bol najcitlivejší *Fusarium solani*.

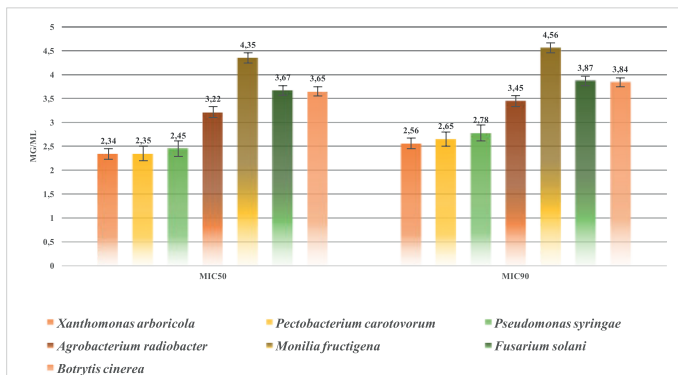


Obrázok 1. Antimikrobiálna aktivita SARS diskovou difúznou metódou v mm

MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií (obrázok 2). Pre *Xanthomonas arboricola* sme zistili najnižšie hodnoty MIC 50 (2,34 mg/ml) a MIC 90 (2,56 mg/ml). Najvyššie hodnoty MIC 50 a MIC 90 boli stanovené pre *Monilia fructigena*.

Celkovo osem vzoriek rôznych santalových drevín *Amyris balsamifera* L., *Santalum album* L. a *Santalum spicatum* a zmes  $\alpha$ - a  $\beta$ -santalolov, ako aj eugenol ako referenčná zlúčenina, bolo testovaných agarovým riedením a agarovou difúznou metódou na ich antimikrobiálne látky. Antimikrobiálna aktivita sa sledovala proti kvasinkám *Candida albicans*, grampozitívnym baktériám *Staphylococcus aureus* a gramnegatívnym baktériám *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*. V tejto práci bola zistená antimikrobiálna aktivita proti kvasinkám, grampozitívnym a gramnegatívnym baktériám so strednou až vysokou účinnosťou. Rastlinné silice zo santalového dreva so strednou alebo vysokou koncentráciou santalolov vykazujú lepšie antimikrobiálne účinky proti použitým mikroorganizmom (Jirovetz et al., 2006).

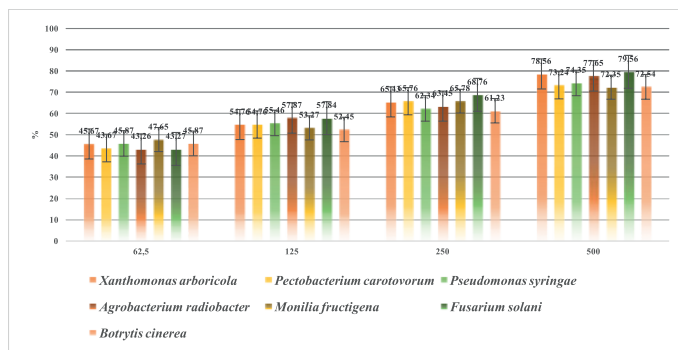
Na trhu je k dispozícii veľké množstvo potravinárskych výrobkov, u ktorých pridanie SARS ako prírodného konzervačného prostriedku zvyšuje ich trvanlivosť z mesiacov na



Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia SARS v mg/ml

roky. Tieto SARS sa tiež používajú na zvýraznenie chuti v šalátových dresingoch, polievkach, dusených pokrmoch, omáčkach a dokonca aj v nealkoholických nápojoch. SARS sa pridávajú ku koncu varenia, pretože vysoké teplo zničí terapeutické výhody. RS terapeutickú kvalitu sú vo všeobecnosti bezpečné pre ľudskú spotrebu v malých množstvách podľa schválenia vydaného Úradom pre potraviny a liečivá (FDA). RS sa vo veľkej miere používajú ako všeobecne uznávané bezpečné dochucovadlá v potravinách, nápojoch a cukrovkách podľa prísnej správnej výrobných praxe, a preto sa odporúčajú množstvá terapeuticky triedených RS používať na pridanie chuti a vône do mnohých potravín a nealkoholických nápojov (Das, 2016).

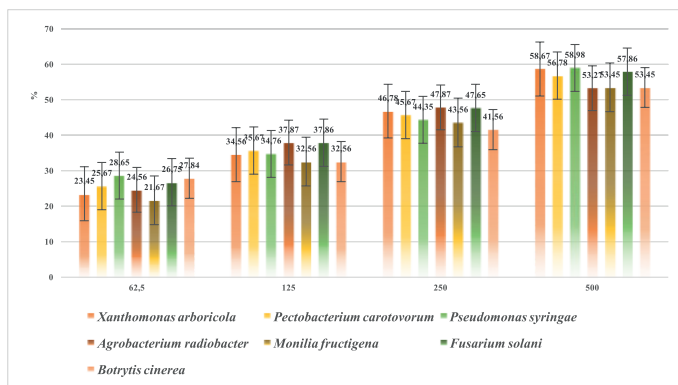
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli jablka ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované SARS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii SARS (500  $\mu$ l/l) bola na jablka *Fusarium solani* najsilnejšie inhibovaná MVH (79,56 %). Najsľabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Monilia fructigena*.



Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jablka v %

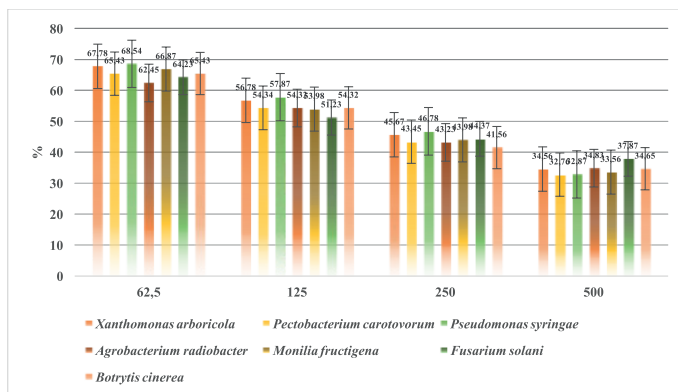
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli banána ukázala, že všetky fytopatogény boli

inhibované SARS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najvyššej koncentrácii SARS (500  $\mu\text{l/l}$ ) bola na banáne *P. syringae* najsilnejšie inhibovaná baktériou (87,68 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Agrobacterium radiobacter*.



Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli banána v %

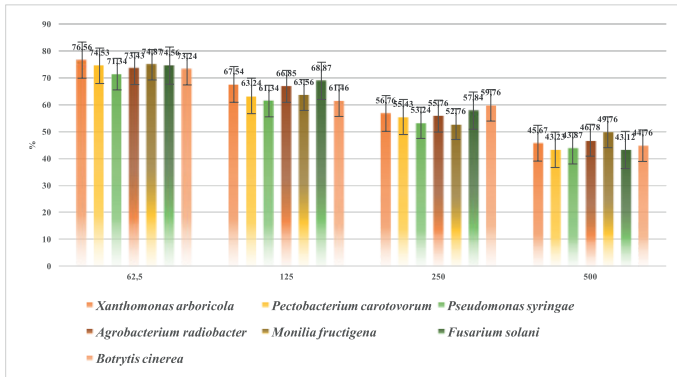
Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli uhorky ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované SARS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najnižšej koncentrácii SARS (62,5  $\mu\text{l/l}$ ) bola na uhorky *P. syringae* najsilnejšie inhibovaná MVH (68,54 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *A. radiobacter*.



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli uhorky v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* na modeli mrkvy ukázala, že všetky fytopatogény boli inhibované SARS v parnej fáze vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najnižšej koncentrácii SARS (62,5  $\mu\text{l/l}$ ) bola na mrkve *Xanthomonas arboricola* najsilnejšie





Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli mrkvy v %

inhibovanou MVH (76,56 %). Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná rovnako ako na modeli mrkvy pre *P. syringae*.

SARS je žiadaná a používaná v potravinárskom priemysle v Indii. V potravinách a nápojoch sa SARS používa v hlavných kategóriách potravinárskych výrobkov, vrátane alkoholických a nealkoholických nápojov, mrazených mliečnych dezertov, cukrovín, pečiva, želatíny a pudingoch ako zvýrazňovač chuti s uvádzanými priemernými maximálnymi úrovňami použitia (Burdock and Carabin, 2008). SARS sa používa v potravinárskom priemysle ako chuťová prísada (Burdock a Carabin, 2008). SARS sa dobre mieša s rôznymi silicami ako bergamot, pelargónia, levandula, myrha a ruža, a používa sa na konzervovanie potravín. SA prášok zmiešaný s mliekom alebo vyrobený na tabletky je prospešný pri liečbe dyzúrie. Jeho účinnosť možno zvýšiť pridaním vody ajwain alebo infúziou zázvoru. SARS je bezpečný na vnútorné použitie vďaka svojej antiseptickej povahe. SARS je bezpečný aj pri užívaní s mliekom na liečenie vnútorných infekcií, ako je hrdlo, pažerák, žalúdok, črevá, vylučovacie cesty a pod., vďaka svojej dezinfekčnej aktivite. Vývojom konzervácie potravín sa stala potreba predlžovania trvanlivosti potravín nevyhnutným procesom. Aplikácia výparov RS v aktívnom balení a konzervácii potravín je metóda, ktorá umožňuje dlhšie skladovanie potravín. Medzi takéto potraviny patria **mäso, ryby, hydina, syr, ovocie a zelenina**. SARS je nápomocný pri balení potravín, ako sú uhorky, paprika, konzervované hovädzie mäso, sleď a vajcia na dlhšie obdobie. Para SARS sa používa na ochranu viacerých potravín a balenie suchých potravín pred znehodnotením mikroorganizmami vďaka svojej antimikrobiálnej aktivite. Použitie prirodzené sa vyskytujúcej antimikrobiálnych zlúčenín na konzervovanie potravín sa venuje pozornosti kvôli povedomiu o prírodných potravinových produktoch a rastúcemu záujmu o mikrobiálnu rezistenciu voči konvenčným konzervačným látkam na celom svete. SARS sa používa aj v potravinárskom priemysle na stabilizáciu chuti. SARS **pôsobí ako dobré maskovacie činidlo pre nepríjemné chute a pachy v potravinárskych výrobkoch, ako je mäso a iné mäsové výrobky, vďaka prítomnosti dlhotrvajúcej silnej sladkej, drevitej a korenistej vône**. SARS pomáha inhibovať oxidačnú degradáciu mäsových výrobkov vďaka svojej antioxidačnej aktivite (Misra a Dey, 2012).

## ZÁVER

Santalové drevo je komerčne a kultúrne dôležitý rastlinný druh najmä v Indii patriaci do čeľade Santalaceae. Rastlinná silica zo santalového dreva sa získava z jadrového dreva destiláciou vodnou parou. Vďaka sladkej, silnej a trvalej vôni je santalová silica po stáročia užitočná v parfumerskom priemysle, mydlách, sviečkach, kadidle, ľudovom liečiteľstve. Okrem toho sa santalová rastlinná silica môže využiť pre lekárske účely a v potravinárskom priemysle, napr. pri predĺžení trvanlivosti ovocia a zeleniny ako bolo dokázané aj v našom výskume.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446–475. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2007.09.106
- Baylac, S. 2003. Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant extracts. In *International Journal of Aromatherapy*, vol. 13, no. 2-3, pp. 138–142. ISSN 0962-4562, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0962-4562(03)00083-3
- Burdock, G. A., Carabin, I. G. 2008. Safety assessment of sandalwood oil (*Santalum album* L.). In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 421–432. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2007.09.092
- Carson, C. F., Hammer, K. A., Riley, T. V. 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. In *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 19, no. 1, pp. 50–62. ISSN 0893-8512, Dostupné na: doi: org/10.1128/cmr.19.1.50-62.2006
- Chao, S., Young, G., Oberg, C., Nakaoka, K. 2008. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. In *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 23, no. 6, pp. 444–449. ISSN 0882-5734, Dostupné na: doi: org/10.1002/ffj.1904
- Das, K. 2016. Sandalwood (*Santalum album*) Oils. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, pp. 723–730. Dostupné na: doi: org/10.1016/b978-0-12-416641-7.00082-1
- Golden, J. B., McCormick, T. S., Ward, N. L. 2013. IL-17 in psoriasis: Implications for therapy and cardiovascular co-morbidities. In *Cytokine*, vol. 62, no. 2, pp. 195–201. ISSN 1043-4666, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.cyto.2013.03.013
- Inouye, S., Uchida, K., Abe, S. 2006. Vapor activity of 72 essential oils against a *Trichophyton mentagrophytes*. In *Journal of Infection and Chemotherapy*, vol. 12, no. 4, pp. 210–216. ISSN 1341-321X. Dostupné na: doi: org/10.1007/s10156-006-0449-8

- Itoi-Ochi, S., Matsumura, S., Terao, M., Murota, H., Katayama, I. 2016. Sandalwood oil downregulates skin inflammation through 11 $\beta$ -HSD1 activation in keratinocytes. In *Journal of Dermatological Science*, vol. 84, no. 1, pp. e134. ISSN 0923-1811, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.jdermsci.2016.08.401
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Denkova, Z., Stoyanova, A., Murgov, I., Gearon, V., Birkbeck, S., Schmidt, E., Geissler, M. 2006. Comparative study on the antimicrobial activities of different sandalwood essential oils of various origin. In *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 21, no. 3, pp. 465–468. ISSN 0882-5734, Dostupné na: doi: org/10.1002/ffj.1625
- Kamal, R., Yadav, S., Mathur, M., Katariya, P. 2012. Antiradical efficiency of 20 selected medicinal plants. In *Natural Product Research*, vol. 26, no. 11, pp. 1054–1062. ISSN 1478-6419, Dostupné na: doi: org/10.1080/14786419.2011.553720
- Koch, C., Reichling, J., Schnee, J., Schnitzler, P. 2008. Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. In *Phytomedicine*, vol. 15, no. 1–2, pp. 71–78. ISSN 0944-7113, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.phymed.2007.09.003
- Misra, B. B., Dey, S. 2012. Comparative phytochemical analysis and antibacterial efficacy of *in vitro* and *in vivo* extracts from East Indian sandalwood tree (*Santalum album* L.). In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 55, no. 6, pp. 476–486. ISSN 0266-8254, Dostupné na: doi: org/10.1111/lam.12005
- Misra, B. B., Dey, S. 2013a. Evaluation of *in vivo* anti-hyperglycemic and antioxidant potentials of  $\alpha$ -santalol and sandalwood oil. In *Phytomedicine*, vol. 20, no. 5, pp. 409–416. ISSN 0944-7113, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.phymed.2012.12.017
- Misra, B. B., Dey, S. 2013b. TLC-Bioautographic Evaluation of *In Vitro* Anti-tyrosinase and Anti-cholinesterase Potentials of Sandalwood Oil. In *Natural Product Communications*, vol. 8, no. 2, pp. 1934578X1300800. ISSN 1555-9475, Dostupné na: doi: org/10.1177/1934578x1300800231
- Nardoni, S., Giovanelli, S., Pistelli, L., Mugnaini, L., Profili, G., Pisseri, F., Mancianti, F. 2015. *In Vitro* Activity of Twenty Commercially Available, Plant-Derived Essential Oils against Selected Dermatophyte Species. In *Natural Product Communications*, vol. 10, no. 8, pp. 1934578X1501000. ISSN 1555-9475, Dostupné na: doi: org/10.1177/1934578x1501000840
- Paulpandi, M., Kannan, S., Thangam, R., Kaveri, K., Gunasekaran, P., Rejeeth, C. 2012. *In vitro* anti-viral effect of  $\beta$ -santalol against influenza viral replication. In *Phytomedicine*, vol. 19, no. 3–4, pp. 231–235. ISSN 0944-7113, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.phymed.2011.11.006
- Roy, S., Handique, G., Ahmed, R., Muraleedharan, N. 2017. Sandalwood Oil (*Santalum album* L.): Source of a Botanical Pesticide—Present Status and Potential Prospects. *Green Pesticides Handbook*, pp. 217–230. Dostupné na: doi: org/10.1201/9781315153131-11
- Sharma, M., Levenson, C., Bell, R. H., Anderson, S. A., Hudson, J. B., Collins, C. C., Cox, M. E. 2013. Suppression of Lipopolysaccharide-stimulated Cytokine/Chemokine Production in Skin Cells by Sandalwood Oils and Purified  $\alpha$ -santalol and  $\beta$ -santalol. In *Phytotherapy Research*, vol. 28, no. 6, pp. 925–932. ISSN 1099-1573, Dostupné na: doi: org/10.1002/ptr.5080
- Sharma, M., Levenson, C., Clements, I., Castella, P., Gebauer, K., Cox, M. E. 2017. East Indian Sandalwood Oil (EISO) Alleviates Inflammatory and Proliferative Pathologies of Psoriasis. In *Frontiers in Pharmacology*, vol. 8. ISSN 1663-9812, Dostupné na: doi: org/10.3389/fphar.2017.00125

- Warnke, P. H., Becker, S. T., Podschun, R., Sivananthan, S., Springer, I. N., Russo, P. A. J., Wiltfang, J., Fickenscher, H., Sherry, E. 2009. The battle against multi-resistant strains: Renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. In *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, vol. 37, no. 7, pp. 392–397. ISSN 1010-5182, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.jcms.2009.03.017](https://doi.org/10.1016/j.jcms.2009.03.017)
- Wasilewska, A., Winiarska, M., Olszewska, M., Rudnicka, L. 2016. Interleukin-17 inhibitors. A new era in treatment of psoriasis and other skin diseases. In *Advances in Dermatology and Allergology*, vol. 4, pp. 247–252. ISSN 1642 395X, Dostupné na: doi: [org/10.5114/ada.2016.61599](https://doi.org/10.5114/ada.2016.61599)
- Wittmann, M., Helliwell, P. S. 2013. Phosphodiesterase 4 Inhibition in the Treatment of Psoriasis, Psoriatic Arthritis and Other Chronic Inflammatory Diseases. In *Dermatology and Therapy*, vol. 3, no. 1, pp. 1–15. ISSN 2190-9172, Dostupné na: doi: [org/10.1007/s13555-013-0023-0](https://doi.org/10.1007/s13555-013-0023-0)

## Použitie japonskej prepelice (*Coturnix japonica*) v biomedicínskom výskume

### The use of Japanese quail (*Coturnix japonica*) in biomedical research

Review práca

Anna KALAFOVÁ, Monika SCHNEIDGENOVÁ, Patricia ŠIMKOVÁ,  
Marcela CAPCAROVÁ

Ústav aplikovanej biológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská  
poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 94976, Nitra, Slovenská republika

#### Abstract

Quails are used as both farm and laboratory animals. Genetic studies of quail as experimental animals began in the 1940. The advantages of quail in research fields include small body size, low consumption, rapid maturation, and high egg production. Japanese quail has become the most used in industry and in the field of scientific research. The futures of quail research and of quail production are not independent, however, and better links between both activities are needed to promote relevant research, explore new avenues of quail production, and help maintain this bird as an essential animal model.

**Keywords:** Japanese quail (*Coturnix japonica*), animal model, research

#### ÚVOD

V roku 1959 bolo prvýkrát zaznamenané použitie prepelice japonskej ako laboratórneho zvierťa. Odvtedy sa tento druh čoraz viac používa ako vtáčí model pre biomedicínsky výskum. Prepelica japonská (*Coturnix japonica*) je známy modelový organizmus na štúdium fotoperiodizmu (Nakane and Yoshimura, 2019), reprodukčnej fyziológie a správania (Tsutsui and Ubuka, 2020) a genetiky (Minvielle 2004; Tsudzuki 2008; Nunome *et al.* 2017). Vo viacerých oblastiach vedeckého výskumu (vývojová biológia, endokrinológia, imunológia, štúdium starnutia, správania ako aj rôzne ľudské genetické poruchy) sa používajú práve japonské prepelice (*Coturnix japonica*) ako laboratórny zvierací model. Japonská prepelica je charakteristická svojim rýchlym tempom rastu, pohlavného dospievania tiež odolnosťou voči ochoreniam. Sú veľmi vhodné pre genetické štúdie vtákov, predovšetkým kvôli ich nezvyčajne krátkemu reprodukčnému cyklu a sekundárne kvôli ich malej veľkosti tela, ktorá umožňuje získať veľké množstvo jedincov za primerane nízke náklady v porovnaní s inými animálnymi modelmi vtákov.

#### Využitie ako modelové zviera vo výskume

##### *Využitie ako modelové zviera pre štúdium zdravia a chorôb*

Japonské prepelice sa objavujú ako zvierací model pre štúdium vrodených chýb a chorôb, ktoré ovplyvňujú ľudské zdravie (Cheng and Kimura, 1990; Mizutani, 2002; Tsudzuki, 2008). V súčasnosti existuje niekoľko línii prepelíc, ktoré sú využívané vo výskume dedičných chorôb, malformácií a abnormalít. Prepelice boli použité v štúdiách výskumu starnutia, v imunológii, endokrinológii, vývinovej (Dickman *et al.*, 2004)

a reprodukčnej biológie (Ottinger *et al.*, 2004); hypercholesterolémii charakterizovanej rozvojom vaskulárnych lézií a pod. Prepelica na štúdiu starnutia poskytuje dve odlišné výhody nad modelmi cicavcov. Po prvé, hypotalamické systémy u prepelíc vykazujú neuroplasticitu, napr. po aplikácii testosterónu u starnúcich samcov dochádza k úplnej obnove sexuálneho správania. (Ottinger *et al.*, 2004). Druhá výhoda prepelického modelu je dynamika vo fyziológii kostí. Toto platí najmä pre samice, pretože majú duté kosti, ktoré slúžia ako zásobáreň minerálnych látok používaných pri produkcii vajec. U starnúcich samíc prepelíc sú kosti krehkejšie, čo umožňuje ich využitie vo výskume ako modelu pre sledovanie vplyvu hormónov a vitamínu D na osteoporózu (Takahashi *et al.*, 1983). Geneticky jedinečné línie japonských prepelíc boli použité na štúdium zrakového systému napr. patológie sietnice a zrakového nervu (Takatsuji *et al.*, 1984), spontánny glaukóm (Takatsuji *et al.*, 1986, Weidner *et al.*, 1995), katarakty (Takatsuji *et al.*, 1985) a degeneráciu sietnice (Zak *et al.*, 2010). Japonské prepelice sú citlivé na patogénne kmeňové baktérii, ako je *Salmonella pullorum*, *Escherichia coli* (Woodard *et al.*, 1973) a *Mycobacterium avium* (Tell *et al.*, 2003) a preto slúžili ako zvierací model pre pochopenie významu týchto patogénov u hydiny. Nedávno Rundfeldt *et al.* (2013) použili na posúdenie účinnosti aerosolizácie nanočastíc itrakonazolu proti *Aspergillus fumigatus* práve prepelice.

#### *Využitie ako modelové zviera na objavenie a hodnotenie zlúčenín proti ateroskleróze*

Hoci mala japonská prepelica vhodné vlastnosti pre skríning ochorenia, ich vývoj aterosklerózy bol príliš variabilný nato, aby mohli byť modelom praktickým. Výskum bol cieleň na vytvorenie prepelice rovnomerne aterosklerotickej. Na tento účel bola selektívne chovaná línia prepelíc vnímavých na experimentálnu aterosklerózu (SEA). Japonská prepelica SEA je teda novým zvieracím modelom pre výskum aterosklerózy (Day and Stafford 1975).

#### *Využitie v oblasti reprodukčnej neuroendokrinológie*

Predpokladalo sa, že gonadotropín-inhibičný hormón (GnRH) je jediným hypotalamickým neurohormónom regulujúcim uvoľňovanie gonadotropínu u stavovcov. V roku 2000 však Tsutsuiho skupina objavila u prepelíc GnIH, nový hypotalamický neuropeptid, ktorý inhibuje uvoľňovanie gonadotropínu. Tento objav drasticky zmenil naše chápanie reprodukčnej neuroendokrinológie (Tsutsui and Ubuka 2020).

#### *Využitie ako modelové zviera v experimentálnej embryológii*

Používa sa technika označovania buniek založená na štruktúrnych rozdieloch medzi interfázovým jadrom dvoch druhov vtákov, japonskej prepelice (*Coturnix coturnix japonica*) a kuriatka (*Gallus gallus*). Prepelíacie jadro vykazuje veľké heterochromatické hmoty spojené s nukleolárnou RNA. Naopak, u kurčaťa usporiadanie chromatinu počas interfázy zodpovedá všeobecnému vzoru pozorovanému v bunkách stavovcov: DNA je pomerne rovnomerne distribuovaná v nukleoplazme a množstvo chromatinu spojeného s jadriekom nie je významné. Je možné rozlíšiť bunky týchto dvoch druhov v histologických rezoch zafarbených Feulgenovou Rossenbeckovou reakciou a tiež na úrovni elektrónového mikroskopu v rezoch zahŕňajúcich jadrieko. Prepelíacie bunky sa teda môžu použiť ako „prirodzené markery“ na štúdium rôznych embryologických problémov, ako sú problémy súvisiace s medzibunkovými interakciami a migráciou buniek počas ontogeny (Nicole Le Douarin 1973; Mizutani, 2002).

### Využitie ako modelové zviera na kryobankovanie

#### Kryobankovanie samičej zárodočnej plazmy

Tento model môže tiež prispieť ku konzervácii *ex situ* ohrozených druhov vtákov (Liu *et al.*, 2013a). Jednoduché postupy vitrifikácie možno použiť v drsnom a odlahlom prostredí, kde sa zvyčajne vyskytujú ohrozené druhy (Comizzoli *et al.*, 2012). Obnova dospelého ovariálneho tkaniva (Liu *et al.*, 2013b) naznačuje, že gonádové tkanivo z cenného jedinca ohrozeného druhu a zakonzervované po neočakávanej smrti môže byť použité na výskum druhovo špecifickej reprodukčnej fyziológie, o ktorej môžu byť naše znalosti skromné (Comizzoli *et al.*, 2012). Navyše úspešná xenotransplantácia (Song *et al.*, 2012) poskytuje možnosť regenerácie získavania zárodočnej plazmy ohrozených druhov.

#### Kryobankovanie tkaniva semeníkov

Kryokonzervácia tkaniva semenníkov je sľubná metóda zachovania samčej reprodukčnej schopnosti pre druhy vtákov. Vitrifikácia testikulárneho tkaniva a uloženie v makrotubicách poskytujú sľubný model pre zachovanie a obnovu zárodočnej plazmy samcov vtáčích druhov.

### Využitie na produkciu transgénnych vtákov

V poslednej dobe sa japonská prepelica ukázala ako vynikajúci modelový organizmus na produkciu transgénnych vtákov pomocou lentivírusových vektorov. Relatívne malá veľkosť dospelých jedincov, krátky čas do pohlavnej dospelosti a obdivuhodná produkcia vajec japonskej prepelice spôsobujú, že vývoj transgénnych línií je menej náročný na prácu a priestor v porovnaní s kurčatami. Vysoký stupeň homológie medzi genómami kurčiat a prepelíc umožňuje výskumnikom navrhnuť vysoko špecifické konštrukty DNA na produkciu transgénnych vtákov. Japonské prepelice sú ideálne na *in ovo* zobrazovanie embryí exprimujúcich fluorescenčné reportéry zavedené z transgénu a/alebo elektroporácie (Poynter *et al.* 2009).

## ZÁVER

V tomto článku bolo popísané využitie animálneho modelu japonskej prepelice (*Coturnix japonica*) ako obľúbeného modelu v biomedicínskom výskume na skúmanie rôznych kľúčových otázok, ako je štúdium somatických a genetických zmien spojených s patogenézou rôznych ľudských patologických stavov, dostupnosť transgénnych línií, nástroj na molekulárne manipulácie ako aj identifikácia klinických cieľov a vývoj nových terapeutických činidiel. Tento zvierací model má veľký význam v experimentálnom výskume, aby poskytol pohľad na ľudské biologické a patologické stavy, avšak je potrebné venovať mimoriadnu pozornosť dosiahnutiu etických noriem a noriem blaha spojených s používaním živých organizmov na vedecké účely.

## POĎAKOVANIE

Práca bola financovaná z projektov KEGA 007SPU-4/2022, KEGA 017SPU-4/2023 and VEGA 1/0304/23.

## Kontaktná adresa

doc. Ing. Anna Kalafová, PhD., Ústav aplikovanej biológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 94976, Nitra, Slovenská republika, e-mail: anna.kalafova@uniag.sk

## LITERATÚRA

- Cheng, K.M., Kimura, M. 1990. Mutations and major variants in Japanese quail Crawford RD (Ed.), Developments in Animal and Veterinary Sciences, In *Poultry Breeding and Genetics*, Elsevier, Amsterdam, vol.22, pp. 333-362.
- Comizzoli, P., Songsasen, N., Hagedorn, M., D.E. Wildt, D.E. 2012. Comparative cryobiological traits and requirements for gametes and gonadal tissues collected from wildlife species. In *Theriogenology*, vol. 78, pp. 1666-1681. doi:10.1016/j.theriogenology.2012.04.008.22704386.
- Day, C.E., Stafford, W.W. 1975. New animal model for atherosclerosis research. In *Adv Exp Med Biol* . vol. 63, pp. 339-47. doi: 10.1007/978-1-4684-3258-9\_24.
- Dickman, J.D., Huss, D., Lowe, M. 2004. Morphometry of otoconia in the utricle and sacule of developing Japanese quail. *Hear. Res.*, vol. 188, pp. 89-103. doi: 10.1016/S0378-5955(03)00377-0.
- Douarin, N. Le. 1973 A biological cell labeling technique and its use in experimental embryology. In *Dev Biol*. vol.1, pp. 217-22. doi: 10.1016/0012-1606(73)90061-4.
- Goto, T., Konno, S., Konno, M. 2023. Establishment of Wild-Derived Strains of Japanese Quail (*Coturnix japonica*) in Field and Laboratory Experiments. In *Biology*. vol. 12, pp.1080. doi:org/10.3390/biology12081080.
- Liu, J., Cheng, K.M., Silversides, F.G. 2013. A model for cryobanking female germplasm in Japanese quail (*Coturnix japonica*). In *Poult Sci*. vol. 10, pp. 2772-5. doi: 10.3382/ps.2013-03292.
- Liu, J., Cheng, K.M., Silversides, F.G. 2013a. Fundamental principles of cryobiology and application to ex situ conservation of avian species. In *Avian Biol. Res.* vol. 6 (2013), pp. 187-197. doi:10.3184/175815513X13740778695007.
- Liu, J., Cheng, K.M., Silversides, F.G. 2013b. Production of donor-derived chicks from transplantation of adult ovarian tissue in Japanese quail (*Coturnix japonica*). In *Poult. Sci.* vol. 92 (E-Suppl. 1) p. 18. doi: org/10.3382/ps.2013-03292.
- Minvielle, F. 2004. The future of Japanese quail for research and production. In *World's Poult Sci J.* vol. 60, pp. 500–7. doi: doi.org/10.1079/WPS200433.
- Mizutani, M. 2002. Establishment of inbred strains of chicken and Japanese quail and their potential as animal models. In *Exp. Anim.* vol. 51, pp. 417-429. doi: 10.1538/expanim.51.417.
- Nakane ,Y., Yoshimura, T. 2019. Photoperiodic regulation of reproduction in vertebrates. In *Annu. Rev. Anim. Biosci.* vol. 7, pp. 173–194. doi: 10.1146/annurev-animal-020518-115216.
- Nunome, M., Nakano, M., Tadano, R., Kawahara-Miki, R., Kono, T., Takahashi, S., Kawashima, T., Fujiwara, A., Nirasawa, K., Mizutani, M., et al. 2017. Genetic divergence in domestic Japanese quail inferred from mitochondrial DNA D-loop and microsatellite markers. In *PLoS ONE*. vol. 12:e0169978. doi: 10.1371/journal.pone.0169978.
- Ottinger, M.A., Abdelnabi, M., Li, Q., Chen, K., Thompson, N., Harada, N., et al. 2004. The Japanese quail: a model for studying reproductive aging of hypothalamic systems. In *Exp. Gerontol.*, 39 (2004), pp. 1679-1693. doi: 10.1016/j.exger.2004.06.02.
- Poynter, G., Huss, D., Lansford, R. 2009. Screening for transgenic Japanese quail offspring. In *Cold Spring Harb Protoc.* vol. 1:pdb.prot5119. doi: 10.1101/pdb.prot5119. PMID: 20147014.
- Rundfeldt, C., Wyska, E., Steckel, H., Witkowski, A., Jeżewska-Witkowska, G., Wlaż



- P. 2013. A model for treating avian aspergillosis: serum and lung tissue kinetics for Japanese quail (*Coturnix japonica*) following single and multiple aerosol exposures of a nanoparticulate itraconazole suspension. In *Med. Mycol.* vol. 51, pp. 800-810. doi: or g/10.3109/13693786.2013.803166.
- Song, Y., Cheng, K.M., Robertson, M.C., Silversides, F.G. 2012. Production of donor-derived offspring after ovarian transplantation between Muscovy (*Cairina moschata*) and Pekin (*Anas platyrhynchos*) ducks. In *Poult. Sci.* vol. 91, pp. 197-200. doi:10.3382/ps.2011-01672.22184444.
- Takahashi N., Shinki T., Abe E., Horiuchi N., Yamaguchi A., Yoshiki S., et al. 1983. The role of vitamin D in the medullary bone formation in egg-laying Japanese quail and in immature male chicks treated with sex hormones. In *Calcif. Tissue. Int.* vol. 35, pp. 465-471. doi: 10.1007/BF02405078.
- Takatsuji, K., Ito H., Watanabe, M., Ikushima, M., Nakamura, A. 1984. Histopathological changes of the retina and optic nerve in the albino mutant quail (*Coturnix coturnix japonica*). In *J. Comp. Pathol.*, vol. 94, pp. 387-404. doi: org/10.1016/0021-9975(84)90026-4.
- Takatsuji, K., Sato Y., Iizuka, S., Nakatani, H., Nakamura, A. 1986. Animal model of closed angle glaucoma in albino mutant quails. In *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 27, pp. 396-400.
- Takatsuji, K., Iizuka, S., Nakatani, H., Nakamura, A. 1985. Morphology of the cataract in albino mutant quails (*Coturnix coturnix japonica*). In *Experimental Eye Research.* vol. 40, pp. 567-573. doi: org/10.1016/0014-4835(85)90078-8.
- Tell, L.A., Woods, L., Foley, J., Needham, M.L., Walker, R.L. 2003. A model of avian mycobacteriosis: clinical and histopathologic findings in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) intravenously inoculated with *Mycobacterium avium*. In *Avian. Dis.* vol. 47, pp. 433-443. <https://www.jstor.org/stable/1593254>.
- Tsudzuki, M., 2008. Mutations of Japanese quail (*Coturnix japonica*) and recent advances of molecular genetics for this species. In *J. Poult. Sci.* vol. 45, pp. 159-179. doi: 10.2141/jpsa.45.159.
- Tsutsui, K., Ubuka, T. 2020. Discovery of gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH), progress in GnIH research on reproductive physiology and behavior and perspective of GnIH research on neuroendocrine regulation of reproduction. In *Mol. Cell Endocrinol.* vol. 514, pp. 110914. doi: 10.1016/j.mce.2020.110914.
- Tsudzuki, M. 2008. Mutations of Japanese quail (*Coturnix japonica*) and recent advances of molecular genetics for this species. In *J. Poult. Sci.*, vol.45, pp. 159-179. doi: doi. org/10.2141/jpsa.45.159.
- Weidner, C., Repérant, J., Kirpichnikova, E., Miceli, D., Desroches, A., Rio, J.P. 1995. Time course of degeneration of the visual system induced by spontaneous glaucoma in the albino quail (*Coturnix coturnix japonica*). In *Brain. Res.* vol. 419, pp. 357-363. doi: 10.1016/0006-8993(87)90608-1.
- Woodard, A.E., Abplanalp, H., Wilson, W.O., Vohra P. 1973. *Japanese Quail Husbandry in the Laboratory*, Department of Avian Sciences, University of California-Davis.
- Zak, P.P., Zykova, A.V., Trofimova, N.N., Abu Khamidakh, A.E., Fokin, A.I., Eskina, E.N., et al. 2010. The experimental model for studying of human age retinal degeneration (*Japanese quail C. Japonica*). In *Dokl. Biol. Sci.* vol. 434, pp. 297-299. doi:10.1134/S0012496610050017.

## Charakterizácia kožkotvorných kvasiniek spôsobujúcich birzu vína

### Characterization of film-forming yeasts causing wine spoilage

Gabriela KAPLOCKÁ<sup>1</sup>, Monika MOKRÁŇOVÁ<sup>1</sup>, Jaroslav HAMBALKO<sup>1</sup>,  
Štefan AILER<sup>2</sup>, Katarína FURDÍKOVÁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav Biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická  
univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

<sup>2</sup>Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská  
poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tulipánová 7, 949 76 Nitra

#### Abstract

Film-forming yeasts are common cause of wine spoilage. Isolation of axenic cultures and identification by ITS-PCR led to four independent yeast strains: *Candida stellimalicola* (B1, B5, B6), *C. fermentati* (B2), *C. smithsonii* (B7) and *Pichia membranifaciens* (B3, B4). All axenic yeast cultures were microbiologically and biochemically characterized. *C. stellimalicola* strains were found to tolerate 8.5–9.0 % v/v ethanol and only 30 % glucose and were the only ones that did not produce hydrogen sulfide. In contrast, strains of *P. membranifaciens* had the highest hydrogen sulfide production and the highest ethanol tolerance (9.5 % v/v). They also produced a branched pseudomycelium and formed a thick film on the surface when growing in liquid medium. The yeast strains *C. fermentati* and *C. smithsonii* produced abundant pseudomycelium and had the highest osmotolerance. All the yeast strains showed abilities that allow them to contaminate wines with low ethanol and residual sugar concentrations.

**Keywords:** spoiled wine; film-forming yeasts; identification; characterization

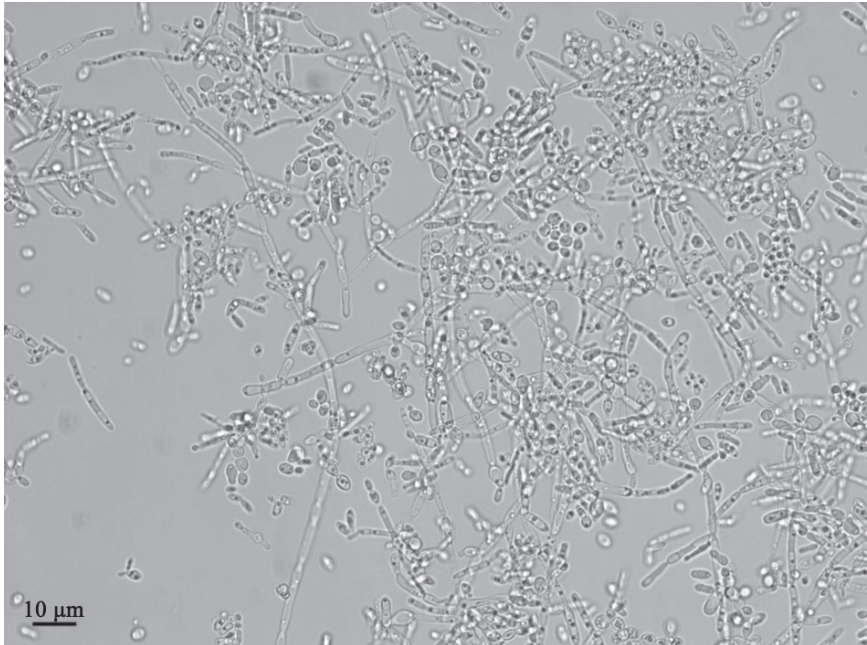
#### ÚVOD

Tvorba sivobieleho povlaku – birzy, na povrchu vín je jednou z častých chorôb, ktorá postihuje vína vystavené kyslíku, s nízkym obsahom alkoholu, vyšším zvyškovým cukrom a nedostatočnou mikrobiologickou stabilizáciou. Birza je spôsobená pomnožením konzorcia aerofilných kožkotvorných kvasiniek, ktoré sa vyznačujú tvorbou pseudomycélia vystupujúceho na povrch vína a vytvárajúceho prstenec až súvislý film na hladine nápoja (Malfeito-Ferreira and Silva, 2019; Minárik, 1981). Najznámejšie birzotvorné kvasinky sú *Wickerhamomyces anomalus*, *Pichia membranifaciens*, *P. kluyveri*, *Lindnera jadinii* a *Candida vini*. Nie je však nezvyčajný ani výskyt ďalších kvasiniek (*Cryptococcus humicola*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. capensis*, *Dekkera bruxellensis* *Zygosaccharomyces bailii*) či octových baktérií (Kurtzman *et al.*, 2011; Malfeito-Ferreira, 2011; Malfeito-Ferreira and Silva, 2019).

Okrem tvorby kontaminujúcej kožky je birza spojená aj so vznikom zákalu a nezvratných chemických zmien, ktoré ovplyvňujú chuť, vôňu a celkovú kvalitu nápoja. Birzotvorné kvasinky majú silne vyvinutý aeróbný metabolizmus, ktorým sú schopné redukovat časť etanolu na acetaldehyd, oxid uhličitý a vodu. Znižovanie koncentrácie etanolu je spojené aj s jeho oxidáciou na kyselinu octovú a vznik etylacetátu. Okrem etanolu sa vo

vínach napadnutých birzou znižuje aj obsah bezcukorného extraktu v dôsledku „predýchania“ časti neprchavých kyselín a glycerolu, ktorý dodáva vínu plnosť (Malfeito-Ferreira and Silva, 2019; Minárik, 1981). Prítomnosť kmeňov *P. membranifaciens* v konzorciu birzotvorných kvasiniek prispieva k vzniku nepríjemných pachutí vína pretože produkujú prchavé fenoly (4-etylphenol, 4-etylguajakol), ktoré sa vyznačujú pachom spálenej gummy či konského sedla. Taktiež sú známe vysokou produkciou sirovodíka, ktorý je typický vôňou skazených vajec (Wang *et al.*, 2018). Vína napadnuté birzou tak strácajú svoju plnosť, sú prázdne a dostávajú vetranú, zoxidovanú, štiplavú pachuť, ktorú je možné cítiť v chuti aj vo vôni (Malfeito-Ferreira and Silva, 2019).

Tvorbu povrchového biofilmu spojeného s birzou nemožno zamieňať s kožkou tvoriacou sa pri zrení vína „spod kože“ (*flor*), ktorá je tvorená ušľachtilými kvasinkami (*S. beticus*, *S. cheresiensis*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *C. stellata*, *C. zemplinina*). Tento typ zrenia sa využíva pri výrobe vín spod kože Sherry Fino/Manzanilla (Jerez – Španielsko), Vin Jaune (Jura – Francúzsko), Vernaccia di Oristano (Oristano – Taliansko) a Tokajské samorodné (Tokaj – Slovensko, Maďarsko) (Csoma *et al.*, 2020; Legras *et al.*, 2016).



Obrázok 1: Natívny preparát konzorcia kvasiniek spôsobujúcich birzu vyšetrovaného vína

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Skúmané kvasinky boli izolované z mladého vína (Veltlínske zelené) napadnutého kvasinkovou chorobou – birzou (Obrázok 1). Víno použité na izoláciu kvasiniek malo nasle-

dujúce základné zloženie: redukujúce sacharidy 32 g/l, etanol 8,5 % obj., celkové kyseliny 6,4 g/l, prchavé kyseliny 0,9 g/l, celkový  $\text{SO}_2$  5 mg/l a bolo skladované v pivničnom priestore (15 °C) v sklenej nádobe.

Sterilne odobratá vzorka biomasy tvoriacej biologickú vrstvu (birzu) bola nariadená do sterilnej deionizovanej vody a kultivovaná na kvasnično-glukózovom stuženom médiu s prídavkom chloramfenikolu YDA+Ch (20 g/l glukóza, 10 g/l kvasničný extrakt, 15 g/l agar, 50 mg/l chloramfenikol). Po 48-hodinovej kultivácii pri 25 °C boli vybrané kolónie kvasiniek ďalej rozočkované (platne s YDA+Ch médiom) až do dosiahnutia požadovanej čistoty. Následne bola z vybraných čistých kolónií odobratá jedna bunka pomocou inverzného mikroskopu LEICA Dmi8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemecko) a mikromanipulátora MM-92 (Narishige Group, Tokyo, Japonsko) vybaveného pneumatickým mikroinjektorom IM-9B (Narishige). Čistá kultúra kvasiniek bola pomnožená pomocou 48h kultivácie v kvapalnom YD+Ch médiu. Krátkodobo boli kultúry uchovávané na stuženom YDA médiu (25 °C) a na šikmých agaroch (4 °C).

Izolované kvasinkové kmene boli identifikované pomocou ITS-PCR (Internal Transcribed Spacer – Polymerase Chain Reaction) s následnou sekvenčnou analýzou. Extrakcia genómovej DNA sa uskutočnila podľa modifikovaného protokolu od Lööke *et al.* (2011), pričom izolovaná DNA bola použitá na PCR reakciu (Furdíková, 2023; Gajdoš *et al.*, 2020). Následne boli amplifikované DNA nariadené a upravené na podmienky Sangerovho sekvenovania Microsynth, kde prebiehalo sekvenovanie DNA (Microsynth Austria GmbH, Viedeň, Rakúsko). Výsledky sekvenovania vo formáte FASTA (Fast Adaptive Shrinkage/Tresholding Algorithm) boli porovnané s databázou NCBI pomocou BLAST (Basic Local Alignment Tool).

Základná charakterizácia mikrobiologická (mikroskopické a makroskopické znaky, pohlavné rozmnožovanie, produkcia pseudomycélia), biochemická (b-glukozidázová aktivita, produkcia sírovodíka) a fyziologická (rast v kvapalnom médiu, skvasovanie sacharidov, užitá rôznych zdrojov uhlíka) prebiehala na základe mikrobiologických metód opísaných v kvasinkových taxonómiiach od Kocková-Kratochvílová (1990) a Kurtzman *et al.* (2011).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zdrojom kožkotvorných kvasiniek kontaminujúcich víno a spôsobujúcich chorobu vína – birzu, bolo mladé nestabilizované polosladké víno skladované v sklenenom demižóne v pivničných priestoroch. Na hladine vína sa nachádzala hrubá zvrásnená sivo-biela vrstva biomasy typická pre birzu a víno bolo viditeľne zakalené. Z biologickej vrstvy bolo izolovaných 7 čistých kultúr kvasiniek, ktoré boli označené ako kmene B1 – B7. Izolované kmene boli následne identifikované a taxonomicky zaradené pomocou ITS-PCR metódy (Tabuľka 1). Kmene B1, B5 a B6 boli identifikované ako *Candida stellimalicola*, anamorfná forma bola potvrdená aj neschopnosťou pohlavne sa rozmnožovať pri 7 dňovej kultivácii na Fowellovom agare (Furdíková, 2023). Rovnako nevykazovali pohlavné rozmnožovanie ani kmene B2 (*Candida fermentati*) a B7 (*Candida smithsonii*). Naopak, pohlavné rozmnožovanie bolo potvrdené pre kmene B3 a B4 identifikované ako *Pichia membranifaciens*, čo je názov teleomorfnej formy kvasinky *Candida valida* (anamorf).

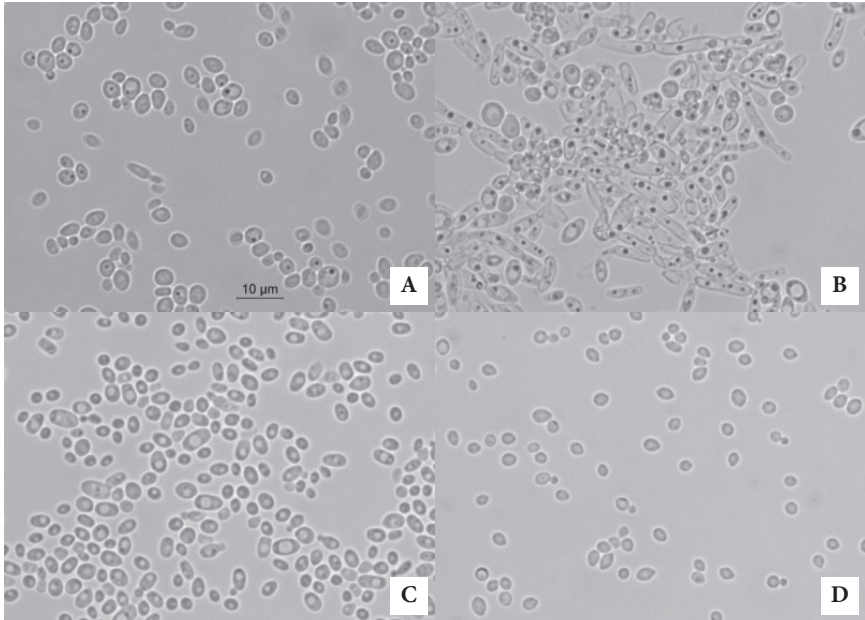
**Tabuľka 1:** Identifikácia čistých kultúr kvasiniek izolovaných z birzy pomocou ITS-PCR

Označenie kmeňa	ITS-PCR	
	Anamorfná forma	Teleomorfná forma
B1	<i>Candida stellimalicola</i> *	<i>Starmera stellimalicola</i>
B2	<i>Candida fermentati</i> *	<i>Meyerozyma caribbica</i>
B3	<i>Candida valida</i>	<i>Pichia membranifaciens</i> *
B4	<i>Candida valida</i>	<i>Pichia membranifaciens</i> *
B5	<i>Candida stellimalicola</i> *	<i>Starmera stellimalicola</i>
B6	<i>Candida stellimalicola</i> *	<i>Starmera stellimalicola</i>
B7	<i>Candida smithsonii</i> *	<i>Meyerozyma smithsonii</i>

Legenda: (\*) príslušnosť k teleomorfnéj alebo anamorfnéj forme bola potvrdená mikrobiologickým testom schopnosti pohlavného rozmnožovania (kultivácia na Fowellovom agare)

*Morfologické vlastnosti*

Všetky identifikované kmene kvasiniek boli charakterizované z hľadiska svojich makroskopických a mikroskopických znakov (Obrázok 2), na základe ktorých bola potvrdená rozdielnosť jednotlivých kmeňov. Morfológia buniek bola charakterizovaná po 24-hodínovej kultivácii v YD médiu (20 g/l glukóza, 10 g/l kvasničný extrakt, pH 6,5) na rotačnej

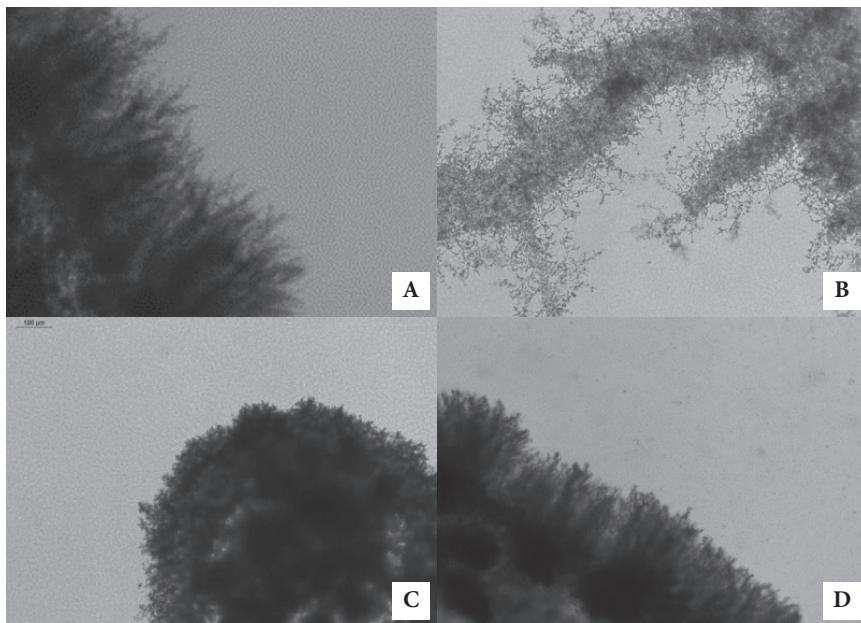


**Obrázok 2:** Natívny preparát čistých kultúr kvasiniek izolovaných z birzy vína (A – *C. fermentati*, B – *P. membranifaciens*, C – *C. stellimalicola*, D – *C. smithsonii*)

trepáčke. Morfológia makrokolónie bola hodnotená po 3-ojtýždňovej kultivácii kmeňov na Sabouraudovom agare pri laboratórnej teplote.

Kmene *C. stellimalicola* (B1, B5, B6) sa vyznačovala guľatými a vajcovitými bunkami (1,5 x 4 mm), pričom na stuženom agare vytvárali kolónie bielej až krémovej farby s celistvým okrajom a lesklým povrchom. Bunky *C. smithsonii* (B7) vykazovali guľatý až elipsovitý tvar s rozmermi 2 x 6 mm, bunky *C. fermentati* (B2) boli skôr vajcovitého tvaru. *C. fermentati* a *C. smithsonii* tvorili podobné, krémovo-maslové makrokolónie s hladkým lesklým povrchom. Najväčšie odlišnosti boli pozorované pri kmeňoch *P. membranifaciens* (B3, B4), kedy bunky v natívnych preparátoch vykazovali pretiahnutý tvar a dosahovali rozmery (2–5)x(2–17) mm. Na stuženom médiu rástli kvasinky *P. membranifaciens* v podobe nepravidelne laločnatých kolónií so suchým a vráskavým povrchom, ktorých farba sa v strede postupne mení z bielej na ružovú a neskôr až hnedú (Kurtzman *et al.*, 2011).

Kvasinky, ktoré tvoria birzu, sú charakteristické produkciou pseudomycélia, ktoré vzniká, keď sa pri pučaní dcérske bunky neoddelia od materských úplne a vytvára sa sieť retiazok, ktoré majú oddelenú cytoplazmu (Kurtzman *et al.*, 2011). Produkcia pseudomycélia bola vyhodnotená po 7-dňovej kultivácii na Corn-meal agare (CMA) (Furdíková, 2023), kedy sa mikroskopicky pozoroval okraj narastenej kolónie kvasiniek (Obrázok 3). *C. stellimalicola* (B1, B5, B6) produkovala len rudimentárne, nie dobre vyvinuté pseudomycélium, naproti tomu, ostatné identifikované kvasinkové druhy tvorili husté, dobre formované, stromčekovité pseudohýfy. Tieto výsledky sa zhodujú s údajmi v dostupnej literatúre (Kurtzman *et al.*, 2011; Vaughan-Martini *et al.*, 2005).



**Obrázok 3:** Mikroskopické pozorovanie tvorby pseudomycélia kultúr kultivovaných na CMA (A – *C. fermentati*; B – *P. membranifaciens*; C – *C. stellimalicola*; D – *C. smithsonii*).

*Základná biochemická, fyziologická a technologická charakterizácia*

Jedným z typických znakov birzotvorných kvasiniek je tvorba biologickej vrstvy na hladine pri raste v kvapalnom médiu. Táto vlastnosť bola pozorovaná iba pri kmeňoch *P. membranifaciens* (B3, B4), ktoré po 14 dňovej stacionárnej kultivácii tvorili hrubú kožku na povrchu kvapalného YD média. Kmene kvasinky *C. stellimalicola* (B1, B5, B6) vytvárali iba prstenec šplhajúci sa po stenách skúmavky, čo potvrdzuje afinitu ku kyslíku. Pri kvasinkových kultúrach *C. fermentati* (B2) a *C. smithsonii* (B7) sa po 14 dňoch nepozorovala tvorba masívnych štruktúr na hladine média, biomasa sa však lepila na steny skúmavky a vytvárala tzv. masky. Pri všetkých skúmaných kultúrach sa pozorovala súbežná tvorba sedimentu.

Okrem rastu v kvapalnom médiu a tvorby pseudomycélia je pre pochopenie schopnosti kontaminovať víno potrebné poznať aj ďalšie vlastnosti birzotvorných kvasiniek, ako sú etanoltolerancia, osmotolerancia ale aj schopnosť fermentovať či asimilovať rôzne zdroje uhlíka (Tabuľka 2).

Čisté kultúry kvasiniek izolovaných z birzy vykazovali etanoltolerancie od 8 % obj. (B2) až po 9,5 % obj. (B3, B4). Literatúra pre tieto druhy uvádza aj o niečo vyššie hodnoty. Druh *P. membranifaciens*, ktorý v našich podmienkach vykazoval etanoltoleranciu 9,5 % obj., môže všeobecne tolerovať až 11 % obj. etanolu v prostredí (Lachance, 1995). Podobne je to aj pri druhu *C. stellimalicola* a *C. smithsonii*, ktorých vybrané kmene sú schopné rásť aj pri koncentrácii 10 % obj. etanolu v prostredí (Daniel *et al.*, 2009; Gao *et al.*, 2022). Najnižšiu etanoltoleranciu zo skúmaných kmeňov vykazoval kmeň *C. fermentati* (B2), ktorého etanoltolerancia bola 8,0 % obj. Tento údaj sa zhoduje s údajmi v literatúre (Jensen *et al.*, 2009).

Osmotolerancia je schopnosť vysporiadať sa s vysokým osmotickým tlakom. Vo víne je osmotický tlak spôsobený prítomnosťou etanolu a zvyškového cukru, bežnou metódou stanovenia je však kultivácia v médiu s vysokou koncentráciou glukózy. Kurtzman *et al.* (2011) uvádzajú, že kvasinky *C. stellimalicola* by mali tolerovať až do 50 % glukózy v prostredí. Tento údaj sa v našom prípade nepotvrdil, testované kmene *C. stellimalicola* (B1, B5, B6) vykazovali nižšiu osmotoleranciu, a to len do 30 % glukózy. Podobne *C. fermentati* (B2), ktorej niektoré kmene môžu podľa literatúry tolerovať až 70 % glukózy (Wang *et al.*, 2015), vykazovali osmotoleranciu 48 %. Osmotolerancia *C. smithsonii* (B7) sa zhoduje s hodnotou uvádzanou v literatúre a predstavuje 50 % glukózy v médiu (Kurtzman *et al.*, 2011). Kmene *P. membranifaciens* (B3, B4) tolerovali glukózu s koncentráciou 45 %, čo korešponduje s údajmi v literatúre (50 %) (Stratford *et al.*, 2019).

Na základe experimentálne dosiahnutých hodnôt etanoltolerancie a osmotolerancie sa potvrdilo, že birzotvorné kvasinky kontaminujú najmä vína s obsahom etanolu do 10 % obj. a vína so zvyškovým cukrom.

Schopnosť fermentovať a asimilovať rôzne zdroje uhlíka je kmeňovo špecifická a závisí od genetickej a následne enzymatickej výbavy kvasiniek. Zistené experimentálne údaje (Tabuľka 2) sú zhodné s dostupnou literatúrou (Ali *et al.*, 2022; Kurtzman *et al.*, 2011). Jediná odlišnosť bola zaznamenaná pri kvasinke *C. fermentati* (B2), ktorá pri našich experimentoch bola schopná skvasovať rafinózu, aj keď v literatúre sa táto vlastnosť uvádza ako negatívna (Ali *et al.*, 2022).

**Tabuľka 2:** Základná charakterizácia identifikovaných kmeňov kvasiniek izolovaných z birzy

Kmeň	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
Etanoltolerancia (% obj.)	8,5	8,0	9,5	9,5	8,5	9,0	8,5
Osmotolerancia (hm. % glc)	30	48	45	45	30	30	50
$\beta$ -Glukozidázová aktivita	+	+	+	+	+	+	+
Produkcia sírovodíka	-	+/-	+	+	-	-	+/-
<b>Fermentácia 2 % roztokov sacharidov</b>							
Galaktóza	-	-	-	-	-	-	-
Glukóza	+	+	-	-	+	+	+
Laktóza	-	-	-	-	-	-	-
Maltóza	-	-	-	-	-	-	-
Rafinóza	-	+	-	-	-	-	+
Sacharóza	-	-	-	-	-	-	-
Trehalóza	-	+	-	-	-	-	+
<b>Auxanografia využitia uhlíka/dusíka</b>							
Etanol	+	+	+	+	+	+	+
Glukóza	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+	+	+	+
Inulín	-	+	-	-	-	-	-
Laktóza	+	+	+	+	+	+	+
Melezitóza	-	+	-	-	-	-	+
Legenda: (-) – negatívna, (+/-) – slabá, (+) – pozitívna							

Birzotvorné kvasinky okrem toho, že sú schopné rásť a vytvárať povlak na vínach, podporujú aj zmeny v zložení nápoja, ktoré vedú k jeho znehodnoteniu. Jednou z vlastností, ktoré sme v súlade s prebiehajúcimi enzymatickými aktivitami skúmali, bola produkcia b-glukozidázy, ktorá štiepi glukozidicky viazané farebné a vonné látky, čím na jednej strane uvoľňuje arómy z nearomatických prekurzorov, no zároveň deštruuje stabilné farebné látky. Všetky testované kmene produkovali b-glukozidázu (Tabuľka 2), čo zodpovedá aj ich charakterizácii v dostupnej literatúre (López *et al.*, 2015; Polizzotto *et al.*, 2016).

Ďalší produkt metabolizmu, ktorý znehodnocuje víno, sú prchavé sírne zlúčeniny, najmä sírovodík, ktorý páchne po zhnitých vajciach. Jeho produkcia je kmeňovo špecifická a produkuje sa najmä v prostredí s nedostatkom asimilovateľného dusíka. Pomocou kultivácie na Biggy agare (Furdíková, 2023) sme mohli pozorovať rôzne silné zafarbenie rastúcich kolónií zodpovedajúce množstvu vyprodukovaného sírovodíka (Tabuľka 2). Najintenzívnejšie sfarbenie makrokolónie bolo pozorované pri kmeňoch *P. membranifaciens* (B3, B4), čo zodpovedá aj údajom v literatúre, ktoré uvádzajú silnú produkciu sírovodíka



touto kvasinkou (Penland *et al.*, 2022). Pri kmeňoch *C. fermentati* (B2) a *C. smithsonii* (B7) bola pozorovaná slabá produkcia sírovodíka, čo koreluje s literatúrou (Polizzotto *et al.*, 2016). Jediným z testovaných kvasinkových druhov, ktorý neprodukoval sulfán, bol druh *C. stellimalicola* (B1, B5, B6).

## ZÁVER

Biomasa kožkotvorných kvasiniek z kontaminovaného vína slúžila ako zdroj na izoláciu birzotvorných kvasiniek, pričom boli pomocou ITS-PCR identifikované kvasinkové druhy *C. stellimalicola*, *C. fermentati*, *P. membranifaciens* a *C. smithsonii*. Všetky kmene boli podrobené mikrobiologickej a biochemickej charakterizácii, pričom sa potvrdila schopnosť tvoriť pseudomycélium, ako aj vlastnosti potrebné na prežívanie vo víne so zvyškovým cukrom (etanoltolerancia 8–9,5 % obj.; osmotolerancia 30–50 % glukózy). Potvrdilo sa tiež, že birza vína väčšinou nie je tvorená jediným druhom kožkotvorných kvasiniek, ale konzorciom rôznych kvasinkových druhov a kmeňov s rozmanitými vlastnosťami. Pre ďalšie pochopenie zmien, prebiehajúcich vo víne postihnutom birzou, je potrebné vykonať fermentačné experimenty zamerané na zmeny prebiehajúce na úrovni základných zložiek nápoja ako aj na jeho aromatický profil.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla s podporou projektu: Grant STU pre podporu mladých vedeckých pracovníkov 32643 „Charakterizácia *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* a možnosti technologického využitia probiotických kvasiniek pri výrobe vína a piva“.

## Kontaktná adresa

Ing. Gabriela Kaplocká, Ústav Biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko, e-mail: gabriela.kaplocka@stuba.sk

## Literatúra

- Ali, S. S., Al-Tohamy, R., Sun, J., 2022. Performance of *Meyerozyma caribbica* as a novel manganese peroxidase-producing yeast inhabiting wood-feeding termite gut symbionts for azo dye decolorization and detoxification. In *Science of The Total Environment*. vol. 806. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150665>
- Csoma, H., Kállai, Z., Antunovics, Z., Czentye, K., Sipiczki, M., 2020. Vinification without *Saccharomyces*: Interacting Osmotolerant and “Spoilage” Yeast Communities in Fermenting and Ageing Botrytised High-Sugar Wines (Tokaj Essence). In *Microorganisms*. vol. 9, p.19. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010019>
- Daniel, H. M., Vrancken, G., Takrama, J.F., Camu, N., De Vos, P., De Vuyst, L., 2009. Yeast diversity of Ghanaian cocoa bean heap fermentations. In *FEMS Yeast Research*. vol. 9, pp. 774–783. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00520.x>
- Furdíková, K., 2023. Chémia a Mikrobiológia Vína – Enologické laboratórne praktikum. In *Slovenská chemická knižnica*, Bratislava.
- Gajdoš, P., Hambalko, J., Nicaud, J.-M., Čertík, M., 2020. Overexpression of diacylglycerol acetyltransferase from *Yarrowia lipolytica* leads to the production of single-cell

- oil enriched with 3-acetyl-1,2-diacylglycerols. In *Yeast*. vol. 37, pp. 141–147. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/yea.3442>
- Gao, J., He, X., Huang, W., You, Y., Zhan, J., 2022. Enhancing Ethanol Tolerance via the Mutational Breeding of *Pichia terricola* H5 to Improve the Flavor Profiles of Wine. In *Fermentation*. vol. 8, p. 149. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/fermentation8040149>
- Jensen, S.L., Umiker, N.L., Arneborg, N., Edwards, C.G., 2009. Identification and characterization of *Dekkera bruxellensis*, *Candida pararugosa*, and *Pichia guilliermondii* isolated from commercial red wines. In *Food Microbiology*. vol. 26, pp. 915–921. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.06.010>
- Kocková-Kratochvílová, A., 1990. Yeasts and Yeast-like Organisms. In *VCH*.
- Kurtzman, C., Fell, J.W., Boekhout, T., 2011. The Yeasts: A Taxonomic Study. In *Elsevier*.
- Lachance, M.-A., 1995. Yeast communities in a natural tequila fermentation. In *Antonie van Leeuwenhoek*. vol. 68, pp. 151–160. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/BF00873100>
- Legras, J.-L., Moreno-Garcia, J., Zara, S., Zara, G., Garcia-Martinez, T., Mauricio, J.C., Mannazzu, I., Coi, A.L., Bou Zeidan, M., Dequin, S., Moreno, J., Budroni, M., 2016. Flor Yeast: New Perspectives Beyond Wine Aging. In *Front. Microbiol.* vol. 7. Dostupné na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00503>
- Lóoke, M., Kristjuhan, K., Kristjuhan, A., 2011. Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR-based applications. In *BioTechniques*. vol. 50, pp. 325–328. Dostupné na: <https://doi.org/10.2144/000113672>
- López, M.C., Mateo, J.J., Maicas, S., 2015. Screening of  $\beta$ -Glucosidase and  $\beta$ -Xylosidase Activities in Four Non-Saccharomyces Yeast Isolates. In *Journal of Food Science*. vol. 80, pp. C1696–C1704. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12954>
- Malfeito-Ferreira, M., 2011. Yeasts and wine off-flavours: a technological perspective. In *Ann Microbiol.* vol. 61, pp. 95–102. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0098-0>
- Malfeito-Ferreira, M., Silva, A.C., 2019. Spoilage Yeasts in Wine Production, in: *Romano, P., Ciani, M., Fleet, G.H. (Eds.), Yeasts in the Production of Wine*. Springer, New York, NY, pp. 375–394. Dostupné na: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9782-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9782-4_12)
- Minárik, E., 1981. Príčiny, pôvodcovia a prevencia birzovatenia hrozových vín. In *Kvasný průmysl*. vol. 27.
- Penland, M., Pawtowski, A., Pioli, A., Maillard, M.-B., Debaets, S., Deutsch, S.-M., Falentin, H., Mounier, J., Coton, M., 2022. Brine salt concentration reduction and inoculation with autochthonous consortia: Impact on Protected Designation of Origin Nyons black table olive fermentations. In *Food Research International*. vol. 155. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111069>
- Polizzotto, G., Barone, E., Ponticello, G., Fasciana, T., Barbera, D., Corona, O., Amore, G., Giammanco, A., Oliva, D., 2016. Isolation, identification and oenological characterization of non-Saccharomyces yeasts in a Mediterranean island. In *Letters in Applied Microbiology*. vol. 63, pp. 131–138. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/lam.12599>
- Stratford, M., Steels, H., Novodvorska, M., Archer, D.B., Avery, S.V., 2019. Extreme Osmotolerance and Halotolerance in Food-Relevant Yeasts and the Role of Glycerol-Dependent Cell Individuality. In *Front. Microbiol.* vol. 9. Dostupné na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03238>

- Vaughan-Martini, A., Kurtzman, C.P., Meyer, S.A., O'Neill, E.B., 2005. Two new species in the *Pichia guilliermondii* clade: *Pichia caribbica* sp. nov., the ascosporic state of *Candida fermentati*, and *Candida carpophila* comb. nov. In *FEMS Yeast Res.* vol. 5, pp. 463–469. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.10.008>
- Wang, H., Hu, Z., Long, F., Niu, C., Yuan, Y., Yue, T., 2015. Characterization of Osmotolerant Yeasts and Yeast-Like Molds from Apple Orchards and Apple Juice Processing Plants in China and Investigation of Their Spoilage Potential. In *J Food Sci.* vol. 80, pp. M1850–1860. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12946>
- Wang, Y., Zhao, Y., Fan, L., Xia, X., Li, Y., Zhou, J., 2018. Identification and characterization of *Pichia membranifaciens* Hmp-1 isolated from spoilage blackberry wine. In *Journal of Integrative Agriculture.* vol. 17, pp. 2126–2136. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62027-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62027-1)

## Účel a princípy použitia oxidu siričitého pri výrobe vína

### Purpose and principles of using sulphur dioxide in wine production

Eduard PINTÉR<sup>1</sup>, Štefan AILER<sup>1</sup>, Martin JANÁS<sup>1</sup>, Lucia BENEŠOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Horticulture, Faculty of Horticulture and Landscape Engineering,  
Slovak University of Agriculture in Nitra v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra*

<sup>2</sup>*RC AgroBioTech, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra*

#### Abstract

In winemaking, sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>) is used for sulphurisation. Sulphurisation is the treatment of grape must, mash or wine, wine vessels, production equipment and cellars with sulphur dioxide. It has been used in winemaking since time immemorial (the Greeks and Romans already used SO<sub>2</sub> to sulphurise wine containers). The technology of sulphuring wine has been known for more than two millennia. Even today, wine sulphurisation is a basic, regular, very important, irreplaceable technological operation in the production and storage of wine, which ensures its physico-chemical, enzymatic and microbiological stability.

**Keywords:** sulphur dioxide, oenology, labelling,

#### Position of sulphur dioxide in wine technology

Sulphur dioxide has an antioxidant, preservative and decontamination effect. This complex range of its effectiveness has not yet been replaced by another technological aid. As a reducing agent, SO<sub>2</sub> reduces many substances in wine, which increases its stability and quality. It mainly reduces polyphenols, anthocyanin dyes and tannins. Prevents premature aging of wine - formation of oldness (Ailer *et al*, 2022). With aldehydes, it creates compounds that complete the special aroma and taste of wines. This particular aromatic profile is completely absent in the oxidative form of production in wines. It also has bactericidal and fungistatic effects.

The reasons for attempts to replace, reduce doses, or completely exclude SO<sub>2</sub> from technology are its indisputable toxicity for the human body. Sulphur dioxide is categorized as an allergen, and it follows that it has harmful effects. However, its toxicity for the human body is still not fully understood. Within 24 hours after consumption, it is completely excreted from the body in the form of sulphates.

Without the use of SO<sub>2</sub>, it is still not possible to produce flawless, trendy and long-lived wine. However, it is possible to control the vinification regime so that the amount of SO<sub>2</sub> in the final product is as low as possible (Ailer and Pintér, 2023).

#### Free (effective) sulphur dioxide

With the use of SO<sub>2</sub>, you need to have some experience and, above all, theoretical knowledge. It is important that only its free forms (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> and SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) have a complex effect in wine, i.e., dissociated and ionic sulphuric acid. Wines with a higher (optimal, sufficient) acid content usually have a lower pH value. In such an environment, SO<sub>2</sub> molecules are better dissociated and do not bind to the oxidizable components of the wine. The effect of

sulphurisation is significantly higher here, and wines can be sulphurised more economically and with the use of lower doses.

### **Bound sulphur dioxide**

Free forms of  $\text{SO}_2$  gradually bind to the oxidizable substances of the wine during maturation, mainly to its carboxyl components (pyruvic acid, acetaldehyde). Sulphur dioxide in bound form is practically inactive in terms of desirable effects in wine. It follows from the above that it is not possible to apply sulphur in one large dose, but gradually, at the most suitable possible date and in optimal doses. The content of bound  $\text{SO}_2$  only burdens the wine and is reflected in the result of the analysis of the total  $\text{SO}_2$  content.

### **Total sulphur dioxide**

The sum of free and bound  $\text{SO}_2$  is total  $\text{SO}_2$ . This is a value that we have to keep under control, because it is limited in terms of current legislation.

### **Methods of application of sulphur dioxide**

#### **Sulphurisation by burning of solid sulphur**

It is sulphurisation with  $\text{SO}_2$  gas. Sulphur is melted into cellulose slices, which are ignited and the burning releases molecular  $\text{SO}_2$ . It is the oldest and most used method of sulphurising empty barrels. For sulphurising rooms and large storage areas, sulphurous candles are used, which are more practical and cost-effective for this purpose.

- When sulphurising containers with sulphur flakes, we must ensure slow burning of sulphur wicks. Therefore, they should be ignited from above. The sulphur cuts must burn slowly and the gas –  $\text{SO}_2$  – must be formed from elemental sulphur without any residue.
- If we light the wick from below, due to the generation of a large amount of heat during the intense burning, part of the elemental sulphur does not burn, but melts and drips to the bottom of the container. Such unburnt sulphur can later become the starting source for the formation of hydrogen sulphide (sulphur) during the final fermentation of wine.

#### **Dosage**

A slice of sulphur weighs approximately 3 g. However, it must be weighed for an exact dose calculation. When burning 1 g of sulphur, theoretically 2 g of  $\text{SO}_2$  is produced. Approximately 40% of the generated  $\text{SO}_2$  is absorbed into the wine. To increase  $\text{SO}_2$  in wine by approximately  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ , we need to burn 1.25 g (a third) of sulphur wafers in an empty container with a volume of 100 l. Immediately after the complete burning of the sulphur slice, we pour the wine into the sulphurised container. In case we are sulphuring a barrel in which we will not store wine (dry conservation of an empty wooden barrel), we use 3 g (1 slice of sulphur) per 100 l.

#### **Sulphurisation with potassium and sodium $\text{SO}_2$ salts in powder form**

The most common method of sulphurisation in small-scale production is the use of  $\text{SO}_2$  salts. It is necessary to know that these are two different preparations, and each has a different effectiveness:

- a)  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$  – dipotassium disulphite (potassium pyrosulphite, potassium metabisulphite) releases approx. 50 masses % of  $\text{SO}_2$  after dissolution in wine.

b)  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  – disodium disulphite (sodium pyrosulphite, sodium metabisulfite) releases approx. 67 masses % of  $\text{SO}_2$  after dissolution in wine.

Sodium pyrosulphite is therefore stronger (more effective) and this must be taken into account when calculating the dosage.

- A condition for accurate sulphurisation is accurate quantity calculation, accurate weighing and thorough dissolution of new (fresh) pyrosulphite. It is hygroscopic, so it must be stored dry in airtight containers and containers.
- The application method itself is quite simple. The calculated amount of pyrosulphite is first dissolved in a closed container and, after complete dissolution, is poured into the wine, which is then thoroughly mixed.

#### Dosage

If 10 g of potassium pyrosulphite is applied to wine, 5 g of  $\text{SO}_2$  is released.

When applying 10 g of sodium pyrosulphite, 6.7 g of  $\text{SO}_2$  is released.

Example: We want to add  $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  of  $\text{SO}_2$ , sodium pyrosulphite, to the wine. We use 60 mg of pyrosulphite per liter. It is 3 grams per fifty liters and 6 grams per 100 liters.

#### Sulphurisation with pure $\text{SO}_2$ in liquid and gaseous form

It is supplied in pressure passported bottles. It is a pure gas, and no conversion is required when dosing. Due to the concentration and pressure in the bottle, it is necessary that only trained personnel work and manage liquid  $\text{SO}_2$ . Therefore, it is used only in large operations.

#### Sulphurisation with aqueous solutions and combined preparations containing $\text{SO}_2$

A number of complex technological processing aids and additives with a combined  $\text{SO}_2$  and containing sulphur dioxide are available on the market. With these preparations, it is necessary to know the concentration of  $\text{SO}_2$  present and to make an accurate dosage calculation. In the case of commercial aqueous solutions, this is, for example, a concentration of 15%  $\text{SO}_2$ . It means that when using such an additive, in addition to sulphur dioxide, we always add 85% water or other ballast to the must (wine).

#### Limits of sulphur dioxide

Sulphur dioxide is categorized as an allergen. Current EU legislation imposes the obligation to indicate the presence of sulphur dioxide in food in an amount higher than  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  with the following text: „contains sulphites“ or „contains sulphur dioxide“, the label must be in the official language of the country where the wine (beverage) or food is placed on the market. The maximum permissible amounts of total  $\text{SO}_2$  in still wines according to the applicable legislation are:

- max.  $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in red wine,
- max.  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in white and rose wine,
- max.  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in red wine with a residual sugar content above  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,
- max.  $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in white and rosé wine with a residual sugar content above  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,
- max.  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in wine with residual sugar content above  $45 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

In sparkling and semi-sparkling wines, the limits of total  $\text{SO}_2$  are as follows:

- a)  $185 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  for quality sparkling wines,
- b)  $235 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  for other sparkling wines (Commission Regulation No. 2019/934).

The content of free  $\text{SO}_2$  is currently not limited. It is important for the producer that the content of free  $\text{SO}_2$  above  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  has a disturbing effect in the wine and is sensory

noticeable. Therefore, when finalizing the wine, it is also necessary to take into account the content of free  $\text{SO}_2$  at the time of the expected consumption of the wine. The winemaker should have laboratory equipment or other possibility to quickly determine the sulphur dioxide content at any time.

### Labelling of the content of $\text{SO}_2$ on the consumer packaging of wine

Sulphur dioxide is categorized as an allergen, its content in wine must be indicated on the label with the words „Contains sulphur dioxide“ or „Contains sulphites,“ or the pictogram (Commission Regulation (EC) No. 607/2009) is used. As of December 13, 2014, the minimum font size and expressiveness is also determined (EU Council Regulation No. 1169/2011).

Small amounts of sulphur dioxide (below  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ ) occur in some foods as a natural by-product of yeast fermentation and do not need to be reported. The absolute majority of wines contain more than  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  of total  $\text{SO}_2$  at the time they are put on the market.

### Principles of sulphurification of musts and wines

During the cellar manipulations during wine treatment, the wines oxidize quite intensively, therefore compliance with the sulphur regime is very important.

The optimal/ideal permanent value of free  $\text{SO}_2$  in white and rosé wine from the post-fermentation phase to its consumption is  $35 \text{ mg.L}^{-1}$ . In practice, it is impossible to comply with it, but it is necessary to try and do as much as possible to achieve this value. The following recommendations and principles must be followed:

1. Healthy and flawless, cool enough and gently harvested grapes do not need to be sulphurised at all.
2. Must/mash from healthy and faultless, cool enough grapes intended for white and rosé wine does not need to be sulphurised at all. On the contrary, by targeted oxygenation of the mash (must), we get rid of many oxidizable substances in the ideal phase and lay the foundation for the wine's longevity. The antioxidant effect of  $\text{SO}_2$  is not yet necessary here. Fermentation is a sufficiently reductive process, and the yeast consumes the excess oxygen.
3. The mash of red grapes, especially if we macerate it through an open cap must be sulphurised immediately after crushing with a dose of  $30\text{-}40 \text{ mg.L}^{-1} \text{ SO}_2$ . This will prevent oxidation, but especially the development of acetic acid bacteria.
4. White and rosé must are first sulphurised immediately after clarification, before the application of pure wine yeast culture – at a dose of 25 to  $35 \text{ mg.L}^{-1}$ .
5. Healthy (flawless) fermenting for white and rosé must, as well as young wines fermented in regulated conditions, in which the alcoholic fermentation ends, there is no need to sulphurise at all. On the contrary, we would thereby increase the content of undesirable acetaldehyde in the product. Due to the formation of acetaldehyde, stopping the fermentation by applying sulphur dioxide is the least suitable way. It is more suitable to use a combination of cold and filtration.
6. Freshly fermented (with the end of the fermentation process) white and rosé wine, or wine after stopped fermentation (if we want to preserve residual sugar), is immediately sulphurised with a dose of approximately  $35 \text{ mg.L}^{-1}$  of  $\text{SO}_2$ .
7. Sulphurisation of freshly fermented red wine:
  - a) immediately after fermentation – if malic acid will be not biologically degraded, to a value of  $30 \text{ mg.L}^{-1}$  of free  $\text{SO}_2$ ,

- b) if biological degradation of malic acid is planned, then red wine is sulphurised only after this process to a value of 30 mg.L<sup>-1</sup> of free SO<sub>2</sub>.
8. During each further manipulation (fining, bottling, filtration), all wines are sulphurised on content of the free SO<sub>2</sub> approximately 30 mg.L<sup>-1</sup>.
9. Specific cases of sulphurisation:
- Musts that have been pressed (obtained) from grapes attacked by mould and rot, or mash that has suffered a heat shock, are particularly sulphurised.
  - Mashers from mechanized harvesting are approached specifically.
  - A special mode of sulphurisation is selected for wines with increased content of sulfane (hydrogen sulphide) in the wine. It is necessary to act vigorously and on time (Ailer and Pintér, 2023).

Sulphurisation of wine is an irreplaceable technological operation. Especially smaller wine producers often underestimate it, or they want to make wine without sulphur dioxide on purpose. The result is often the disappointment of failure.

The SO<sub>2</sub> content is determined by iodometric titration (reference method - Commission Regulation (EEC) No. 2676/90) or by a laboratory automatic analyzer, and according to the results, the necessary dose of sulphurisation is determined. The amount of SO<sub>2</sub> used depends on the type of storage material, regular topping of containers, number of manipulations and also on the precision of the winemaker and winery staff. It is necessary to reduce the SO<sub>2</sub> content in wine to the minimum necessary value, and this is only possible by flawless management of the entire vinification process, from the processing of quality grapes to finalization. Precision, hygiene and appropriate equipment are essential - suitable storage containers with the possibility of applying a protective gas atmosphere.

#### **Possibilities of SO<sub>2</sub> doses restriction in wine production**

The basis for achieving a minimal but fully effective amount of sulphur dioxide in the finished product is flawless quality grapes, consistency and technological discipline of the winemaker. Another method to limit sulphuration is the use of a protective gas atmosphere, starting from the maceration and pressing of the mash.

Targeted oxygenation of mash or must is also a technological procedure that can reduce the need for sulphurisation. This means that we will not use sulphur dioxide or any other antioxidants in the grape processing technology until the must's settling phase, but we will expose the must to atmospheric oxygen. The purpose of targeted oxygenation is to oxidize and deactivate all potentially oxidizable phenolic substances in the must, especially flavonoids, which are subsequently removed from the must by settling. Wine with a minimum content of oxidizable phenolic substances is less susceptible to oxidation during maturation and the need for its sulphurisation is lower. This technology is used in the production of white and rosé wines.

Procedures that can reduce the need for SO<sub>2</sub> application in wine production are sur lie and bâtonnage technologies, i.e., maturation of wine on healthy, own, fine, dead yeast lees. During aging on yeast, sulphur dioxide does not need to be applied to the wine, and the need for sulphuration of the wine is lower even in the next stages of wine production. These procedures have many advantages, but they are very laborious, financially expensive and require the experience and feeling of the winemaker. The reducing environment during wine maturation on yeast lees is supported by the presence of glutathione (GSH). It is a tripeptide found in yeast cells. GSH has antioxidant properties and can react with wine



aldehydes as well as sulphur dioxide. The addition of glutathione to wine is currently not yet permitted, but many commercial technological aids based on extracts from dead yeast cells (mannoproteins) also contain GSH. Glutathione cannot replace the broad-spectrum effects of  $\text{SO}_2$ , only support and supplement them (Baroň, 2013).

The reduction of doses of sulphur dioxide in the pre-fermentation phase is also possible with the method of wine production by carbonic maceration and with cryomaceration.

L-ascorbic acid (vitamin C) is an important antioxidant in oxidation-reduction reactions. It is microbially very unstable. It can only be used during finalization when the wine does not contain any microorganisms. Ascorbic acid has an immediate effect, thanks to its high antioxidant activity. However, it only protects cider or wine against short-term intensive aeration, but not against long-term oxidation. It is therefore not effective for long-term storage of wine.

The broad-spectrum effect of sulphur dioxide has not yet been replaced by an alternative, less harmful substance. Efforts to do so continue to this day. The ideal condition is to keep the wine in an atmosphere of protective gas during the entire production process. Sulphurisation would only be necessary during its finalization, in a dose of up to  $50 \text{ mg.L}^{-1}$   $\text{SO}_2$ . The content of total  $\text{SO}_2$  in finished rosé and white dry wine up to  $60 \text{ mg.L}^{-1}$  is an almost ideal state, which is very difficult to achieve in large-scale production conditions. Such a value would also meet the limits for organic wine, where the highest permissible amount is  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ .

## CONSLUSIONS

In the case of sulfation (dosage) in the wine production process, an ad hoc approach is necessary (especially depending on the state of the raw material, technological equipment, type and style of wine, and other factors). Sulfurization is antagonistic in terms of ensuring and maintaining the stability and quality of wine on the one hand and the negative impact of sulphur dioxide on human health. It is necessary to reduce the  $\text{SO}_2$  content in wine to the minimum necessary value, and this is only possible by flawless management of the entire vinification process, from the processing of quality grapes to finalization. Precision, hygiene, and appropriate equipment are essential - suitable storage containers with the possibility of applying a protective gas atmosphere. The content of free  $\text{SO}_2$  is currently not limited. It is important for the wine producer that the content of free  $\text{SO}_2$  does not exceed  $50 \text{ mg.L}^{-1}$  because in such and higher concentrations it has a disturbing effect on the wine and is sensory and negatively noticeable by the consumer. Therefore, when finalizing the wine, it is also necessary to consider the content of free  $\text{SO}_2$  at the time of the expected consumption of the wine. It is essential not to exceed the maximum permitted total content of sulphur dioxide in the finished wine. The specific methods that allow reducing the use of sulphur are targeted oxygenation (hyper-oxidation), mash cryomaceration, carbonic maceration, use of vitamin C, and use of protective gas for example.

## ACKNOWLEDGEMENT

This publication was created thanks to the support of an international research and education project Initiative project funding AT/SK No.: 2024-03-15-003 „Development of a forecasting system for the harmfulness threshold of phylloxera in the wake of climate change and changes in vine phenology“.

## Contact address

Ing. Eduard Pintér, PhD., Institute of Horticulture, Faculty of Horticulture and Landscape Engineering, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic, eduard.pinter@uniag.sk

## REFERENCES

- Ailer, Š., Pintér, E. 2023. *Management of Grape and Wine Quality*. SUA: Nitra. p. 193. ISBN 9788055226972.
- Commission Delegated Regulation (EU) 2019/934* of 12 March 2019 supplementing Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council as regards wine-growing areas where the alcoholic strength may be increased, authorised oenological practices and restrictions applicable to the production and conservation of grapevine products, the minimum percentage of alcohol for by-products and their disposal, and publication of OIV files. C/2019/1869, OJ L 149, 7.6.2019, p. 1-52.
- Regulation (EU) No 1169/2011* of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No 1924/2006 and (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC) No 608/2004 Text with EEA relevance. Select: 1. OJ L 304, 22/11/2011, p. 18-633.
- Ailer, Š., Jakobová, S., Benešová, L., Ivanova-Petropulos, V. 2022. Wine faults: State of knowledge in reductive aromas, oxidation and atypical aging, prevention, and correction methods. In *Molecules*. vol. 27, 23 p. ISSN 1420-3049. Available at: doi.org/10.3390/molecules27113535
- Commission Regulation (EEC) No. 2676/90* – Compendium of international methods of analysis – OIV.
- Regulation (EU) 2021/2117* of the European Parliament and of the Council of 2 December 2021 amending Regulations (EU) No 1308/2013 establishing a common organisation of the markets in agricultural products, (EU) No 1151/2012 on quality schemes for agricultural products and foodstuffs, (EU) No 251/2014 on the definition, description, presentation, labelling and the protection of geographical indications of aromatised wine products and (EU) No 228/2013 laying down specific measures for agriculture in the outermost regions of the Union. PE/66/2021/REV/1, OJ L 435, 6.12.2021, p. 262-31.
- Baroň, M. 2013. Possibilities of reducing the content of sulfur dioxide in wine. In *Vinařský obzor*. vol. 9, pp. 456-458. ISSN 1212-7884.

## **Konzumácia bravčového mäsa a mäsových výrobkov: Vnímanie aktuálnych aspektov a budúcich výziev z pohľadu mladých spotrebiteľov**

### **Consumption of pork meat and meat products: Perceptions of current aspects and future challenges from the perspective of young consumers**

Kristína PREDANÓCYOVÁ<sup>1</sup>, Lubica KUBICOVÁ<sup>2</sup>, Patrícia JOANIDIS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

<sup>2</sup> Ústav marketingu, obchodu a sociálnych štúdií, Fakulta ekonomiky a manažmentu, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

#### **Abstract**

The pork market has recently faced numerous challenges, particularly concerning health and sustainability aspects. The paper aims to highlight the current pork consumption and future consumption perspectives among young consumers. The consumer study is based on a questionnaire survey conducted on a sample of 443 pork consumers up to 25 years in the Slovak Republic. Various statistical methods were used to identify consumption patterns, factors influencing current pork consumption, and determinants shaping the future development of the pork market. The results revealed three identified segments of young consumers: consumers with low consumption, consumers with moderate consumption, and consumers with excessive consumption. Additionally, the findings reveal factors affecting current and future pork consumption, highlighting differences among the identified segments. The study provides a comprehensive view of the behaviour of young pork consumers offering valuable insights not only for scientific purposes but also for meat companies, policy makers, and consumers.

**Keywords:** consumption, factors, future, pork meat and meat products, young consumers

#### **ÚVOD**

Bravčové mäso je globálne jedným z najviac konzumovaných druhov mäsa a predstava významný zdroj živočíšnych bielkovín v strave ľudskej populácie (Lin-Schilstra *et al.*, 2022; Drewnowski, 2024). Vysoká spotrebiteľská preferencia bravčového mäsa môže byť pripisovaná jeho nutričnému zloženiu, vrátane obsahu vysokokvalitných bielkovín, mikroživín a makroživín (Kung *et al.*, 2021; Penkert *et al.*, 2021; An *et al.*, 2020). Konzumácia bravčového mäsa môže mať pozitívny vplyv na zdravie konzumenta, v súvislosti so zlepšovaním celkového zdravia, posilnením imunitného systému, priaznivými účinkami na kognitívne a psychomotorické procesy, či centrálny nervový systém a duševné zdravie (Dobersek *et al.*, 2021; Darooghegi Mofrad *et al.*, 2021). Navyiac bravčové mäso je klasifikované ako červené mäso a je častokrát považované za lacnejšiu alternatívu hovädzieho mäsa (McNeill, 2014). Je dôležité zdôrazniť, že dopyt po bravčovom mäse v rozvojových krajinách neustále rastie spolu s rastúcou populáciou, rastúcimi príjmami a vyšším stup-

ňom urbanizácie (Szúcs a Vida, 2017). V kontexte uvedeného je možné v nasledujúcich rokoch predpokladať meniaci sa trh s bravčovým mäsom. Oyewumi a Jooste (2006) poukazujú na faktory, ktoré môžu ovplyvniť trendy v spotrebe bravčového mäsa, a zdôrazňujú najmä príjem na obyvateľa, rast populácie, náboženstvo, urbanizáciu, diverzitu stravy, obmedzenú dostupnosť mäsa a vnímanú kvalitu bravčového mäsa. Rastúci dopyt v celosvetovom meradle poskytuje globálnemu sektoru ošipáných ďalšie príležitosti na rast, avšak zintenzívňuje obavy v oblasti udržateľnosti, najmä v otázkach zvýšenia dopytu po krmivách, využívania pôdy a vody, emisií skleníkových plynov a znečistenia ovzdušia, pôdy a vody (Wusheng *et al.*, 2022). Zvyšujúci sa dopyt po bravčovom mäse môže priniesť aj ďalšie riziká dotýkajúce sa falšovania mäsa, ktoré sa v posledných rokoch stáva významným problémom (Rahmati *et al.*, 2016). Falšovanie mäsa, najmä z ekonomických dôvodov, je rozšírené a predstavuje vážne riziká pre verejné zdravie, ako napríklad vystavenie toxínom, patogénom alebo alergénom obsiahnutým v týchto produktoch (Čapla *et al.*, 2020). Falšovanie sa týka pôvodu mäsa, nahrádzania mäsa inými ingredienciami, nesúladu s deklarovaným množstvom, spôsobu spracovania a pridávania nežiaducich prísad, ako sú voda, múka alebo soľ (Dooley *et al.*, 2004; Ballin, 2010). Predanócyová *et al.* (2023) zdôrazňujú, že ďalším determinantom ovplyvňujúcim konzumáciu červeného mäsa môžu byť obavy spotrebiteľov nielen ohľadom environmentálnych dopadov, ale aj celkových životných podmienok zvierat. Zvyšujúca sa konzumácia bravčového mäsa u jednotlivcov môže mať aj negatívne dôsledky na ich zdravie. Je preukázané, že nadmerná konzumácia bravčového mäsa, najmä spracovaného, môže negatívne vplyvať na zdravie konzumentov a zvýšiť riziko vzniku kardiovaskulárnych ochorení, rakoviny hrubého čreva, cukrovky, vysokého krvného tlaku či mŕtvice (McNeill a Van Elswyk, 2012). V súvislosti s budúcim vývojom trhu s bravčovým mäsom je dôležité poukázať na skutočnosť, že pokiaľ bude ambíciou spotrebiteľov konzumovať bravčové mäso v nezmenenom rozsahu, je riziko, že produkcia nebude schopná pokryť dopyt. Z uvedeného dôvodu sa v súčasnosti objavujú nové prístupy, ktoré sa zaoberajú náhradami mäsa v podobe produkcie živočíšnych produktov z kmeňových buniek, analógií mias na báze rastlinných bielkovín, či konzumácie hmyzu (Hadi a Brightwell, 2021; Font-i-Furnols a Guerrero, 2022).

Pre budúce smerovanie trhu s bravčovým mäsom je kľúčové pochopiť spotrebiteľské správanie a definovať determinanty, ovplyvňujúce rozhodnutia spotrebiteľov o nákupe a konzumácii s perspektívou do budúcnosti. Cieľom príspevku je preskúmať a identifikovať spotrebiteľské preferencie, týkajúce sa konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa na Slovensku. V súčasnej dobe sa mení spotrebiteľské správanie na trhu s bravčovým mäsom, s akcentom na trendy súvisiace so zdravou výživou a udržateľnými aspektmi produkcie a potreby. Napriek uvedenému, na Slovensku absentuje komplexná spotrebiteľská štúdia, týkajúca sa konzumácie bravčového mäsa s perspektívou do budúcnosti. Predkladaná štúdia poskytne relevantné informácie, získané z prieskumu realizovanom na vzorke 443 konzumentov bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa. Štúdia sa orientuje na mladú generáciu spotrebiteľov, ktorých spotrebiteľské správanie môže významne ovplyvniť trh s bravčovým mäsom s perspektívou do budúcnosti. Štúdia sa zameriava na množstvo konzumácie bravčového mäsa a mäsových výrobkov, dôvody konzumácie a významnosť faktorov v kontexte súčasnej spotreby, ako aj plánovanie budúcej konzumácie a identifikáciu determinantov ovplyvňujúcich budúci trh s bravčovým mäsom.

V kontexte uvedených východísk a cieľa príspevku boli formulované výskumné otázky:

- Aká je ročná úroveň konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa u slovenských spotrebiteľov mladej generácie?
- Aké determinanty môžu významne ovplyvniť budúci trh s bravčovým mäsom a výrobkami z bravčového mäsa z pohľadu mladej generácie slovenských spotrebiteľov?

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Spotrebiteľská štúdia je založená na prieskume zameranom na konzumentov bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa, s cieľom odhaliť množstvo konzumácie a determinanty ovplyvňujúce spotrebu mäsa nielen v súčasnosti, ale aj s perspektívou do budúcnosti. Dotazníkový prieskum bol realizovaný v Slovenskej republike v rokoch 2019 – 2020 a pre spotrebiteľov bol distribuovaný v elektronickej verzii s využitím platformy Google Forms. Dotazníkový prieskum bol realizovaný využitím metódy snowball a bolo do neho zapojených 443 spotrebiteľov bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa s vekovým obmedzením do 25 rokov. Respondenti, zapojení do dotazníkového prieskumu, boli rozdelení podľa vybraných socio-demografických charakteristík, konkrétne pohlavia, vzdelania, bydliska, počtu členov v domácnosti, ekonomického statusu, mesačného príjmu domácnosti a stravovacích návykov (Tabuľka 1).

*Tabuľka 1.* Socio-demografický profil výskumnej vzorky

Socio-demografické premenné		n	%
pohlavie	muž	153	34,5
	žena	290	65,5
vzdelanie	bez vysokoškolského vzdelania	133	30,0
	s vysokoškolským vzdelaním	310	70,0
bydlisko	mesto	237	53,5
	vidiek	206	46,5
počet členov	1 člen	10	2,3
	2 členovia	66	14,9
	3 členovia	106	23,9
	4 členovia	151	34,1
	5 členovia	70	15,8
	viac ako 5 členov	40	9,0
ekonomický status	materská/rodičovská dovolenka	7	1,6
	nezamestnaný	4	0,9
	zamestnaný	88	19,9
	študent	344	77,7

Pokračovanie Tabuľky 1			
Socio-demografické premenné		n	%
mesačný príjem domácnosti	menej ako 1000 Eur	69	15,6
	1001 – 2000 Eur	215	48,5
	viac ako 2001 Eur	159	35,9
stravovacie návyky	konzumácia iba klasického mäsa bez náhrad mäsa	229	51,7
	prevažná konzumácia klasického mäsa, príležitostná konzumácia náhrad mäsa	189	42,7
	prevažná konzumácia náhrad mäsa, príležitostná konzumácia klasického mäsa	5	1,1
	rovnaká konzumácia klasického mäsa aj náhrad mäsa	20	4,5

Spotrebiteľský prieskum bol rozdelený do troch hlavných častí. Prvá časť bola zameraná na identifikovanie konzumovaného množstva bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa za rok. Spotrebiteľia určovali priemerné týždenné množstvo konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa (párky, šunka, saláma, slanina, klobásy, konzervy a ostatné výrobky). Spotrebiteľia stanovovali počet porcií konzumovaných výrobkov v priemere za týždeň, ktoré boli následne prepočítané na množstvá konzumácie v kilogramoch za týždenné obdobie a ročné obdobie. Následne na základe výsledkov ročnej spotreby bravčového mäsa a mäsových výrobkov boli spotrebiteľia rozdelení do troch kategórií: spotrebiteľia vykazujúci nízku konzumáciu (menej ako 16,5 kg), spotrebiteľia vykazujúci priemeranú konzumáciu (16,5 – 28,5 kg), spotrebiteľia vykazujúci nadmernú konzumáciu (viac ako 28,5 kg).

Druhá časť prieskumu sa orientovala na dôvody a determinanty aktuálnej spotreby bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa. Spotrebiteľia určovali kľúčový dôvod konzumácie, pričom mali na výber z možností: chuť, návyk z detstva, súčasť racionálneho stravovania, vysoká úroveň výživových hodnôt, dobré skúsenosti s konzumáciou výrobkov, iné. V kontexte dôvodov konzumácie, boli zisťované štatisticky významné rozdiely medzi definovanými segmentmi spotrebiteľov s využitím Chí kvadrát testu štvorcovej kontingencie. Významnú časť prieskumu predstavovalo identifikovanie faktorov, determinujúcich spotrebu bravčového mäsa a výrobkov. Spotrebiteľia hodnotili 17 faktorov, konkrétne kvalitu, obsah bielkovín, podiel mäsa, obsah soli, obsah vody, obsah emulgátorov, obsah tuku, vzhľad, vôňu, krajinu pôvodu, výrobcu, cenu, čerstvosť, zdravotný aspekt, informácie o produkte, propagáciu a ekologický aspekt na 10-bodovej škále, pričom 1 predstavovala bezvýznamnosť a 10 vysokú významnosť. V kontexte faktorov, determinujúcich konzumáciu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa, boli skúmané aj rozdiely v hodnotení v jednotlivých segmentoch pomocou Friedmanovho testu a Nemenyiho metódy.

Posledná časť prieskumu sa zameriavala na budúce perspektívy v konzumácii bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa. Spotrebiteľia sa vyjadrovali k plánovanej budúcej konzumácii a vyberali z nasledovných možností: rapidne zníženie konzumácie, mierne zníženie konzumácie, bezo zmeny, mierne zvýšenie konzumácie, rapidne zvýšenie konzumácie. Pomocou Chí-kvadrát testu štvorcovej kontingencie boli skúmané rozdiely

medzi jednotlivými segmentmi spotrebiteľov. Spotrebiteľia určovali aj potenciálny vplyv aspektov, ako sú potravinové škandály, choroby zvierat, zloženie, falšovanie, zlé životné podmienky zvierat, tvrdenia o negatívnych zdravotných účinkoch, nedostatočná ponuka mäsa na trhu, sklon k vegetariánstvu, konzumácia rastlinných náhrad mias, konzumácia hmyzu, konzumácia hybridných mäsových výrobkov, konzumácia mäsa produkovaného v laboratóriách na 10-bodovej škále, pričom 1 predstavovala žiadny vplyv a 10 veľmi významný vplyv. V kontexte hodnotenia uvedených determinantov budúcej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa boli skúmané rozdiely v hodnotení v jednotlivých segmentoch s využitím Friedmanovho testu a Nemenyiho metódy.

Údaje získané zo spotrebiteľského prieskumu boli spracované pomocou Microsoft Excel a vyhodnotené v štatistickom programe XLSTAT 2022.4.1.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

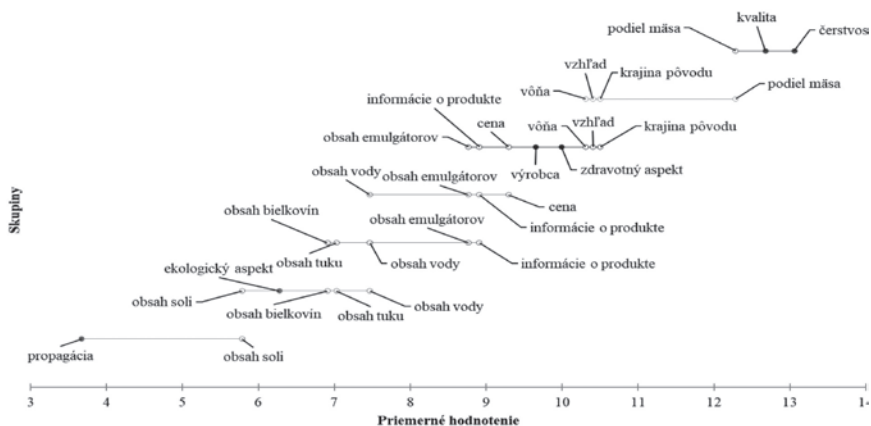
Výsledky spotrebiteľského prieskumu ukázali, že v podmienkach Slovenskej republiky je konzumácia bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa relatívne na vysokej úrovni a priemerne dosahuje úroveň až 31,5 kg. Primerané množstvo konzumácie bravčového mäsa a mäsových výrobkov dosahuje 27,1 % spotrebiteľov zapojených do dotazníkového prieskumu, čo predstavuje ich ročnú konzumáciu na úrovni 16,5 až 28,5 kg. Uvedený segment spotrebiteľov priemerne za rok skonzumuje 9,8 kg bravčového mäsa a 12,5 kg výrobkov z bravčového mäsa, čo znamená, že priemerná týždenná spotreba spotrebiteľa zo skúmaného segmentu pozostáva zo 190 g bravčového mäsa, 1 ks bravčového páрку, 60 g bravčovej šunky, 16 g konzervy, v ktorej prevláda bravčové mäso, 103 g ostatných bravčových výrobkov, vrátane salámy, klobásy, slaniny, či iných bravčových výrobkov. Nadmerná konzumácia bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa je zaznamenaná u 42,9 % respondentov, čo môže v budúcnosti viesť k prejavujúcim sa negatívnym zdravotným účinkom u spotrebiteľov. Priemerná ročná spotreba spotrebiteľov v tomto segmente predstavuje 16,9 kg bravčového mäsa a 34,9 kg výrobkov z bravčového mäsa. Priemerný konzument zo skúmaného segmentu spotrebuje za jeden týždeň 325 g bravčového mäsa, 3,5 ks bravčových párkov, 127 g bravčovej šunky, 100 g konzervy, v ktorej prevláda bravčové mäso a 310 g ostatných bravčových výrobkov. Na druhej strane bola evidovaná aj nízka konzumácia tohto typu mäsa u 30,0 % opýtaných, čo znamená konzumáciu pod úrovňou 16,5 kg za rok. Priemerný spotrebiteľ, patriaci do skúmaného segmentu, spotrebuje priemerne za rok 6,1 kg bravčového mäsa a 4,7 kg výrobkov z bravčového mäsa. Z dosiahnutých výsledkov je možné konštatovať, že priemerný spotrebiteľ zaradený do tohto segmentu skonzumuje za týždeň 118 g bravčového mäsa, 0,5 ks bravčového páрку, 22 g bravčovej šunky, 5 g konzervy, v ktorej prevláda bravčové mäso a 45 g ostatných bravčových výrobkov. V súvislosti s konzumáciou bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa je potrebné zhodnotiť aj kľúčové dôvody konzumácie. Výsledky spotrebiteľského prieskumu ukázali, že mladí spotrebiteľia konzumujú bravčové mäso najmä z dôvodu návyku konzumácie od detstva (29,1 %), z dôvodu dodržiavania zásad racionálneho stravovania (24,4 %) a kvôli jeho chuti (23,3 %). V kontexte indikácie hlavných dôvodov konzumácie, výsledky Chí kvadrát testu štvorcovej kontingencie ukázali štatisticky významné rozdiely v hodnotení významnosti dôvodov konzumácie medzi jednotlivými segmentmi ( $p=0,004$ ). Na základe údajov uvedených v Tabuľke 2 je možné konštatovať, že pre spotrebiteľov s vyššou úrovňou konzumácie je najviac významným dôvodom chuť, zatiaľ čo pre spotrebiteľov

s primeranou a nízkou konzumáciou je kľúčovým dôvodom konzumácie ich návyk z detstva.

**Tabuľka 2.** Dôvody konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v jednotlivých segmentoch

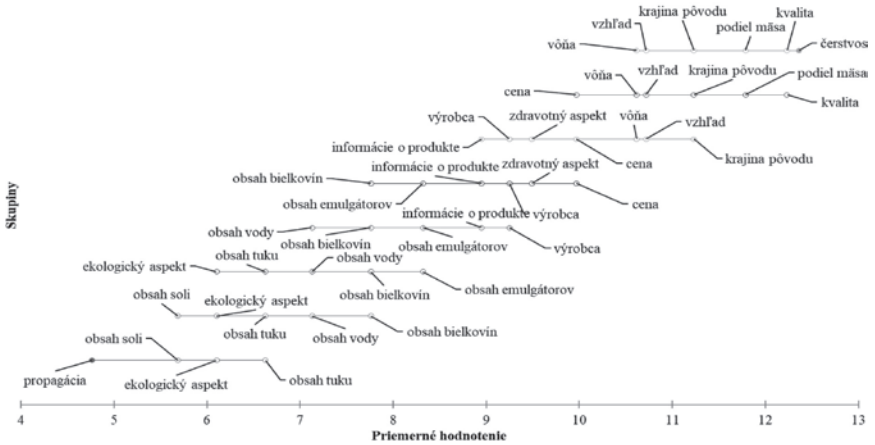
	Spotrebiteľia s nízkou konzumáciou		Spotrebiteľia s primeranou konzumáciou		Spotrebiteľia s nadmernou konzumáciou	
	n	%	n	%	n	%
<i>chuť</i>	35	26,3	19	15,8	49	25,8
<i>návyk z detstva</i>	40	30,1	42	35,0	47	24,7
<i>súčasť racionálneho stravovania</i>	38	28,6	26	21,7	44	23,2
<i>vysoká úroveň výživovej hodnoty</i>	8	6,0	16	13,3	34	17,9
<i>dobré skúsenosti s výrobkami</i>	5	3,8	9	7,5	14	7,4
<i>iné</i>	7	5,3	8	6,7	2	1,1

Výsledky prieskumu ďalej poukázali aj na významnosť determinantov ovplyvňujúcich konzumáciu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa a na základe aritmetického priemeru je možné konštatovať, že najdôležitejšími faktormi pre mladých spotrebiteľov sú čerstvosť ( $\bar{x}=8,553$ ), kvalita ( $\bar{x}=8,528$ ), podiel mäsa ( $\bar{x}=8,307$ ), krajina pôvodu ( $\bar{x}=7,864$ ), vôňa ( $\bar{x}=7,851$ ) a vzhľad ( $\bar{x}=7,849$ ). Na druhej strane najmenej významnými faktormi boli identifikované propagácia ( $\bar{x}=5,031$ ) a ekologický aspekt ( $\bar{x}=5,765$ ). Aplikovaním Friedmanovho testu ( $p < 0,0001$ ) a post-hoc Nemenyi procedúry boli identifikované štatisticky významné rozdiely v hodnotení faktorov pri konzumácii bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v jednotlivých segmentoch. Rozdiely v spotrebiteľskej percepcii sú graficky znázornené pomocou Demsarovho grafu (Obrázok 1 – Obrázok 3).

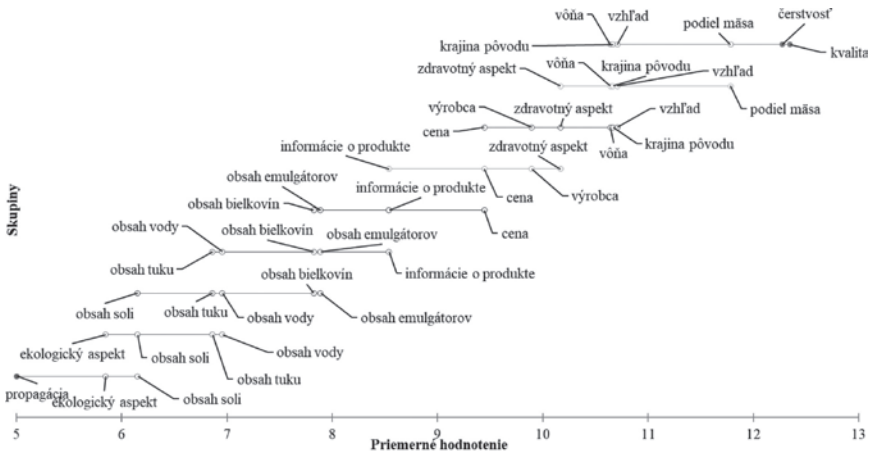


**Obrázok 1.** Rozdiely v hodnotení faktorov determinujúcich spotrebu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v segmente spotrebiteľov s nízkou konzumáciou





**Obrazok 2.** Rozdiely v hodnotení faktorov determinujúcich spotrebu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v segmente spotrebiteľov s primeranou konzumáciou



**Obrazok 3.** Rozdiely v hodnotení faktorov determinujúcich spotrebu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v segmente spotrebiteľov s nadmernou konzumáciou

V kontexte budúcich perspektív na trhu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa cieľom prieskumu bolo aj identifikovať ako sa u spotrebiteľov mladej generácie zmení spotreba v najbližších rokoch. Na základe výsledkov je možné konštatovať, že približne polovica spotrebiteľov v budúcnosti neplánuje zvýšiť ani znížiť spotrebu bravčového mäsa. Bravčové mäso má byť konzumované v menšej miere u 36,3% spotrebiteľov a zvýšenie spotreby predpokladá len 10,6% spotrebiteľov zapojených do prieskumu. Pomocou Chí kvadrát testu štvorcovej kontingencie bolo skúmané, či aktuálne množstvo konzumácie má vplyv na potenciálny budúci vývoj spotreby bravčoviny, avšak výsledky nepreukázali štatistickú významnosť. V nasledujúcej Tabuľke 3 je uvedený predpokladaný vývoj budú-

cej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa z pohľadu jednotlivých segmentov.

**Tabuľka 3.** Potenciálny vývoj budúcej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v jednotlivých segmentoch

	Spotrebitelia s nízkou konzumáciou		Spotrebitelia s primeranou konzumáciou		Spotrebitelia s nadmernou konzumáciou	
	n	%	n	%	n	%
<i>rapídne zníženie spotreby</i>	16	12,0	15	12,5	22	11,6
<i>mierne zníženie spotreby</i>	39	29,3	24	20,0	45	23,7
<i>bez zmeny</i>	68	51,1	68	56,7	99	52,1
<i>mierne zvýšenie spotreby</i>	8	6,0	8	6,7	19	10,0
<i>rapídne zvýšenie spotreby</i>	2	1,5	5	4,2	5	2,6

Predpokladaný vývoj zo strany spotrebiteľov a trendy v spotrebe bravčového mäsa a mäsových výrobkov s perspektívou do budúcnosti môžu byť ovplyvnené viacerými faktormi. Na základe výsledkov prieskumu a aritmetického priemeru je možné konštatovať, že mladí spotrebitelia považujú za najvýznamnejšie aspekty, determinujúce budúci vývoj trhu bravčového mäsa, najmä choroby zvierat ( $\bar{x}=7,242$ ), falšovanie mäsa ( $\bar{x}=7,210$ ), zloženie ( $\bar{x}=6,783$ ) a zlé životné podmienky zvierat ( $\bar{x}=6,770$ ). Na druhej strane za nevýznamné determinanty považujú konzumáciu rastlinných náhrad mias ( $\bar{x}=3,966$ ), tvrdenia o negatívnych zdravotných účinkoch vyplývajúcich z konzumácie ( $\bar{x}=3,688$ ), ako aj sklon k vegetariánstvu ( $\bar{x}= 3,623$ ). V kontexte determinantov budúcej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa bola skúmaná aj ich významnosť v jednotlivých segmentoch. Výsledky Friedmanovho testu identifikovali štatisticky významné rozdiely v každom segmente ( $p<0,001$ ). Implementovaním post-hoc Nemenyiho metódy bolo zistené, medzi ktorými determinantmi sú štatisticky významné rozdiely a ktoré determinanty boli spotrebiteľmi v jednotlivých segmentoch hodnotené rovnako (Tabuľka 4 – Tabuľka 6).

**Tabuľka 4.** Rozdiely v hodnotení determinantov budúcej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v segmente spotrebiteľov s nízkou konzumáciou

Determinanty	Priemerné hodnotenie	Skupiny					
tvrdenia, že mäso škodí ľudskému organizmu	3,808	A					
sklon k vegetariánstvu	4,293	A					
konzumácia rastlinných náhrad mias	4,662	A					
nedostatočná ponuka mäsa na trhu	5,086	A	B				
hmyz	6,421		B	C			
hybridné mäso	6,797			C	D		
potravinové škandály	6,823			C	D	E	

Pokračovanie Tabuľky 4							
Determinanty	Priemerné hodnotenie	Skupiny					
mäso produkované v laboratóriách	7,256			C	D	E	F
životné podmienky zvierat	7,914				D	E	F
zloženie	8,173				D	E	F
faľšovanie mäsa	8,259					E	F
choroby zvierat	8,508						F

**Tabuľka 5.** Rozdiely v hodnotení determinantov budúcej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v segmente spotrebiteľov s primeranou konzumáciou

Determinanty	Priemerné hodnotenie	Skupiny				
sklon k vegetariánstvu	4,346	A				
tvrdenia, že mäso škodí ľudskému organizmu	4,479	A				
konzumácia rastlinných náhrad mias	4,504	A				
nedostatočná ponuka mäsa na trhu	5,408	A	B			
hmyz	6,233		B			
hybridné mäso	6,550		B	C		
mäso produkované v laboratóriách	6,750		B	C		
potravinové škandály	6,788		B	C		
zloženie	7,892			C	D	
životné podmienky zvierat	7,946			C	D	
faľšovanie mäsa	8,533					D
choroby zvierat	8,571					D

**Tabuľka 6.** Rozdiely v hodnotení determinantov budúcej konzumácie bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa v segmente spotrebiteľov s nadmernou konzumáciou

Determinanty	Priemerné hodnotenie	Skupiny					
sklon k vegetariánstvu	4,221	A					
konzumácia rastlinných náhrad mias	4,768	A	B				
tvrdenia, že mäso škodí ľudskému organizmu	4,908	A	B				
nedostatočná ponuka mäsa na trhu	5,621		B	C			
hmyz	6,387			C	D		
hybridné mäso	6,584			C	D	E	
potravinové škandály	6,603			C	D	E	
mäso produkované v laboratóriách	6,621			C	D	E	
zloženie	7,539				D	E	F
životné podmienky zvierat	7,755					E	F
falšovanie mäsa	8,447						F
choroby zvierat	8,545						F

Výsledky spotrebiteľskej štúdie realizovanej na Slovensku poukázali na konzumáciu bravčového mäsa a mäsových výrobkov s dôrazom na mladú generáciu spotrebiteľov, pričom bola preukázaná relatívne vysoká konzumácia bravčového mäsa s priemernou ročnou spotrebou až na úrovni 31,5 kg. Mladí konzumenti boli rozdelení do troch segmentov v závislosti od množstva konzumácie bravčoviny za obdobie jedného roka, konkrétne spotrebiteľia vykazujúci nízku konzumáciu bravčového mäsa a mäsových výrobkov, spotrebiteľia vykazujúci primeranú konzumáciu bravčového mäsa a mäsových výrobkov a spotrebiteľia vykazujúci nadmernú konzumáciu bravčového mäsa a mäsových výrobkov. Iné štúdie u mladej generácie zatiaľ neskúmali spotrebiteľské segmenty v otázke množstva skonzumovaného bravčového mäsa. Štúdia Verbekeho (2011) identifikovala tri spotrebiteľské segmenty zohľadňujúc množstvo a frekvenciu konzumáciu bravčového mäsa, konkrétne nekonzumenti bravčového mäsa, nízka rozmanitosť, nízka frekvencia a vysoká rozmanitosť, vysoká frekvencia. Ďalšie štúdie sa zaoberali segmentmi spotrebiteľov na trhu bravčového mäsa, avšak z iných perspektív. Štúdia realizovaná Ortizom *et al.* (2021) identifikovala tri spotrebiteľské segmenty, zohľadňujúc trendy spotreby a spotrebiteľské správanie k čerstvým iberským mäsovým výrobkom. Definované segmenty označovali nemotivovaných, inovatívnych a tradičných spotrebiteľov. Ďalšia štúdia uskutočnená Lin-Schilstrom *et al.* (2022) identifikovala štyri segmenty spotrebiteľov (nároční, priemerní, ekologickí a ľahostajní) na základe postojev a vnímania bravčového mäsa a motívov ku konzumácii. Výsledky našej štúdie ďalej poukázali na chuť a dôležitosť vo výžive ako kľúčové dôvody konzumácie bravčového mäsa a výrobkov v definovaných segmentoch. Tanjung *et al.* (2021) vyzdvihuje, že bravčové mäso je konzumované najmä vďaka jeho unikátnej chuti. Štúdia medzi slovenskými spotrebiteľmi odhalila aj faktory determinujúce úroveň aktuálnej konzumácie a z výsledkov vo všetkých troch segmentoch vyplýva, že kvalita, čerstvosť a podiel mäsa vo výrobkoch sú kľúčovými pre mladú generáciu spotrebiteľov. Faktormi,

ovplyvňujúcimi spotrebu bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa, sa zaoberali aj iné štúdie a ich výsledky ukázali, že cena, kvalita a krajina pôvodu sú pre spotrebiteľov kľúčové (Papanagioutou *et al.*, 2013; Kung *et al.*, 2021; Grunert, 2005; Font-i-Furnols *et al.*, 2011). Hati *et al.* (2021) a Wu *et al.* (2017) zdôraznili, že spotrebiteľia berú do úvahy aj čerstvosť a bezpečnosť potravín. Borrissier-Pairó *et al.* (2016) a Chernukha *et al.* (2021) identifikovali kvalitu, čerstvosť, cenu, pôvod a obsah tuku ako dôležité faktory vo výbere bravčového mäsa. McCarthy *et al.* (2004) uvádzajú, že cena, príjem, chuť, bezpečnosť a environmentálne aspekty sú kľúčové pri konzumácii mäsa. Výsledky nášho výskumu ukázali, že mladí spotrebiteľia neplánujú významne meniť úroveň spotreby bravčového mäsa s perspektívou do budúcnosti a za najdôležitejšie determinanty budúcej spotreby bravčového mäsa považujú falšovanie mäsa, choroby zvierat, zloženie mäsa, ako aj životné podmienky zvierat. Budúcu spotrebu bravčového mäsa môžu určovať rôzne faktory, ako sú klimatické zmeny, environmentálne problémy, obavy ohľadom zdravotných účinkov konzumácie bravčového mäsa, existencia nových rastlinných náhrad mäsa (Van Vliet *et al.*, 2020) a tiež meniace sa spotrebiteľské návyky a preferencie (Milford *et al.*, 2019).

## ZÁVER

Súčasný trendy v konzumácii bravčového mäsa a výrobkov z bravčového mäsa sú ovplyvnené meniacim sa životným štýlom, stravovacími návykmi, obavami spotrebiteľov ohľadom negatívnych zdravotných účinkov vyplývajúcich z konzumácie a environmentálnymi aspektmi produkcie a spotreby. Príspevok sa zameriava na trh s bravčovým mäsom v Slovenskej republike, pričom sa orientuje na mladú generáciu spotrebiteľov, ktorej sa budúcnosť trhu bravčového mäsa dotýka najviac. Spotreba bravčového mäsa je globálne na relatívne vysokej úrovni, na čo poukázali aj výsledky spotrebiteľskej štúdie. Spotrebiteľský prieskum odhalil priemernú ročnú konzumáciu bravčového mäsa na úrovni 31,5 kg na osobu. Respondenti boli rozdelení do troch skupín podľa úrovne konzumácie: spotrebiteľia s nízkou konzumáciou, spotrebiteľia s primeranou konzumáciou a spotrebiteľia s nadmernou konzumáciou. Štúdia sa koncentrovala na identifikovanie faktorov súčasnej a budúcej konzumácie bravčového mäsa a poukázanie na štatisticky významné rozdiely v hodnotení v rámci jednotlivých segmentov, ako aj medzi spotrebiteľskými segmentmi.

V kontexte dosiahnutých výsledkov je možné využiť zistenia v oblasti vedy, výskumu a praxe, najmä problematiku nového pohľadu na spotrebiteľské správanie, s dôrazom na komplexnosť identifikovaných faktorov súčasnej spotreby bravčového mäsa a determinantov budúceho vývoja trhu s bravčovým mäsom. Uvedené poznatky môžu byť prínosom aj pre podnikateľské subjekty operujúce na súčasnom trhu s bravčovým mäsom, najmä pri tvorbe marketingových stratégií zameraných na podporu konzumácie kvalitného bravčového mäsa slovenského pôvodu. Okrem uvedeného, výsledky štúdie môžu poskytnúť cenné informácie pri zvyšovaní spotrebiteľského povedomia týkajúceho sa zníženia celkovej konzumácie bravčového mäsa kvôli jeho environmentálnym a zdravotným dopadom. Z uvedeného dôvodu, môže byť štúdia prínosom pre tvorcov politik pri implementovaní nových programov podporujúcich zdravé a udržateľné stravovanie v spoločnosti.

Napriek mnohým prínosom štúdie pre vedecké poznatky a praktické aplikácie, boli identifikované aj určité obmedzenia. Hlavné obmedzenia zahŕňajú riziko sebaapodhodnotenia respondentov v súvislosti s určovaním množstva konzumácie bravčového mäsa a mäsových výrobkov, ako aj geografickú obmedzenosť výskumu, ktorý sa zameriava iba na Slovenskú republiku. Pre ďalší výskum by bolo užitočné skúmať spotrebu bravčového

mäsa s perspektívou do budúcnosti v rôznych krajinách, aby sa identifikovali a podrobnejšie analyzovali existujúce rozdiely.

## POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

## Kontaktná osoba

Ing. Patrícia Joanidis, PhD., Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, e-mail: patricia.joanidis@uniag.sk

## LITERATÚRA

- An, R., Liu, J., Liu, R. 2020. Pork Consumption in Relation to Body Weight and Composition: A Systematic Review and Meta-analysis. In *American journal of health behavior*. vol. 44, no. 4, pp. 513-525, ISSN1945-7359, Dostupné na: doi: 10.5993/AJHB.44.4.12
- Ballin, N.Z. 2010. Authentication of meat and meat products. In *Meat Science*. vol. 86, no. 3, pp. 577-587, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2010.06.001
- Borrisser-Pairó, F., Kallas, Z., Panella-Riera, N., Avena, M., Ibáñez, M., Olivares, A., Gil, J.M., Oliver, M.A. 2016. Towards Entire Male Pigs in Europe: A Perspective from the Spanish Supply Chain. In *Research in Veterinary Science*. vol. 107, pp. 20-29, ISSN 0034-5288. Dostupné na: doi: 10.1016/j.rvsc.2016.05.004
- Čapla, J., Zajác, P., Čurlej, J., Belej, L., Kročko, M., Bobko, M., Benešová, L., Jakabová, S. and Vlčko, T. 2020. Procedures for the identification and detection of adulteration of fish and meat products. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. vol. 14, no.1, pp. 978-994. ISSN 1337-0960. Dostupné na: doi: 10.5219/1474
- Daroohegi Mofrad, M., Mozaffari, H., Sheikhi, A., Zamani, B., Azadbakht, L. 2021. The association of red meat consumption and mental health in women: A cross-sectional study. In *Complementary therapies in medicine*. vol. 56, p. 102588, ISSN 1 873-6963. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ctim.2020.102588
- Dobersek, U., Wy, G., Adkins, J., Altmeyer, S., Krout, K., Lavie, C. J., Archer, E. 2021. Meat and mental health: a systematic review of meat abstinence and depression, anxiety, and related phenomena. In *Critical reviews in food science and nutrition*. vol. 61, no. 4, pp. 622-635, ISSN 1549-7852. Dostupné na: doi: 10.1080/10408398.2020.1741505
- Dooley, J.J., Paine, K.E., Garrett, S.D., Brown, H.M. 2004. Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. In *Meat Science*. vol. 68, no. 3, pp. 431-438, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2004.04.010
- Drewnowski A. 2024. Perspective: The Place of Pork Meat in Sustainable Healthy Diets. In *Advances in Nutrition*. vol. 15, no. 5, p. 100213, ISSN 2161-8313. Dostupné na: doi: 10.1016/j.advnut.2024.100213
- Font-i-Furnols, M., Guerrero, L. 2022. Understanding the future meat consumers. In *Meat Science*. vol. 193, p. 108941. ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meat-sci.2022.108941

- Font-i-Furnols, M., Realini, C., Montossi, F., Sanudo, C., Campo, M., Oliver, M. A., Nute, G. R., Guerrero, L. 2011. Consumer's purchasing intention for lamb meat affected by country of origin, feeding system and meat price: A conjoint study in Spain, France and United Kingdom. In *Food Quality and Preference*, vol. 22, no. 5, pp. 443-451. ISSN 0950-3293. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodqual.2011.02.007
- Grunert, K. G. 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand. In *European Review of Agricultural Economics*, vol. 32, no. 3, pp. 69-391, ISSN 1464-3618. Dostupné na: doi: 10.1093/eurrag/jbi011
- Hadi, J., Brightwell, G. 2021. Safety of alternative proteins: Technological, environmental and regulatory aspects of cultured meat, plant-based meat, insect protein and single-cell protein. In *Foods*, vol. 10, no. 6, p. 1226, ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods10061226
- Hati, S., Zulianti, I., Achyar, A., Safira, A. 2021. Perceptions of nutritional value, sensory appeal, and price influencing customer intention to purchase frozen beef: Evidence from Indonesia. In *Meat science*, vol. 172, p. 108306, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108306
- Chernukha, I., Kotenkova, E., Derbeneva, S., Khvostov, D. 2021. Bioactive Compounds of Porcine Hearts and Aortas May Improve Cardiovascular Disorders in Humans. In *International Journal of Environmental Research and Public Health*. vol. 18, no. 14, p. 7330, ISSN 1660-4601. Dostupné na: doi: 10.3390/ijerph18147330
- Kung, M. L., Wang, J. H., Liang, C. 2021. Impact of Purchase Preference, Perceived Value, and Marketing Mix on Purchase Intention and Willingness to Pay for Pork. In *Foods*. vol. 10, no. 10, p. 2396, ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods10102396
- Lin-Schilstra, L., Backus, G., Snoek, H., Mörlein, D. 2022. Consumers' view on pork: Consumption motives and production preferences in ten European Union and four non-european union countries. In *Meat Science*. vol. 187, p. 108736, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2022.108736
- McCarthy, M., O'Reilly, S., Cotter, L., de Boer, M. 2004. Factors influencing consumption of pork and poultry in the Irish market. In *Appetite*. vol. 43, no. 1, pp. 19-28, ISSN 0195-6663. Dostupné na: doi: 10.1016/j.appet.2004.01.006
- McNeill S. H. 2014. Inclusion of red meat in healthful dietary patterns. In *Meat science*. vol. 98, no. 3, pp. 452-460, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2014.06.028
- McNeill, S., Van Elswyk, M. E. 2012. Red meat in global nutrition. In *Meat science*, vol. 92, no. 3, pp. 166-173, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2012.03.014
- Milford A.B., Le Mouél C., Bodirsky B.L. Rolinski S. 2019. Drivers of meat consumption. In *Appetite*. vol. 141, p. 104313, ISSN 0195-6663. Dostupné na: doi: 10.1016/j.appet.2019.06.005
- Ortiz, A., Díaz-Caro, C., Tejerina, D., Escribano, M., Crespo, E., Gaspar, P. 2021. Consumption of fresh Iberian pork: Two-stage cluster for the identification of segments of consumers according to their habits and lifestyles. In *Meat Science*. vol. 173, p. 108373, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108373
- Oyewumi, O. A., Jooste, A. 2006. Measuring the determinants of pork consumption in Bloemfontein, Central South Africa. In *Agrekon*. vol. 45, no. 1, pp. 185-197, ISSN 2078-0400. Dostupné na: doi: 10.1080/03031853.2006.9523742
- Papanagioutou, P., Tzimitra-Kalogianni, I., Melfou, K. 2013. Consumers' expected quality

- and intention to purchase high quality pork meat. In *Meat science*. vol. 93, no. 3, pp. 449-454, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2012.11.024
- Penkert, L. P., Li, R., Huang, J., Gurcan, A., Chung, M. C., Wallace, T. C. 2021. Pork Consumption and Its Relationship to Human Nutrition and Health: A Scoping Review. In *Meat and Muscle Biology*. vol. 5, no. 1, pp. 1-22, ISSN 2575-985X. Dostupné na: doi: 10.22175/mmb.12953
- Predanócyová, K., Pindešová, D., Kubicová, E. 2023. Consumer attitudes towards beef consumption and future perspectives. In *International Academic Journal*. vol. 4, no. 1, pp. 51-59, ISSN 2671-3748.
- Rahmati, S., Julkapli, N.M., Yehye, W.A., Basirun, W.J. 2016. Identification of meat origin in food products–A review. In *Food Control*. vol. 68, no. 1, pp. 379-390, ISSN 0956-7135. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodcont.2016.04.013
- Szűcs, I., Vida, V. 2017. Global tendencies in pork meat - production, trade and consumption. In *Applied Studies in Agribusiness and Commerce*. vol. 11, pp. 105-112, ISSN 1789-221X. Dostupné na: doi: 10.19041/APSTRACT/2017/3-4/15
- Tanjung, A. M., Daulay, A. H., Hanafi, N. D. 2021. Analysis of Consumer Behavior on Purchasing Meat Pork at Traditional Markets in Pematang Siantar City. In *Jurnal Peternakan Integratif*. vol. 9, no. 1, pp. 61-72, ISSN 2808-2753. Dostupné na: doi: 10.32734/jpi.v9i1.6702
- Van Vliet, S., Kronberg, S. L., Provenza, F. D. 2020. Plant-based meats, human health, and climate change. In *Frontiers in sustainable food systems*. vol. 4, p. 555088, ISSN 2571-581X. Dostupné na: doi: 10.3389/fsufs.2020.00128
- Verbeke, W., Pérez-Cueto, F. J. A., Grunert, K. G. 2011. To eat or not to eat pork, how frequently and how varied? insights from the quantitative Q-Porkchains Consumer Survey in four European countries. In *Meat Science*. vol. 88, no. 4, pp. 619-626, ISSN 0309-1740. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2011.02.016
- Wu, L., Gong, X., Qin, S., Chen, X., Zhu, D., Hu, W., Li, Q. 2017. Consumer preferences for pork attributes related to traceability, information certification, and origin labeling: Based on China's Jiangsu Province. In *Agribusiness*. vol. 33, no. 3, pp. 424-442, ISSN 1520-6297. Dostupné na: doi: 10.1002/agr.21509
- Wusheng Y., Jørgen D. J. 2022. Sustainability implications of rising global pork demand. In *Animal Frontiers*. vol. 12, no. 6, pp. 56-60, ISSN 2160-6064. Dostupné na: doi: 10.1093/af/vfac070



## Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Pinus sylvestris* v *in vitro* a *in situ* podmienkach

### Antimicrobial activity of *Pinus sylvestris* essential oil in *in vitro* and *in situ* conditions

Andrea VEREŠOVÁ, Miroslava KAČÁNIOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

Essential oils (EOs) are plant-based liquids that are naturally volatile, fragrant, and unique. EOs are a complex mixture of alcohol, phenolic chemicals, and terpenes, which are secondary metabolites. EOs have a variety of biological properties, such as anti-inflammatory, antibacterial, and antioxidant properties. Specifically, EOs have strong antimicrobial and food-preservative qualities that hold great promise for the food sector. The aim of this study was the antimicrobial potential of *Pinus sylvestris* essential oil against (PSEO) phytopathogenic bacteria and microscopic filamentous fungi. In our study, the disc diffusion method and minimum inhibitory concentration were evaluated in an *in vitro* study and vapor phase on apple, pear, potato and radish in an *in situ* study. *Xanthomonas arboricola* was the most sensitive of all microorganisms tested, while *Pinus sylvestris* essential oil showed intermediate inhibitory activity. The lowest MIC 50 (2.47 µg/ml) and MIC 90 (2.87 µg/ml) values were evaluated against *Pseudomonas syringae* and the highest values were found against *Monilia fructigena* MIC 50 (6.75 µg/ml) and MIC 90 (7.23 µg/ml). At the lowest concentration of essential oil (62.5 µl/l), *Botrytis cinerea* was the most strongly inhibited microorganism (85.43%) on apple model. At the lowest concentration of essential oil (62.5 µl/l), *Agrobacterium radiobacter* was the most strongly inhibited microorganism (87.68%) in the pear model. At the highest concentration of essential oil (500 µl/l), *Fusarium solani* was the most strongly inhibited microorganism (78.94%) on the potato model. At the highest concentration of essential oil (500 µl/l), *Pseudomonas syringae* was the most strongly inhibited microorganism (77.56%) on the radish model.

**Keywords:** phytopathogenic bacteria and fungi, *Pinus sylvestris*, antimicrobial activity, *in vitro*, *in situ*

#### ÚVOD

Aplikácia antibiotík je jedným zo spôsobov, ako kontrolovať patogénne baktérie a baktérie kaziace potraviny, ktoré môžu mať negatívny vplyv na človeka. Tieto antibiotiká však postupne zlyhávajú kvôli viacerým faktorom, medzi ktoré patrí zneužívanie a nadmerné užívanie antibiotík bez predpisu na samoliečbu, používanie podradných antibiotík, nekontrolovaná aplikácia antibiotík v chove zvierat a veterinárnej medicíne a klesajúca miera objavovania nových antibiotík (Economou a Gousia, 2015; Szul, 2024). Tieto faktory sú hlavnými silami, ktoré posilňujú vývoj rezistencie voči viacerým liekom medzi patogénmi, čo je v súčasnosti hlavnou globálnou výzvou v klinickom prostredí aj v komunite. Ako stratégia prežitia si tieto multirezistentné baktérie vyvinú rôzne mechanizmy rezistencie

na antibiotiká, a preto je liečba infekcií náročná a nákladná (Fokunang *et al.*, 2011). Ďalším dôsledkom hrozby globálnej antimikrobiálnej rezistencie je postupný prechod od ortodoxnej medicíny k bylinnej terapii (Gogoi *et al.*, 2020) v snahe hľadať nové zlúčeniny, ktoré môžu slúžiť ako lepšia alternatíva k antibiotikám.

Rastlinné silice (RS) sa vyznačujú nízkou úrovňou toxicity, nemajú vedľajšie účinky a chemická diverzita z hľadiska aktivity je vyššia v porovnaní so syntetickými chemikáliami (Munda *et al.*, 2019; Justino de Araújo *et al.*, 2020; Paw *et al.*, 2020), a preto sú vhodné na použitie ako liečivé zložky (Namshir *et al.*, 2020). RS majú tiež potenciál stať sa prirodzeným antioxidantom v potravinových systémoch, biologickou kontrolou škodcov skladovaných produktov a inhibítorom rastu mikroskopických vláknitých húb (Adjaoud *et al.*, 2020). Napriek ich terapeutickým aplikáciám sa uvádza, že používanie niektorých RS spôsobuje vedľajšie účinky, ako je otrava, dermatologická a neurologická toxicita (Vostinaru *et al.*, 2020).

*Pinus sylvestris* (borovica lesná) patrí do čelade Pinaceae, pochádza z Euroázie a vyskytuje sa väčšinou v severnej a východnej Európe. Rod *Pinus* je najbežnejšou ihličnatou rastlinou s asi 250 druhmi rozšírenými po celom svete (Aboaba *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2020). Strom je vysoký asi 25 až 40 m so vždyzelenými, voňavými modrozelenými ihličkovitými listami s veľkosťou asi 3 až 5 cm usporiadanými striedavo alebo špirálovito (Judzentiene *et al.*, 2007). *P. sylvestris* je najrozmanitejší zo všetkých druhov borovic na svete so širokým spektrom aplikácií (Judzentiene *et al.*, 2007). Strom je okrasná rastlina s environmentálnou hodnotou pri kontrole erózie a ako surovina v papierenskom priemysle (Bergström, 2003). RS z *P. sylvestris* má široké spektrum medicínskych aplikácií vďaka svojim antiparazitickým, antivírusovým, antialergickým, antispazmodickým, antihyperglykemickým, protizápalovým a expektoračným vlastnostiam (Silori *et al.*, 2019). Okrem toho je terpenová RS z *P. sylvestris* je užitočná vo farmaceutickom, chemickom, kozmetickom a voňavkárskom priemysle, dokonca aj ako potravinové prísada a konzervačná látka (Silori *et al.*, 2019).

Cieľom našej práce bolo zhodnotenie antimikrobiálnej aktivity rastlinnej silice *Pinus sylvestris* proti fytopatogénom v *in vitro* a *in situ* podmienkach.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Pinus sylvestris* (PSRS) bola zakúpená od firmy INEVITA (Bratislava, Slovensko). Rastlinná silica (RS) bola pripravená z ihličia. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Pinus sylvestris* (PSRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton

agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vlákňité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100  $\mu$ l sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10  $\mu$ l PSRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 25 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

#### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50  $\mu$ l inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa PSRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100  $\mu$ l suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbancia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

#### *In situ* analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy PSRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli hrušky, jablka, zemiaka a redkvyky. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jablká, hrušky, zemiaky a redkvyky na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. PSRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5  $\mu$ l/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)  $BGI = [(C - T)/C] \times 100$ , kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

#### Štatistické vyhodnotenie

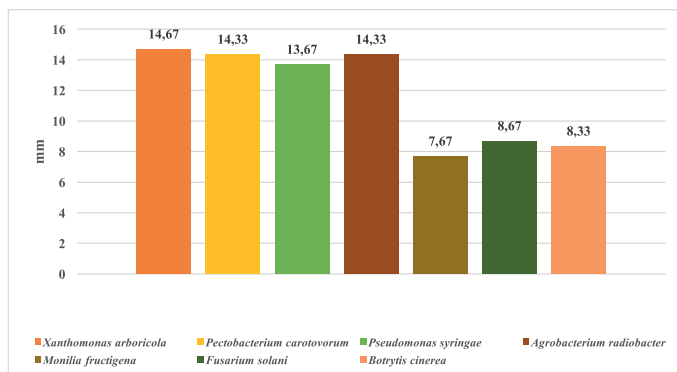
Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

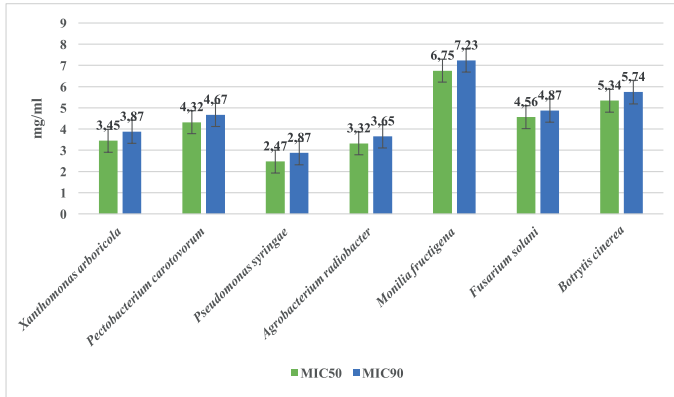
Borovica je vďaka svojmu neustálemu využívaniu v aromaterapii jednou z najpopulárnejších rastlín v celej civilizácii. Borovicová silica je vysoko koncentrovaný v ihličkách, vetvičkách a púčikoch, ktoré sa dajú ľahko získať (Kelkar *et al.*, 2006). Borovicové silice sú prchavé zložky (zložitá zmes polárnych a nepolárnych zlúčenín) získavané z ihličia borovice. Zloženie silice závisí od druhu (alebo rodu) extrahovanej rastliny, geografickej polohy tejto rastliny, stupňa znečistenia ihličia, času zberu a techník extrakcie (Morsy, 2017; Kurti *et al.*, 2019).

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *P. sylvestris* (PSRS) bola uskutočnená diskovou difúznou metódou a výsledky sú uvedené na obrázku 1 a minimálnou inhibičnou koncentráciou a výsledky sú uvedené na obrázku 2. Najsilnejšia antimikrobiálna aktivita PSRS bolo zistená proti fytopatogénnej baktérii *Xanthomonas arboricola* (14,67 mm) a najnižšia bolo zistená proti MVH *Monilia fructigena* (7,67 mm). MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií. Najnižšie hodnoty MIC 50 (2,47 mg/ml) a MIC 90 (2,87 mg/ml) boli zaznamenané u baktérii *Pseudomonas syringae* a najvyššie hodnoty boli zistené u *Monilia fructigena* MIC 50 (6,75 mg/ml) a MIC 90 (7,23 mg/ml).

Citlivosť komerčnej borovicovej RS proti *Escherichia coli* diskovým difúznym testom ukázala významnú inhibíciu rastu *E. coli* (Markowska-Szczupak *et al.*, 2022), aj keď sa borovicová RS použila vo vysokých koncentráciách (100 % a 50 %) podobne ako v našej štúdií. Toto zistenie je v súlade s inými výskumnými štúdiami na tému (Apetrei *et al.*, 2013). Okolo diskov nasiaknutých borovicovou RS v koncentracii od 6,25 do 25 % a 0,85 % NaCl pufru (kontrola) neboli žiadne zóny inhibície rastu. V inej práci bolo zistené, že rôzne RS ovplyvňujú rast patogénnych baktérií (Apatrei *et al.*, 2013). V inej štúdií sa dokonca nepotvrdila žiadna aktivita proti baktériám (Friedman *et al.*, 2002).

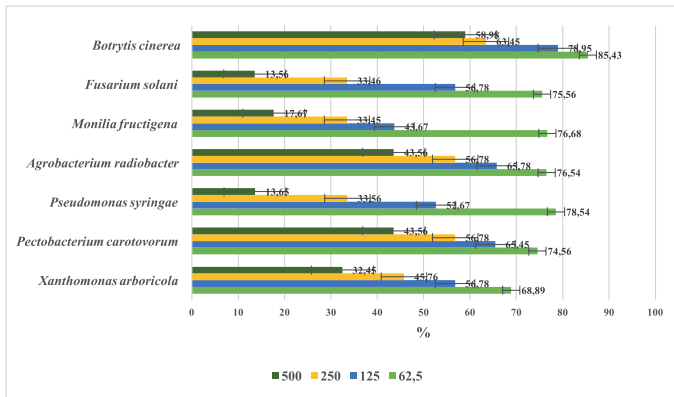


Obrázok 1. Antimikrobiálna aktivita PSRS diskovou difúznou metódou v mm



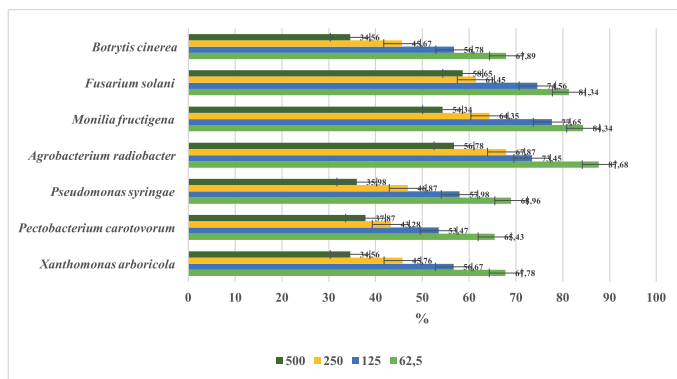
Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia PSRS v mg/ml

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím jablka ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PSRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *Botrytis cinerea* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (85,43 %) na jablku. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *X. arboricola*.



Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jablko v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím hrušky ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PSRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *Agrobacterium radiobacter* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (87,68 %) na hruške. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Pectobacterium carotovorum*.



**Obrázok 4.** Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli hrušky v %

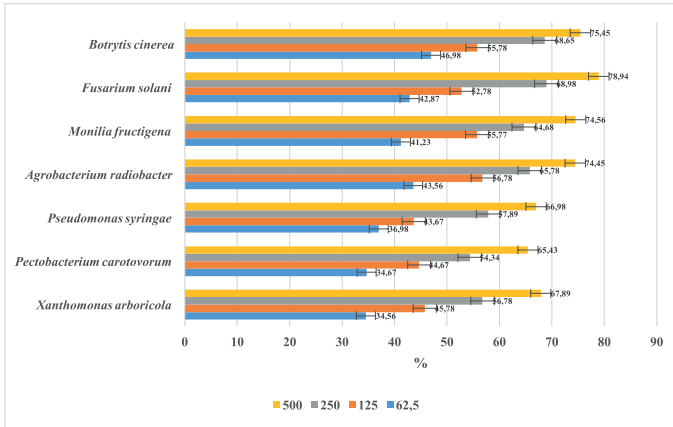
Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím zemiaka ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PSRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najvyššej koncentrácii silice (500 µl/l) bol *Fusarium solani* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (78,94 %) na zemiaku. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. carotovorum*.

Aplikácia RS ako potravinárskych prísad je v poslednom čase rastúcim záujmom kvôli ich vysokým antimikrobiálnym a antioxidačným aktivitám (Calo *et al.*, 2015). Každá z RS má inú biologickú aktivitu, fyzikálno-chemické vlastnosti a vôňu. Preto je dôležité vybrať tú najvhodnejšiu alebo kombináciu pre každú konkrétnu aplikáciu (Chen *et al.*, 2021). RS sú charakterizované ako vysoko prospešné rastlinné extrakty používané v kozmetickom a potravinárskom priemysle, špeciálne ako antimikrobiálna zlúčenina. Keď je RS začlenená do cyklodextrínových nanočastíc, môže to viesť k antimikrobiálnemu baleniu potravín (Simionato *et al.*, 2019). Rôzni výskumníci dokázali, že RS majú silnú antimikrobiálnu aktivitu voči potravinovým patogénom a táto účinná vlastnosť bola optimalizovaná potravinárskym priemyslom tak, aby sa používal ako účinná konzervačná látka alebo aby sa aplikoval do obalov (Nazari *et al.*, 2019; Simionato *et al.*, 2019). RS a ich zlúčeniny vykazujú potravinové konzervačné a antimikrobiálne vlastnosti proti rôznym patogénom v potravinových materiáloch, ako je zelenina, mäsové výrobky, ryby, ryža, ovocie a mliečne výrobky (Pandey *et al.*, 2017; Kamle *et al.*, 2019).

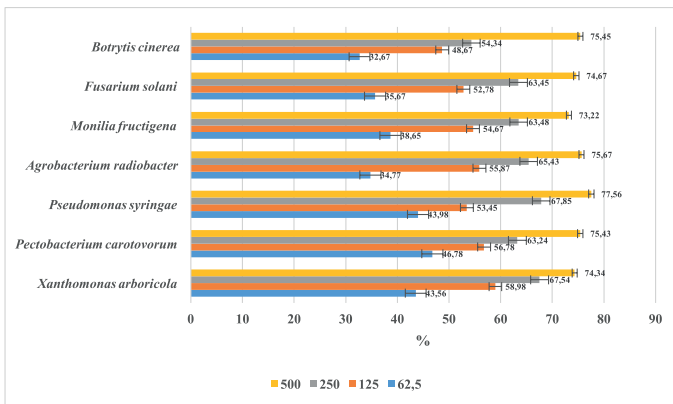
Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím redkovky ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PSRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najvyššej koncentrácii silice (500 µl/l) bol *P. syringae* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (77,56 %) na redkovke. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *M. fructigena*.

## ZÁVER

Cieľom našej práce bolo sledovanie antimikrobiálnej aktivity borovicovej rastlinnej silice proti fytopatogénnym mikroorganizmom. Borovicová RS preukázala antimikrobiálny účinok proti baktériám aj mikroskopickým vláknitým hubám. Použitím borovicovej rast-



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli zemiaku v %



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli redkovky v %

linnej silice na modeloch jablka, hrušky, zemiaku a redkovky sme zaznamenali podobný antimikrobiálny účinok proti baktériám a mikroskopickým hubám. Z tohto dôvodu môžeme borovicovú rastlinnú silicu považovať za prostriedok s dobrým antimikrobiálnym účinkom a rovnako môže byť použitá ako konzervant na zeleninu a ovocie.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

**Kontaktná adresa:**

prof. Ing. Miroslava Kacániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

**LITERATÚRA**

- Aboaba, S., Akande, A., Flamini, G. 2014. Chemical Composition, Toxicity and Antibacterial activity of the Essential Oils of *Garcinia mangostana* from Nigeria. In *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 17, no. 1, pp. 78–86. ISSN 0972-060X, Dostupné na: doi: org/10.1080/0972060x.2014.884759
- Adjaoud, A., Laouer, H., Braca, A., Cioni, P., Moussi, K., Berboucha-Rahmani, M., Abbaci, H., Falconieri, D. 2020. Chemical composition, antioxidant and insecticidal activities of a new essential oil chemotype of *Pinus nigra* ssp. *mauritanica* (Pinaceae), Northern Algeria. In *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, vol. 156, no. 2, pp. 358–369. ISSN 1126-3504, Dostupné na: doi: org/10.1080/11263504.2020.1857871
- Apetrei, L., Spac, A., Brebu, M., Tuchilus, C., Miron, A. 2013. Composition, antioxidant and antimicrobial activity of the essential oils of a full-grown tree of *Pinus cembra* L. from the Calimani mountains (Romania). In *Journal of the Serbian Chemical Society*, vol. 78, no. 1, pp. 27–37. ISSN 0352-5139, Dostupné na: doi: org/10.2298/jsc120409075a
- Bergstrom, B. 2003. Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris*. In *Forestry*, vol. 76, no. 1, pp. 45–53. ISSN 1999-4907, Dostupné na: doi: org/10.1093/forestry/76.1.45
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. In *Food Control*, vol. 54, pp. 111–119. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040
- Chen, W., Ma, S., Wang, Q., McClements, D. J., Liu, X., Ngai, T., Liu, F. 2021. Fortification of edible films with bioactive agents: a review of their formation, properties, and application in food preservation. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 62, no. 18, pp. 5029–5055. ISSN 1040-8398, Dostupné na: doi: org/10.1080/10408398.2021.1881435
- Economou, V., Gousia, P. 2015. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. In *Infection and Drug Resistance*, vol. 8, pp. 49-61. ISSN 1178-6973. Dostupné na: doi: org/10.2147/idr.s55778
- Fokunang, C., Ndikum, V., Tabi, O., Jiofack, R., Ngameni, B., Guedje, N., Tembe-Fokunang, E., Tomkins, P., Barkwan, S., Kechia, F., Asongalem, E., Ngoupayou, J., Torimiro, N., Gonsu, K., Sielinou, V., Ngadjui, B., Angwafor, I., Nkongmeneck, A., Abena, O., Lohoue, J. 2011. Traditional Medicine: Past, present and future research and development prospects and integration in the National Health System of Cameroon. In *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, vol. 8, no. 3., pp. 284-295. ISSN 0189-6016, Dostupné na: doi: org/10.4314/ajtcam.v8i3.65276
- Friedman, M., Henika, P. R., Mandrell, R. E. 2002. Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of Their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. In *Journal of Food*



- Protection*, vol. 65, no. 10, pp. 1545–1560. ISSN 0362-028X, Dostupné na: doi: org/10.4315/0362-028x-65.10.1545
- Gogoi, R., Loying, R., Sarma, N., Begum, T., Pandey, S. K., Lal, M. 2020. Comparative Analysis of *In-Vitro* Biological Activities of Methyl Eugenol Rich *Cymbopogon khasianus* Hack., Leaf Essential Oil with Pure Methyl Eugenol Compound. In *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 21, no. 10, pp. 927–938. Dostupné na: doi: org/10.2174/1389201021666200217113921
- Judzentiene, A., Stikliene, A., Kupcinskiene, E. 2007. Changes in the Essential Oil Composition in the Needles of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) Under Anthropogenic Stress. In *The Scientific World Journal*, vol. 7, pp. 141–150. ISSN 1537-744X, Dostupné na: doi: org/10.1100/tsw.2007.36
- Justino de Araújo, A. C., Freitas, P. R., Rodrigues dos Santos Barbosa, C., Muniz, D. F., Rocha, J. E., Albuquerque da Silva, A. C., Datiane de Moraes Oliveira-Tintino, C., Ribeiro-Filho, J., Everson da Silva, L., Confortin, C., Amaral, W. do, Deschamps, C., Barbosa-Filho, J. M., Ramos de Lima, N. T., Tintino, S. R., Melo Coutinho, H. D. 2020. GC-MS-FID characterization and antibacterial activity of the *Mikania cordifolia* essential oil and limonene against MDR strains. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 136, pp. 111023. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2019.111023
- Kamle, M., Mahato, D. K., Lee, K. E., Bajpai, V. K., Gajurel, P. R., Gu, K. S., Kumar, P. 2019. Ethnopharmacological Properties and Medicinal Uses of *Litsea cubeba*. In *Plants*, vol. 8, no. 6, pp. 150. ISSN 2223-7747, Dostupné na: doi.org/10.3390/plants8060150
- Kelkar, V. M., Geils, B. W., Becker, D. R., Overby, S. T., Neary, D. G. 2006. How to recover more value from small pine trees: Essential oils and resins. In *Biomass and Bioenergy*, vol. 30, no. 4, pp. 316–320. Dostupné na: ISSN 0961-9534, doi: org/10.1016/j.biombioe.2005.07.009
- Kurti, F., Giorgi, A., Beretta, G., Mustafa, B., Gelmini, F., Testa, C., Angioletti, S., Giupponi, L., Zilio, E., Pentimalli, D., Hajdari, A. 2019. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of different *Pinus* species from Kosovo. In *Journal of Essential Oil Research*, vol. 31, no. 4, pp. 263–275. ISSN 1041-2905, Dostupné na: doi: org/10.1080/10412905.2019.1584591
- Markowska-Szczupak, A., Wesołowska, A., Borowski, T., Sołducha, D., Paszkiewicz, O., Kordas, M., Rakoczy, R. 2022. Effect of pine essential oil and rotating magnetic field on antimicrobial performance. In *Scientific Reports*, vol. 12, no. 1. ISSN 2045-2322, Dostupná na: doi: org/10.1038/s41598-022-13908-5
- Morsy, N. F. S. 2017. Chemical Structure, Quality Indices and Bioactivity of Essential Oil Constituents. Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants. Dostupné na: doi: org/10.5772/66231
- Munda, S., Dutta, S., Pandey, S. K., Sarma, N., Lal, M. 2019. Antimicrobial Activity of Essential Oils of Medicinal and Aromatic Plants of the North East India: A Biodiversity Hot Spot. In *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 22, no. 1, 105–119. ISSN 0972-060X, Dostupné na: doi: org/10.1080/0972060x.2019.1601032
- Namshir, J., Shatar, A., Khandaa, O., Tserennadmid, R., Shiretorova, V. G., Nguyen, M. C. 2020. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity on human breast cancer cells of essential oil from *Pinus sylvestris* var. *mongolica* needle. In *Mongolian Journal of Chemistry*, vol. 21, no. 47, pp. 19–26. ISSN 2226-6739, Dostupné na: doi: org/10.5564/mjc.v21i47.1428

- Nazari, M., Ghanbarzadeh, B., Samadi Kafil, H., Zeinali, M., Hamishehkar, H. 2019. Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. In *Colloid and Interface Science Communications*, vol. 30, pp. 100176. ISSN 2215-0382, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.colcom.2019.100176](https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100176)
- Pandey, A. K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N. N., Bajpai, V. K. 2017. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. In *Frontiers in Microbiology*, vol. 7. ISSN 1664-302X, Dostupné na: doi: [org/10.3389/fmicb.2016.02161](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02161)
- Paw, M., Gogoi, R., Sarma, N., Pandey, S. K., Borah, A., Begum, T., Lal, M. 2020. Study of Antioxidant, Anti-inflammatory, Genotoxicity, and Antimicrobial Activities and Analysis of Different Constituents found in Rhizome Essential Oil of *Curcuma caesia* Roxb., Collected from North East India. In *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 21, no. 5, pp. 403–413. ISSN 1871-5230, Dostupné na: doi: [org/10.2174/1389201020666191118121609](https://doi.org/10.2174/1389201020666191118121609)
- Sharma, A., Sharma, L., Goyal, R. 2020. GC/MS Characterization, in-vitro Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Pinus Plant Species from Himachal Pradesh, India. In *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 23, no. 3, pp. 522–531. ISSN 0972-060X, Dostupné na: doi: [org/10.1080/0972060x.2020.1803147](https://doi.org/10.1080/0972060x.2020.1803147)
- Silori, G. K., Kushwaha, N., Kumar, V. 2019. Essential Oils from Pines: Chemistry and Applications. In *Essential Oil Research*, pp. 275–297. ISBN: 978-3-030-16545-1, Dostupné na: doi: [org/10.1007/978-3-030-16546-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_10)
- Simionato, I., Domingues, F. C., Nerín, C., Silva, F. 2019. Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanospheres and their potential use for antimicrobial food packaging. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 132, pp. 110647. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.fct.2019.110647](https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110647)
- Szul, M. 2024. Causes Behind the Global Crisis of Increasing Antibiotic Resistance and Strategies to stop this. Dostupné na: doi: [org/10.58445/rars.1194](https://doi.org/10.58445/rars.1194)
- Vek, V., Poljanšek, I., Humar, M., Willför, S., Oven, P. 2020. *In vitro* inhibition of extractives from knotwood of Scots pine (*Pinus sylvestris*) and black pine (*Pinus nigra*) on growth of *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Gloeophyllum trabeum* and *Fibroporia vaillantii*. In *Wood Science and Technology*, vol. 54, no. 6, pp. 1645–1662. ISSN 0043-7719, Dostupné na: doi: [org/10.1007/s00226-020-01229-7](https://doi.org/10.1007/s00226-020-01229-7)
- Vostinaru, O., Codruta Heghes, S., Filip, L. 2020. Safety Profile of Essential Oils. Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications. ISBN: 978-1-83962-698-2, 222 p. Dostupné na: doi: [org/10.5772/intechopen.91363](https://doi.org/10.5772/intechopen.91363)

## Antimikrobiálna aktivita levanduľovej rastlinnej silice proti rastlinným patogénom

### Antimicrobial activity of lavender essential oil against plant pathogens

Andrea VEREŠOVÁ, Miroslava KAČÁNIOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

The aim of this study was the antimicrobial potential of *Lavandula angustifolia* essential oil against (LAEO) phytopathogenic bacteria and microscopic filamentous fungi. In our study, the disc diffusion method and minimum inhibitory concentration were evaluated in an *in vitro* study and vapor phase on kiwifruit, strawberry, beet, and zucchini in an *in situ* study. *Pseudomonas syringae* was the most sensitive of all microorganisms tested, while LAEO showed strong inhibitory activity. The lowest MIC 50 (3.24 µg/ml) and MIC 90 (3.56 µg/ml) values were evaluated against *P. syringae*, and the highest values were found against *Monilia fructigena* MIC 50 (5.76 µg/ml) and MIC 90 (5.98 µg/ml). At the highest concentration of essential oil (500 µl/l), *Botrytis cinerea* was the most strongly inhibited microorganism on the kiwifruit model. At the lowest concentration of essential oil (62.5 µl/l), *Fusarium solani* was the most strongly inhibited microorganism in the strawberry model. At the lowest concentration of essential oil (62.5 µl/l), *P. syringae* was the most strongly inhibited microorganism on the beets model and *M. fructigena* was the most strongly inhibited microorganism on the zucchini model.

**Keywords:** plant pathogenic bacteria and fungi, lavender, antimicrobial activity, vegetable, fruits

#### ÚVOD

Syntetické antimikrobiálne látky a antibiotiká sa už dlho používajú proti rôznym infekčným ochoreniam u ľudí aj zvierat. Hlavnou nevýhodou antimikrobiálnej chemoterapie je rastúca antimikrobiálna rezistencia, ktorá znižuje účinnosť liečby (Schelz *et al.*, 2006). Nedávne štúdie preto kládli dôraz na používanie alternatívnych prírodných produktov, najmä tých, ktoré sa získavajú z rastlín (Prabuseenivasan *et al.*, 2006; O'Bryan *et al.*, 2015). Rastliny a rastlinné extrakty sa ako tradičné lieky používajú už mnoho storočí. Prchavé zlúčeniny rastlinných extraktov, najmä rastlinné silice (RS), sú známe ako sekundárne rastlinné metabolity, ktoré sa využívali predovšetkým v aromaterapii, kozmetike a medicíne (Cavanagh a Wilkinson, 2005). Zistilo sa, že rôzne RS rôznych rastlín, ako je tymián, oregano, mäta, škoricca, rasca, šalvia, klinček a eukalyptus, majú silné antimikrobiálne vlastnosti (Sienkiewicz *et al.*, 2014). RS z levandule je známa ako jedna z najpopulárnejších RS, ktorú možno extrahovať z niekoľkých druhov levandule. Existujú štyri hlavné druhy levandule, a to; *Lavandula latifolia*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula stoechas* a *Lavandula × intermedia* (sterilný kríženc *L. latifolia* a *L. angustifolia*) (Cavanagh a Wilkinson, 2002). Medzi nimi je *Lavandula angustifolia* najrozsiahlšie pestovaným druhom, ktorý je bežne uznávaný ako komerčná levanduľa. Levanduľová RS sa primárne

skladá z monoterpenoidov a seskviterpenoidov, kde linalool a linalylacetát sú dominantné. Lavandulyacetát, terpinén-4-ol a lavandulol sú zložky strednej úrovne, zatiaľ čo gáfor a 1,8-cineol sú obsiahnuté v nízkom až strednom zložení (Kizilay a Şarer, 2022). V aromaterapii sa používa samotná RS a dve hlavné zložky RS, linalool a linalylacetát. Linalool a linalylacetát boli detegované ako silné antimikrobiálne látky proti baktériám prenášaným potravinami, ako sú *Escherichia coli* a *Enterobacter cloacae* (Soković *et al.*, 2010). Niektoré ďalšie zlúčeniny ako limonén,  $\alpha$ -pinén a  $\beta$ -pinén majú antibakteriálnu aktivitu proti rôznym ľudským a rastlinným patogénnym mikroorganizmom (Inouye *et al.*, 2001). Zistilo sa, že levandulová RS má *in vitro* účinok proti meticilín-rezistentnému *Staphylococcus aureus* a vankomycínu-rezistentnému *Enterococcus faecium* (Nelson, 1997).

Cieľom našej práce bolo zhodnotenie antimikrobiálnej aktivity rastlinnej silice *Lavandula angustifolia* proti rastlinným patogénom v *in vitro* a *in situ* podmienkach.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Lavandula angustifolia* (LARS) bola zakúpená od firmy Hanus (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica (RS) bola vyrobená destiláciou čerstvých kvetov a stoniek vodnou parou. Krajina pôvodu rastlinnej silice bolo Bulharsko. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavnými zložkami silice boli linalylacetát 20% až 40%, lavandulyacetát 1,5% do 6%, linalol 18% až 40%, gáfor do 0,5%, 1,8-cineol do 1,5%.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Lavandula angustifolia* (LARS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100  $\mu$ l sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10  $\mu$ l LARS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 25 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB,

Oxid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa LARS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbancia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### *In situ* analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy LARS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli kivi, jahody, cvikle a cukety. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané kivi, jahody, cvikle a cukety na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. LARS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)

$$BGI = [(C - T)/C] \times 100,$$

kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

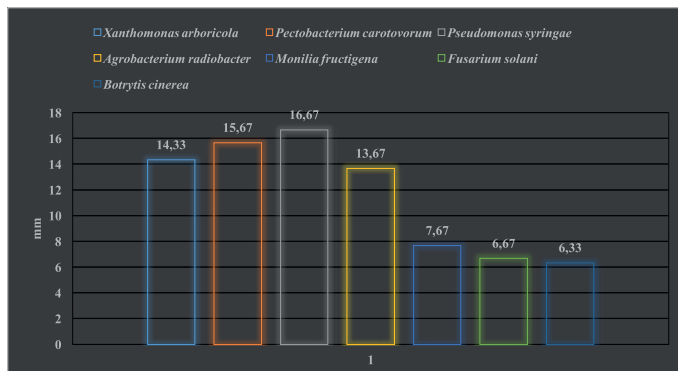
## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Lavandula angustifolia* (LARS) bola usku-točnená diskovou difúznou metódou a výsledky sú uvedené na obrázku 1 a minimálnou inhibičnou koncentráciou a výsledky sú uvedené na obrázku 2. Najsilnejšia antimikrobiálna aktivita LARS bolo zistená proti fytopatogénnej baktérii *Pseudomonas syringae* (16,67 mm) a najnižšia bolo zistená proti MVH *Botrytis cinerea* (6,33 mm).

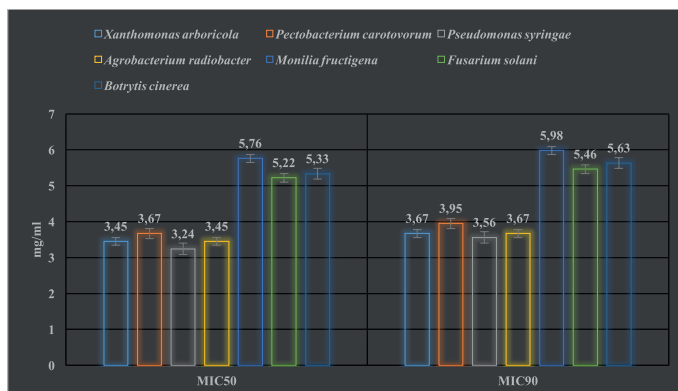
MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií. Najnižšie hodnoty MIC 50 (3,24 mg/ml) a MIC 90 (3,56 mg/ml) boli zaznamenané u baktérii *Pseudomonas syringae* a najvyššie hodnoty boli zistené u *Monilia fructigena* MIC 50 (5,76 mg/ml) a MIC 90 (5,98 mg/ml).

Antimikrobiálna aktivita RS, ktoré sme analyzovali, je porovnateľná s údajmi uvedenými v predchádzajúcich štúdiách (Soković *et al.*, 2007; Blazekovic *et al.*, 2011). Okrem toho sa preukázalo, že eukalyptol, jedna z primárnych zložiek LARS, vykazuje antimik-

robiálnu aktivitu proti baktériám, ako je *Staphylococcus aureus*, metilín-rezistentný *S. aureus*, *E. coli* a *Candida albicans* (Hendry *et al.*, 2009). Podobné výsledky boli zaznamenané v iných štúdiách spolu s aditívnymi a antagonistickými účinkami (Gill *et al.*, 2002; Mourey a Canillac, 2002). RS predstavujú komplexné zmesi chemických zlúčenín s rôznymi antimikrobiálnymi vlastnosťami a z týchto dôvodov je veľmi ťažké zredukovať ich antimikrobiálny účinok na jednu alebo niekoľko účinných látok (Bouzouita *et al.*, 2005).

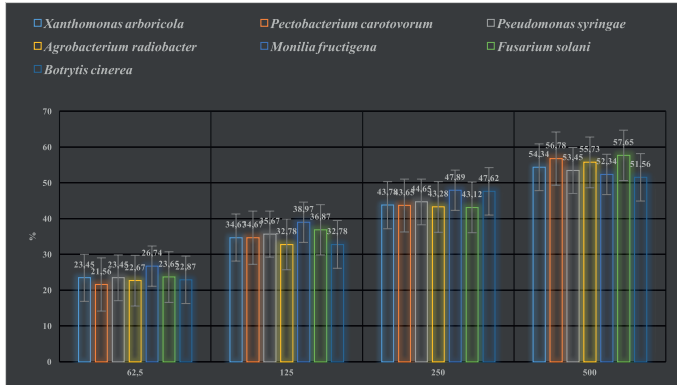


Obrázok 1. Antimikrobiálna aktivita LARS diskovou difúznou metódou v mm



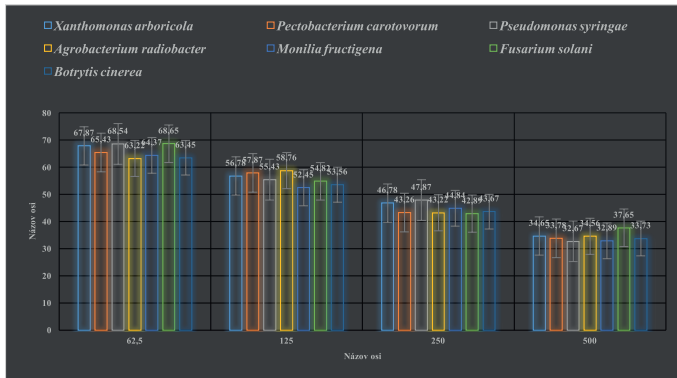
Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia LARS v mg/ml

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím kivi ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi LARS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii silice (500  $\mu$ l/l) bol *Fusarium solani* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (57,65 %) na kivi. Najsilšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Botrytis cinerea*.



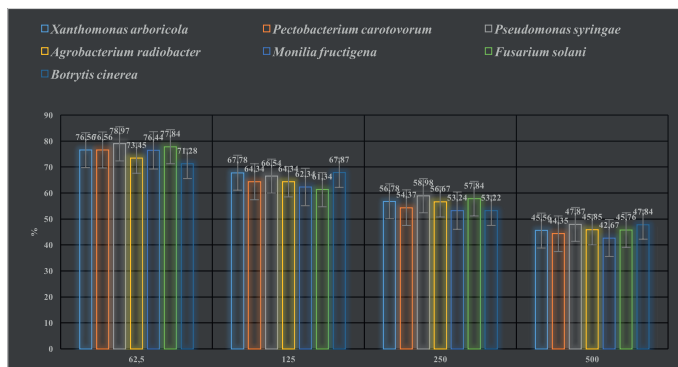
Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli kivi v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím jahody ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi LARS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *F. solani* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (68,65 %) na jahode. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Agrobacterium radiobacter*.



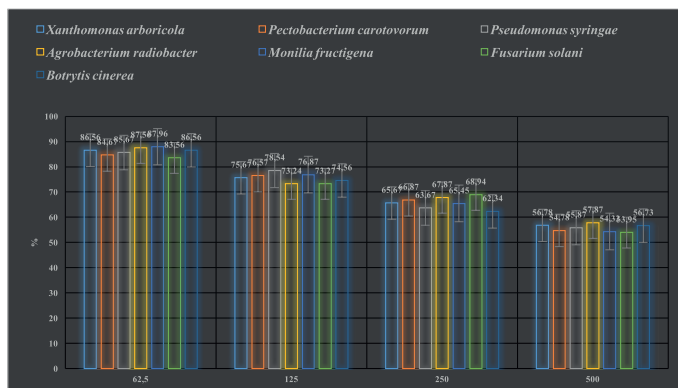
Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jahoda v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím cvikle ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi LARS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *Pseudomonas syringae* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (78,97 %) na cvikli. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *B. cinerea*.



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli cvikla v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím cukety ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi LARS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najvyššej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *Monilia fructigena* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (87,96 %) na cukete. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *F. solani*.



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli cuketa v %

Levanduľová RS sa používa na predĺženie kvality a trvanlivosti chleba (Vasileva *et al.*, 2018), ako aj v obaloch na skladovanie jahôd (Sangsuwan *et al.*, 2016). Levandula je obľúbená surovina, z ktorej sa získavajú kvalitné a široko používané aromatické produkty. RS je možné získať z rôznych druhov levandule, no najkvalitnejší je z levandule úzkolistej (*Lavandula angustifolia* Mill.). Má vysoký obsah linalylacetátu a linaloolu (Hossain *et al.*, 2017). Okrem antimikrobiálnej aktivity má LARS aj sedatívne, karminatívne, antidepresívne a protizápalové účinky (Cavanagh a Wilkinson, 2005). Zistilo sa tiež, že LARS môže zvýšiť antimikrobiálnu aktivitu iných zlúčenín a tak sa môžu vyvinúť nové prostriedky



ky na boj proti antibiotickej rezistencii (Todorova *et al.*, 2022). Bola preukázaná synergia s antibiotikami a antiseptikami. LARS zvyšuje aktivitu antiseptických látok, ako je oktenidín dihydrochlorid, proti meticilín-rezistentným kmeňom *S. aureus* (Kwiatkowski *et al.*, 2019). Rovnaký účinok bol preukázaný aj pri kombinácii LARS so štyrmi antimikrobiálnymi látkami (nystatín, chloramfenikol, ciprofloxacín a kyselina fusidová) (de Rapper *et al.*, 2016). LARS inhibuje rast kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 a *Candida albicans* ATCC 10231 a kmeňov húb *Aspergillus brasiliensis* ATCC16404 a *Fusarium moniliforme*. Antifungálna aktivita je silnejšia proti *Aspergillus brasiliensis* ATCC16404 a je o niečo slabšia proti *Fusarium moniliforme*. Proti testovaným kmeňom baktérií a húb bola pozorovaná odlišná aktivita silice. Tento rozdiel je spôsobený pôvodom a zložením LARS, v ktorom prevládajú okysličené terpenové zlúčeniny. V LARS, s ktorým sa uskutočňovali pokusy, prevláda linalylacetát, ktorý zosilňuje protiplesňový účinok. Z literatúry je zrejmé, že silice obsahujúce menej linalylacetátu a viac linaloolu majú lepšiu antibakteriálnu aktivitu. Prevládajúce terpenové zlúčeniny v zložení LARS určujú jeho antimikrobiálnu aktivitu. Pri rôznom pôvode silíc sa pozorujú rozdiely v obsahu jednotlivých zložiek (Kwiatkowski *et al.*, 2019). Preto môže mať LARS rôzne účinky na bakteriálne a hubové kmene. Stoyanova *et al.* (2019, 2022) zistili, že bulharské levandulové silice majú antimikrobiálny účinok na grampozitívne baktérie. V iných štúdiách (Todorova *et al.*, 2022) LARS z južného Rumunska vykazovala silnejšiu antimikrobiálnu aktivitu proti gramnegatívnym baktériám *E. coli*. LARS z Čiernej Hory tiež vykazuje antibakteriálnu aktivitu (Petrovic *et al.* 2019).

## ZÁVER

Napriek technologickému vývoju vo výrobe potravín zostáva bezpečnosť potravín problémom verejného zdravia, ktorý vyvoláva veľké obavy. Na zvýšenie bezpečnosti potravinárskych výrobkov a zvýšenie trvanlivosti tých, ktoré sa ľahšie kazia, sú preto potrebné nové metodiky. Niektoré rastlinné produkty vrátane rastlinných silíc majú antimikrobiálne vlastnosti proti širokému spektru potravinových a rastlinných patogénov. RS by sa mohli použiť aj ako prírodný zdroj konzervačných látok, a ako prísady do aktívnych obalov potravín. Ich úloha pri udržiavaní pozberovej kvality a konzervácii rôznych potravín bolo potvrdené našimi štúdiami *in vitro* a *in situ*.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačaniová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

Blazekovic, B., Stanic, G., Pepeljnjak, S., Vladimir-Knezevic, S. 2011. *In Vitro* Antibacterial and Antifungal Activity of *Lavandula* × *intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrov-

- ka. In *Molecules*, vol. 16, no. 5, pp. 4241–4253. ISSN 1420-3049, Dostupné na: doi: org/10.3390/molecules16054241
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., Zgoulli, S., Thonart, P., Carlier, A., Marlier, M., Lognay, G. C. 2005. Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of *Lavandula stoechas* L. Oil from Tunisia. In *Journal of Essential Oil Research*, vol. 17, no. 5, pp. 584–586. ISSN 1041-2905, Dostupné na: doi\_ org/10.1080/10412905.2005.9699003
- Cavanagh, H. M. A., Wilkinson, J. M. 2002. Biological activities of Lavender essential oil. In *Phytotherapy Research*, vol. 16, no. 4, pp. 301-308. ISSN 1099-1573, Dostupné na: doi: org/10.1002/ptr.1103
- Cavanagh, H. M. A., Wilkinson, J. M. 2005. Lavender essential oil: a review. In *Australian Infection Control*, vol. 10, no. 1, pp. 35–37. ISSN 1329-9360, Dostupné na: doi: org/10.1071/hi05035
- de Rapper, S., Viljoen, A., van Vuuren, S. 2016. The *In Vitro* Antimicrobial Effects of *Lavandula angustifolia* Essential Oil in Combination with Conventional Antimicrobial Agents. In *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2016, no. 1–9. ISSN 1741-427X, Dostupné na: doi: org/10.1155/2016/2752739
- Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., Holley, R. A. 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 73, no.1, pp. 83-92. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00712-7
- Hendry, E. R., Worthington, T., Conway, B. R., Lambert, P. A. 2009. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 64, no. 6, pp. 1219–1225. ISSN 0305-7453, Dostupné na: doi: org/10.1093/jac/dkp362
- Hossain, S., Heo, H., De Silva, B. C. J., Wimalasena, S. H. M. P., Pathirana, H. N. K. S., Heo, G.-J. 2017. Antibacterial activity of essential oil from lavender (*Lavandula angustifolia*) against pet turtle-borne pathogenic bacteria. In *Laboratory Animal Research*, vol. 33, no. 3, pp. 195. ISSN 1738-6055, Dostupné na: doi: org/10.5625/lar.2017.33.3.195
- Inouye, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H. 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 47, no. 5, pp. 565–573. ISSN 0305-7453, Dostupné na: doi: org/10.1093/jac/47.5.565
- Kizilay, H., Şarer, E. 2022. *Lavandula angustifolia* miller uçucu yağı üzerinde farmakognozik araştırmalar. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, vol. 10, no. 2, pp. 554–562. ISSN 2147-7892, Dostupné na: doi: org/10.33715/inonu-saglik.1094835
- Kwiatkowski, P., Łopusiewicz, Ł., Kostek, M., Drożdżowska, E., Pruss, A., Wojciuk, B., Sienkiewicz, M., Zielińska-Bliźniewska, H., Dołęgowska, B. 2019. The Antibacterial Activity of Lavender Essential Oil Alone and In Combination with Octenidine Dihydrochloride against MRSA Strains. In *Molecules*, vol. 25, no. 1, pp. 95. ISSN 1420-3049, https://doi.org/10.3390/molecules25010095
- Mourey, A., Canillac, N. 2002. Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. In *Food Control*, vol. 13, no. 4-5, pp. 289–292. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0956-7135(02)00026-9

- Nelson, R. 1997. *In-vitro* activities of five plant essential oils against methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 40, no. 2, pp. 305–306. ISSN 0305-7453, Dostupné na: doi.org/10.1093/jac/40.2.305
- O'Bryan, C. A., Pendleton, S. J., Crandall, P. G., Ricke, S. C. 2015. Potential of Plant Essential Oils and Their Components in Animal Agriculture – *in vitro* Studies on Antibacterial Mode of Action. In *Frontiers in Veterinary Science*, vol. 2. ISSN 2297-1769, Dostupné na: doi: org/10.3389/fvets.2015.00035
- Perovic S, Pantovic S, Scepanovic V, Perovic A, Zivkovic V, Zivkovic V, *et al.* 2019. Evaluation of antimicrobial activity and activity on the autonomic nervous system of the lavender essential oils from Montenegro. *Progr Nutr* vol. 21, no. 3, pp.584-90. ISSN 1129-8723, Dostupné na: <https://www.mattioli1885journals.com/index.php/progressinnutrition/article/view/8385>
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. In *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 6, no. 1. ISSN 1472-6882, Dostupné na: doi: org/10.1186/1472-6882-6-39
- Sangsuwan, J., Pongsapakworawat, T., Bangmo, P., Sutthasupa, S. 2016. Effect of chitosan beads incorporated with lavender or red thyme essential oils in inhibiting *Botrytis cinerea* and their application in strawberry packaging system. In *LWT*, vol. 74, pp. 14–20. ISSN 0023-6438, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.lwt.2016.07.021
- Schelz, Z., Molnar, J., Hohmann, J. 2006. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. In *Fitoterapia*, vol. 77, no. 4, pp. 279–285. ISSN 0367-326X, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.03.013>
- Sienkiewicz, M., Głowacka, A., Kowalczyk, E., Wiktorowska-Owczarek, A., Jóźwiak-Bębenista, M., Łysakowska, M. 2014. The Biological Activities of Cinnamon, Geranium and Lavender Essential Oils. In *Molecules*, vol. 19, no. 12, pp. 20929–20940. ISSN 1420-3049, Dostupné na: doi: org/10.3390/molecules191220929
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., Griensven, L. J. L. D. 2010. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In Vitro* Model. In *Molecules*, vol. 15, no. 11, pp. 7532–7546. ISSN 1420-3049, <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>
- Stoyanova, A. 2022. A Guide for the Specialist in the Aromatic Industry. *Bulgarian National Association of Essential Oils, Perfumery and Cosmetics. Plovdiv, Bulgaria.*
- Stoyanova, A., Balinova-Tcvetkova, A. L. 2019. Obtaining Essential Oil Products in Bulgaria.
- Todorova, D., Yavorov, N., Lasheva, V., Damyanova, S., Kostova, I. 2022. Lavender Essential Oil as Antibacterial Treatment for Packaging Paper. In *Coatings*, vol. 13, no. 1, pp. 32. ISSN 2079-6412, Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/coatings13010032>
- Vasileva, I., Denkova, R., Chochkov, R., Teneva, D., Denkova, Z., Dessev, T., Denev, P., Slavov, A. 2018. Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa Officinalis*) waste on quality and shelf life of bread. In *Food Chemistry*, vol. 253, pp. 13–21. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodchem.2018.01.131

## Skúmanie antimikrobiálnej aktivity geranievej (*Pelargonium graveolens*) rastlinnej silice

### Investigation of antimicrobial activity of geranium (*Pelargonium graveolens*) plant essential oil

Andrea VEREŠOVÁ, Miroslava KAČÁNIOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

According to published research, *Pelargonium graveolens* essential oil is a rich source of bioactive chemicals with a high degree of biological activity. The aim of this study was the antimicrobial potential of *Pelargonium graveolens* essential oil against (PGEO) phytopathogenic bacteria and microscopic filamentous fungi. In our study, the disc diffusion method and minimum inhibitory concentration were evaluated in an *in vitro* study and vapor phase on apricot, peach, tomato and collard greens in an *in situ* study. *Pseudomonas syringae* was the most sensitive of all microorganisms tested, while PGEO showed strong inhibitory activity with disc diffusion method. The lowest MIC 50 (0.24 µg/ml) and MIC 90 (0.49 µg/ml) values were evaluated against *Pectobacterium carotovorum*, and the highest values were found against *Monilia fructigena* MIC 50 (0.67 µg/ml) and MIC 90 (0.97 µg/ml). At the highest concentration of essential oil (500 µl/l), *Fusarium solani* was the most strongly inhibited microorganism on the apricot model. At the higher concentration of essential oil (500 µl/l), *Xanthomonas arboricola* was the most strongly inhibited microorganism in the peach model. At the lowest concentration of essential oil (62.5 µl/l), *X. arboricola* was the most strongly inhibited microorganism on the tomato model and the collard greens model.

**Keywords:** bacteria, fungi, geranium, antimicrobial activity, *in vitro*, *in situ*

#### ÚVOD

*Pelargonium graveolens*, bežne známy ako pelargónia, je jedným z viac ako 250 druhov v rámci rodu *Pelargonium*, ktoré sú pôvodné v južných častiach Afriky (Mativandela *et al.*, 2006). Nie všetky druhy rodu tam však sídlia. Niektoré sa rozvetvili a vďaka obchodu s korením a zberu liečivých rastlín námorníkmi dnes niektoré druhy možno nájsť prirodzene rastúce v Austrálii, východnej Afrike, Novom Zélande, na Strednom východe, ostrovoch Helena, Tristan de Chuna a Madagaskar (Čavar a Maksimović, 2012). Aj keď sú najpozoruhodnejšie kvôli vôňam, ktoré produkujú, sú to v skutočnosti rastlinné silice, ktoré poskytujú výhody. Rastlinné silice sú sekundárne metabolity, ktoré produkujú rastliny. Tieto silice sú prchavé, prírodné a komplexné zlúčeniny, o ktorých je známe, že sú dôležité pri rozmnožovaní rastlín, pretože pomáhajú pri šírení semien a peľu priťahovaním hmyzu. A čo je dôležitejšie, sú určené na ochranu rastlín pred baktériami, vírusmi, škodcami a hubami (Atailia a Djahoudi, 2015). Práve tieto benefity dnes tlačia rastlinné silice do bežných odvetví, akými sú potravinárstvo a medicína. *P. graveolens* sa v potravinárskom priemysle využíva pre svoju antimikrobiálnu aktivitu. Rastlinná silice sa v nie-

kolkých štúdiách ukázala ako účinná v boji proti baktériám a mikroskopickým vláknitým hubám. Tento antimikrobiálny účinok viedol k testovaniu silice proti patogénom spôsobujúcim kazenie potravín so sľubnými výsledkami. Je v potravinárskom priemysle vysoko považovaný za konzervačný prostriedok (Boukhatef *et al.*, 2013). Najnovšie a pravdepodobne najrelevantnejšie použitie rastliny je v oblasti medicíny. *P. graveolens* preukázal potenciál v mnohých rôznych štúdiách pre množstvo pozitívnych výhod. Medzi tieto výhody patrí antibakteriálna, antifungálna a antioxidačná aktivita a iné. Tradične sa rastlina používa na liečbu rôznych symptómov vrátane: zápalu obličiek, rán, horúčky, prechladnutia a bolesti hrdla, zápalu, silného menštruačného krvácania, hemoroidov, úplavice, rakovinových gastrointestinálnych ochorení, hyperglykémie, nespavosti, srdcových chorôb, astmy, nevoľnosti a zvracania, horúčke a tuberkulóze a iných ochoreniach (Lalli *et al.*, 2008).

Reakcia a citlivosť patogénov na RS sú rôzne. Napríklad sa preukázalo, že účinok bazalkovej RS na rôzne baktérie vyvolal rôzne reakcie v zmysle inhibície (Ji *et al.*, 2008; Moghaddam *et al.*, 2014) proti širokému spektru patogénov. Ukázalo sa, že je obzvlášť účinný proti *Pseudomonas tolaasii*, zatiaľ čo *Brenneria nigrifluens* bola sotva ovplyvnená RS. Okrem toho boli inhibované aj *Xanthomonas citri* a *Rhodococcus fascians*, ale vo vyšších koncentráciách RS v porovnaní s *P. tolaasii*. Ďalšia štúdia preukázala mierny úspech druhu *Tanacetum* RS, ale zistilo sa že je neúčinná proti *Erwinia amylovora* alebo *Xanthomonas* spp. (Salamci *et al.* 2007). *Origanum onites* sa naopak osvedčil proti *Clavibacter michiganensis* a *Xanthomonas* spp. s konzistentnými inhibičnými zónami (Kotan *et al.*, 2010). V mnohých štúdiách sa preukázalo, že reakcia špecifickej fytopatogénnej huby v kontakte s RS bola veľmi variabilná od jednej RS k druhej. *Botrytis cinerea* je inhibovaný RS z čiernej rasce a feniklu, ale nie z máty piepornej (Aminifard a Mohammadi, 2012). Treba poznamenať, že prítomnosť buď fenolových (feniklová silica) alebo aromatických zlúčenín (čierna rasca) má zrejme vyššiu antifungálnu aktivitu proti *B. cinerea*. Podobne *Aspergillus* spp. Ukázalo sa, že je citlivý na RS z citrónovej trávy, klinčeka, oregana a tymiánu, ale nie je citlivý na RS škoricca a zázvoru (Božik *et al.*, 2017) a *Penicillium digitatum* sú vysoko ovplyvnené tymianovou RS, menej feniklovou a bazalkovou (Ortiz de Elguea-Culebras *et al.*, 2016).

Cieľom našej štúdie bolo zistenie antimikrobiálneho potenciálu rastlinnej silice *Pelargonium graveolens* proti patogénom rastlín v *in vitro* diskovou difúznou metódou a metódou minimálnej inhibičnej koncentrácie a *in situ* za použitia parnej fázy.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Pelargonium graveolens* (PGRS) bola zakúpená od firmy Hanus (Nitra, Slovensko). Rastlinná silica (RS) bola vyrobená destiláciou čerstvej vňate vodnou parou. Krajina pôvodu rastlinnej silice bolo Španielsko. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavnými zložkami silice sú geraniol 60 až 75 %, linalol, citronelol,  $\alpha$ -terpineol, borneol, mentol.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructige-*

na CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Pelargonium graveolens* (PGRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agar (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100 µl sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10 µl PGRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa PGRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbancia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy PGRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli marhule, broskyne, paradajky a baklažánu. Zahriatý MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané marhule, broskyne, paradajky a baklažány na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. PGRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)

$$BGI = [(C - T)/C] \times 100,$$

kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Pelargonium graveolens* (PGRS) bola uskutočnená diskovou difúznou metódou a výsledky sú uvedené na obrázku 1 a minimálnou inhibičnou koncentráciou a výsledky sú uvedené na obrázku 2. Najsilnejšia antimikrobiálna aktivita PGRS bolo zistená proti fytopatogénnej baktérii *Pseudomonas syringae* (18,67 mm) a najnižšia bolo zistená proti MVH *Fusarium solani* (10,33 mm).

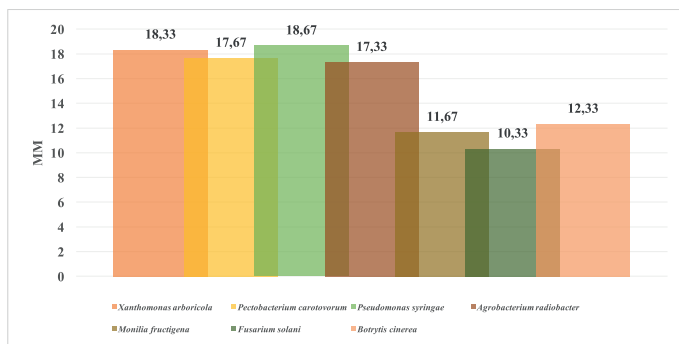
MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií. Najnižšie hodnoty MIC 50 (0,24 mg/ml) a MIC 90 (0,49 mg/ml) boli zaznamenané u baktérii *Pectobacterium carotovorum* a najvyššie hodnoty boli zistené u *Monilia fructigena* MIC 50 (0,67 mg/ml) a MIC 90 (0,97 mg/ml).

Antibakteriálne účinky RS rôznych druhov *Pelargonium* vrátane *P. tomentosum*, *P. denticulatum*, *P. odoratissimum*, *P. fragrans* boli hodnotené v predchádzajúcich štúdiách. Zistilo sa, že poskytujú sľubné výsledky proti niekoľkým baktériám (Lis-Balchin *et al.*, 1998; Khokra *et al.*, 2008). Prabuseenivasan *et al.* (2006) analyzovali pelargónové RS, pričom pozorovali inhibičné účinky proti rôznym bakteriálnym kmeňom, vrátane *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Proteus vulgaris*.

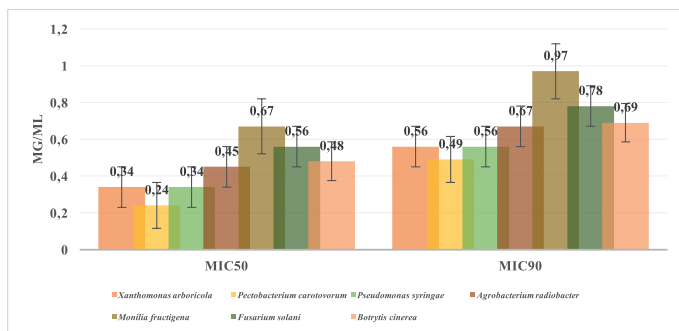
Podľa Rota *et al.* (2008) možno aktivitu rastlinných silíc klasifikovať ako silne inhibičnú, ak sú inhibičné zóny vyššie ako 20 mm; stredne inhibičné, s inhibičnými zónami medzi 12 a 20 mm; a žiadny inhibičný účinok, keď sú inhibičné zóny nižšie ako 12 mm. Boukhatem *et al.* (2013) našli inhibičné zóny pre *E. coli* (11,3 a 15,5 mm), *S. aureus* (12,8 a 21,1 mm) a žiadnu aktivitu proti *S. typhimurium* s použitím silice z pelargónie (*Pelargonium graveolens*).

V práci Santos *et al.* (2024), MIC PGRS bola 2,95 mg/ml pre všetky testované patogény. Wei *et al.* (2022) porovnali dve metódy extrakcie GEO a získali hodnoty MIC 6,25 mg/ml pre *E. coli* a 25 mg/ml pre *S. aureus*, čo sú vyššie hodnoty ako hodnoty zistené v našej štúdii. Čo sa týka MBC, bolo pozorované, že pre extrakčnú metódu využívajúcu enzymatickú pred úpravu kombinovanú s mikrovlnami bez rozpúšťadla tvoria hodnoty MBC rovnaké hodnoty MIC pre obe baktérie; pri hydrodestilačnej metóde sa koncentrácia MBC zdvojnásobila vo vzťahu k MIC. Podľa Berthold-Pluta *et al.* (2018), faktory, ktoré určujú antimikrobiálnu aktivitu esenciálnych olejov, sú ich zloženie, funkčné skupiny v aktívnych zložkách a synergické interakcie medzi týmito zložkami.

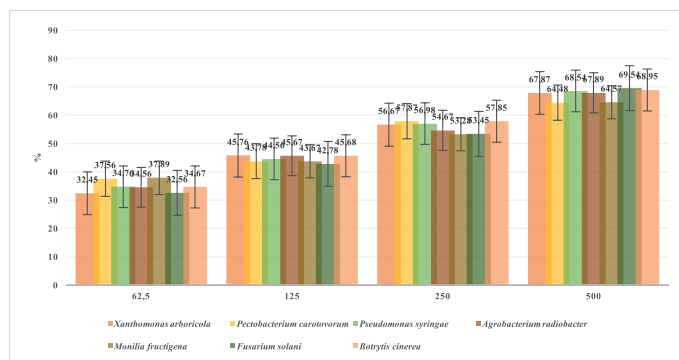
V štúdií Kačániová *et al.* (2024) na jablkovom modeli infikovanom baktériami G<sup>+</sup> bol PGRS najúčinnnejší proti *Enterococcus faecalis* (95,67 ± 4,32 %) pri koncentrácii 62,5 µg/ml, zatiaľ čo pri inhibícii *Priestia megaterium* vykazovala probakteriálne účinky. Parná fáza PGRS pri koncentrácii 500 µg/ml pri inhibovala *Serratia marcescens* (74,23 ± 3,72 %) a pri koncentrácii 62,5 µg/ml pri inhibovala *E. coli* (67,54 ± 3,56 %). Zhrnutím výsledkov získaných pre inhibíciu *Salmonella enterica* tvoriacej biofilm, PGRS účinne znížil svoj rast na mrkvovom modeli pri koncentrácii 250 µg/ml na 96,23 ± 3,72 %. Proti tejto baktérii rastúcej na jablkovom modeli vykazovala PGRS mierne účinky s maximálnou účinnosťou pri aplikovanej koncentrácii 500 µg/ml.



Obrázok 1. Antimikrobiálna aktivita PGRS diskovou difúznou metódou v mm



Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia PGRS v mg/ml

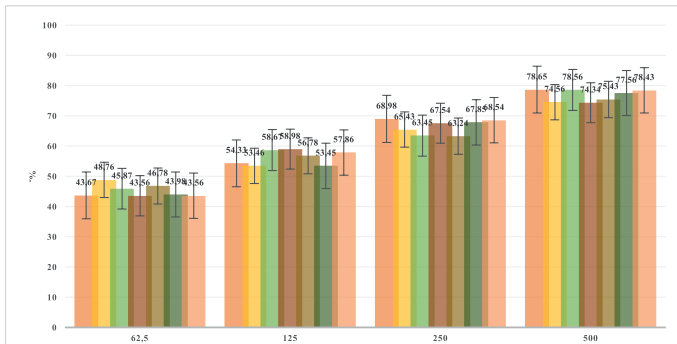


Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli marhule v %



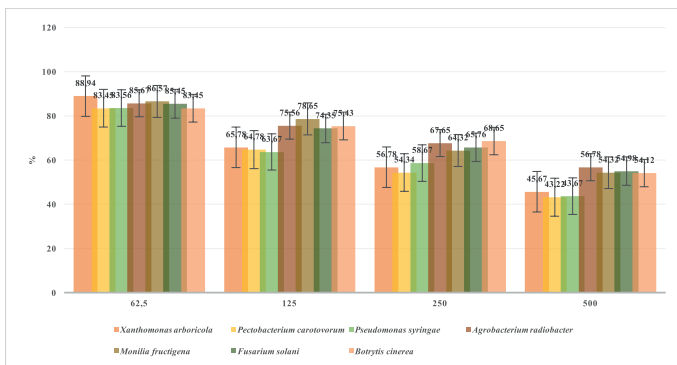
Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím marhule ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PGRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii silice (500 µl/l) bol *Fusarium solani* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (69,54 %) na modeli marhule. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. carotovorum*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím broskyne ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PGRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najvyššej koncentrácii silice (500 µl/l) bol *Xanthomonas arboricola* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (68,65 %) na broskyni. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Agrobacterium radiobacter*.



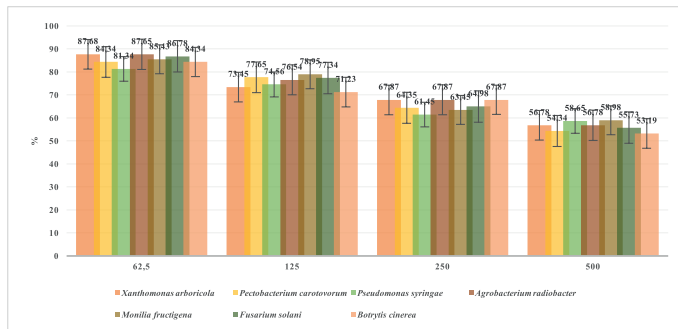
Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli broskyne v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím paradajky ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PGRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *X. arboricola* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (88,94 %) na paradajke. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. carotovorum* a *Botrytis cinerea*.



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli paradajok v %

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím baklažánu ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi PGRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5  $\mu\text{l/l}$ ) bol *X. arboricola* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (87,68 %) na baklažáne. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Pseudomonas syringae*.



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli baklažánu v %

Začlenenie čerstvého ovocia a zeleniny do jedálneho stola sa považuje za neoddeliteľnú súčasť zdravého životného štýlu. Naopak, znížená spotreba týchto potravín bola spojená s nepriaznivými zdravotnými výsledkami a zvýšeným rizikom vzniku určitých neprenosných chorôb. V rôznych fázach výrobného procesu je čerstvá zelenina príležitostne náchylná na kontamináciu patogénnymi baktériami prenášanými potravinami. Patogénne baktérie sa môžu dostať na pole prostredníctvom znečistenej vody, pôdy, dobytky, voľne žijúcich živočíchov a zariadení používaných počas zberu, ako aj krízovou kontamináciou od poľnohospodárskych pracovníkov (Gurtler *et al.*, 2022). Jedno z riešení v boji proti kontaminácii potravín možno nájsť v používaní RS, keďže tieto zmesi sa väčšinou používajú ako arómy v potravinárskom sektore. V našej štúdiu sme demonštrovali účinky PFEO proti fytopatogénom naočkovaným na marhuľové, broskyňové, paradajkové a baklažánové modely potravín. Naše výsledky ukazujú, že PGEO bol účinnejší, najmä pri najnižšej koncentrácii na ovoci a pri najvyššej na zelenine. Todd *et al.* (2013) naočkovali *Salmonella* do organickej rímskej rasce, ľadového šalátu a organického detského a zrelého špenátu. V tejto štúdiu sa na vyhodnotenie účinkov RS došlo k poklesu rastu *Salmonella*. Zistenia Kačániovej *et al.* (2020) preukázali silnú antibakteriálnu aktivitu cédrového EO pri inhibícii vývoja *M. luteus* a *S. marcescens* na modeloch chleba, modeloch mrkvy a zeleru s použitím rovnakej metódy ako v tejto štúdiu. Podľa týchto zistení cédrový EO vykazoval antifungálny účinok proti *Penicillium expansum*, *P. chrysogenum*, *P. italicum* a *P. aurantiogriseum*, ktoré sa vyvíjali na chlebovom modeli. Pri hodnotení na modeli mrkvy a zeleru ako substrátoch vykazovali najvyššie dávky EO silnú antifungálnu aktivitu, ktorá účinne inhibovala rast všetkých testovaných kmeňov mikroskopických vláknitých húb.

## ZÁVER

Cieľom našej práce bolo sledovanie antimikrobiálnych vlastností (*in vitro* a *in situ*), komerčne získanej RS *Pelargonium graveolens* od firmy Hanus na Slovensku. Patogény rast-

lín boli citlivé na antibakteriálny účinok PGRS. Preto môže byť PGEO dobrou voľbou pre výskum a vývoj ako náhradné prírodné antibakteriálne činidlo na zastavenie kontaminácie potravín mikroorganizmami. Zistenia tejto štúdie ukázali, že PGRS má antibakteriálnu účinnosť proti patogénom, ktoré sa vyskytujú na rastlinách a sú kultivované v laboratórnom prostredí. Na porovnanie účinnosti PGRS pri blokovaní fytopatogénnych mikroorganizmov je potrebný ďalší výskum na preskúmanie potenciálnych účinkov PGRS, či už samotného alebo v spojení s rôznymi fyzikálnymi úpravami.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Aminifard, M. H., Mohammadi, S. 2012. Essential oils to control *Botrytis cinerea* *in vitro* and *in vivo* on plum fruits. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 93, no. 2, pp. 348–353. ISSN 0022-5142, Dostupné na: doi: org/10.1002/jsfa.5765
- Atailia, I., Djahoudi, A. 2015. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivé en Algérie. In *Phytothérapie*, vol. 13, no. 3, pp. 156–162. ISSN 1624-8597, Dostupné na: doi: org/10.1007/s10298-015-0950-2
- Berthold-Pluta, A., Stasiak-Róžańska, L., Pluta, A., Garbowska, M. 2018. Antibacterial activities of plant-derived compounds and essential oils against *Cronobacter* strains. In *European Food Research and Technology*, vol. 245, no. 5, pp. 1137-1147. ISSN 1438-2377, Dostupné na: doi: org/10.1007/s00217-018-3218-x
- Boukhatem, M. N., Kameli, A., Saidi, F. 2013. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. In *Food Control*, vol. 34, no. 1, pp. 208-213. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodcont.2013.03.045
- Božik, M., Cíсарová, M., Tančinová, D., Kouřimská, L., Hleba, L., Klouček, P. 2017. Selected essential oil vapours inhibit growth of *Aspergillus* spp. in oats with improved consumer acceptability. In *Industrial Crops and Products*, vol. 98, pp. 146-152. ISSN 0926-6690, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.indcrop.2016.11.044
- Čavar, S., Maksimović, M. 2012. Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her. In *Food Control*, vol. 23, no. 1, pp. 263-267. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodcont.2011.07.031
- Gurtler, J. B., Garner, C. M. 2022. A Review of Essential Oils as Antimicrobials in Foods with Special Emphasis on Fresh Produce. In *Journal of Food Protection*, vol. 85, no. 9, pp. 1300-1319. ISSN 0362-028X, Dostupné na: doi: org/10.4315/jfp-22-017
- Ji, G.-H., Wei, L.-F., He, Y.-Q., Wu, Y.-P., Bai, X.-H. 2008. Biological control of rice bacte-

- rial blight by *Lysobacter antibioticus* strain 13-1. In *Biological Control*, vol. 45, no. 3, pp. 288–296. ISSN 10499644, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.004
- Kačániová, M., Galovičová, L., Ivanišová, E., Vukovic, N. L., Štefániková, J., Valková, V., Borotová, P., Žiarovská, J., Terentjeva, M., Felšöciová, S., Tvrđá, E. 2020. Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Essential Oil for Its Application in Foods. In *Foods*, vol. 9, no. 3, pp. 282. ISSN 2304-8158, Dostupné na: doi.org/10.3390/foods9030282
- Kačániová, M., Vukic, M., Vukovic, N. L., Čmiková, N., Verešová, A., Schwarzová, M., Ba-bošová, M., Porhajašová, J. I., Kluz, M., Waszkiewicz-Robak, B., Hsouna, A. B., Saad, R. B., Garzoli, S. 2023. An In-Depth Study on the Chemical Composition and Biological Effects of *Pelargonium graveolens* Essential Oil. In *Foods*, vol. 13, no. 1, pp. 33. ISSN 2304-8158, Dostupné na: doi: org/10.3390/foods13010033
- Khokra, S., Prakash, O., Jain, S., Aneja, K., Dhingra, Y. 2008. Essential oil composition and antibacterial studies of *Vitex negundolinn.* extracts. In *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 70, no. 4, pp. 522. ISSN 0250-474X, Dostupné na: doi: org/10.4103/0250-474x.44610
- Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H., Kordali, S., Mete, E., Dikbas, N. 2010. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 90, no. 1, pp. 145-160. ISSN 0022-5142, Dostupné na: doi: org/10.1002/jsfa.3799
- Lalli, J. Y. Y., Van Zyl, R. L., Van Vuuren, S. F., Viljoen, A. M. 2008. *In vitro* biological activities of South African Pelargonium (Geraniaceae) species. In *South African Journal of Botany*, vol. 74, no. 1, pp. 153-157. ISSN 0254-6299, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.sajb.2007.08.011
- Lis-Balchin, M., Buchbauer, G., Ribisch, K., Wenger, M. -T. 1998. Comparative antibacterial effects of novel *Pelargonium* essential oils and solvent extracts. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 27, no. 3, pp. 135-141. ISSN 0266-8254, Dostupné na: doi: org/10.1046/j.1472-765x.1998.00414.x
- Mativandela, S. P. N., Lall, N., Meyer, J. J. M. 2006. Antibacterial, antifungal and anti-tubercular activity of (the roots of) *Pelargonium reniforme* (CURT) and *Pelargonium sidoides* (DC) (Geraniaceae) root extracts. In *South African Journal of Botany*, vol. 72, no. 2, pp. 232-237. ISSN 0254-6299, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.sajb.2005.08.002
- Moghaddam, M., Alymanesh, M. R., Mehdizadeh, L., Mirzaei, H., Ghasemi Pirbalouti, A. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Ocimum citiatum*, as a new source of methyl chavicol, against ten phytopathogens. In *Industrial Crops and Products*, vol. 59, pp. 144–148. ISSN 0926-6690, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.indcrop.2014.05.006
- Ortiz de Elguea-Culebras, G., Sánchez-Vioque, R., Santana-Méridas, O., Herraiz-Peñalver, D., Carmona, M., Berruga, M. I. 2016. *In vitro* antifungal activity of residues from essential oil industry against *Penicillium verrucosum*, a common contaminant of ripening cheeses. In *LWT*, vol. 73, pp. 226–232. ISSN 0023-6438, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.lwt.2016.06.008
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. In *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 6, no. 1. ISSN 1472-6882, Dostupné na: doi: org/10.1186/1472-6882-6-39

- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., Jordán, M. J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. In *Food Control*, vol. 19, no. 7, pp. 681-687. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.foodcont.2007.07.007](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.007)
- Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A., Kaya, Y. 2007. Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. In *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 35, no. 9, pp. 569-581. ISSN 03051978, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.bse.2007.03.012](https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.03.012)
- Santos, F. N. dos, Fonseca, L. M., Jansen-Alves, C., Crizel, R. L., Pires, J. B., Kroning, I. S., de Souza, J. F., Fajardo, A. R., Lopes, G. V., Dias, A. R. G., Zavareze, E. da R. 2024. Antimicrobial activity of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil and its encapsulation in carioca bean starch ultrafine fibers by electrospinning. In *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 265, pp. 130953. ISSN 0141-8130, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130953](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130953)
- Todd, J., Friedman, M., Patel, J., Jaroni, D., Ravishankar, S. 2013. The antimicrobial effects of cinnamon leaf oil against multi-drug resistant *Salmonella* Newport on organic leafy greens. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 166, no. 1, pp. 193-199. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.021](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.021)
- Wei, L., Yang, H., Li, H., Zhu, M., Mi, S., Lu, Q., Liu, M., Zu, Y. 2022. Comparison of chemical composition and activities of essential oils from fresh leaves of *Pelargonium graveolens* L'Herit. extracted by hydrodistillation and enzymatic pretreatment combined with a solvent-free microwave extraction method. In *Industrial Crops and Products*, vol. 186, pp. 115204. ISSN 0926-6690, Dostupné na: doi: [org/10.1016/j.indcrop.2022.115204](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115204)

## Využitie rozmarínovej rastlinnej silice na konzerváciu ovocia a zeleniny

### The use of rosemary essential oil for the preservation of fruits and vegetables

Andrea VEREŠOVÁ, Miroslava KAČÁNIOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

Due to its pharmacological and antibacterial properties, rosemary which was once only used as a scent in the cosmetics industry has progressively found extensive uses in the food and pharmaceutical industries. The purpose of this study was to determine the antibacterial ability of *Rosmarinus officinalis* essential oil (ROEO) against microscopic filamentous fungus and phytopathogenic bacteria. In this work, the vapor phase on strawberry, peach, tomato, and cucumber was studied *in situ*, and the disc diffusion method and lowest inhibitory concentration were assessed in an *in vitro* investigation. Of all the microorganisms studied, *Pseudomonas syringae* proved to be the most sensitive, and the disc diffusion method demonstrated high inhibitory action of ROEO. In comparison to *Agrobacterium radiobacter*, the lowest MIC 50 (1.34 µg/ml) and MIC 90 (1.58 µg/ml) values were assessed. *Pectobacterium carotovorum* was the most highly inhibited microbe on the strawberry model at the highest dose of essential oil (500 µl/l). In the peach model, *Botrytis cinerea* exhibited the most inhibition of any microbe at 500 µl/concentration of essential oil. *A. radiobacter* on the cucumber model and *Fusarium solani* on the tomato model both showed the strongest inhibition of microorganisms at the maximum concentration of essential oil (500 µl/l). Fruit and vegetable shelf life can be greatly extended by using ROEO. **Keywords:** *Rosmarinus officinalis*, antimicrobial potential, food model in vapor phase, *in vitro* condition

#### ÚVOD

Jedným z hlavných problémov súčasnej antibiotickej terapie je rezistencia a následné vedľajšie účinky lieku. V súlade s tým, po skúmaní účinkov rastlín, ich človek použil v rôznych odvetviach. Po objavení penicilínu v 40. rokoch a jeho použití v liečbe sa každý deň zavádzali nové antibiotiká na liečbu infekcií (Jafari-Sales a Pashazadeh, 2020). Výsledkom bolo rozšírenie klinického využitia prírodných a syntetických antibiotík v liečbe klinických infekcií (Goncagül *et al.*, 2020). Nadmerné používanie týchto antimikrobiálnych liekov viedlo u väčšiny baktérií k zvýšenej liekovej rezistencii voči rôznym antibiotikám (Jafari-Sales a Bolouri, 2018). To bol jeden z dôvodov rastúceho používania bylín ako nízkorizikových, cenovo dostupných a lacných prírodných zložiek pri liečbe bakteriálnych infekcií v porovnaní so syntetickými antibiotikami (Can a Sümer, 2019). Tieto bylinné prípravky sú tiež u ľudí obľúbenejšie (Bozin a Mimica-Dukić, 2007). Úloha prírodných produktov pri výrobe liečiv rastie, a to nielen vtedy, keď sa bioaktívne zlúčeniny používajú priamo ako terapeutické liečivá, ale aj keď sa používajú ako surovina na syntézu liečiv, ale-

bo ako modelový základ pre nové biologicky aktívne zlúčeniny (Dello a Prado, 2021). Štúdie ukazujú, že len asi 10 % z 250 000 druhov rastlín študovaných na celom svete (Cragg a Newman, 2002). Preto sa skúmalo použitie rastlinných drog ako alternatívy k chemickým liekom a antibiotikám.

Rozmarín patrí do čeľade Lamiacea a je obľúbený ako korenie a liečivá rastlina v mnohých krajinách. Má antibakteriálne, protiplesňové, protirakovinové, antidiabetické, protizápalové, analgetické, antioxidantné a endemické účinky na oblasť Stredozemného mora a Ázie (Campo *et al.*, 2000; Yesil-Celiktas *et al.*, 2010). Čeľaď Lamiaceae, alebo čeľaď mätočných, je čeľaď rastlín, kríkov a stromov, ktorá zahŕňa asi 200 rodov a 3 200 druhov, z ktorých mnohé majú dlhú históriu užívania drog a potravín (Özcan, 2003). Rozmarín je zaradený do Svetovej série burín, ale pre svoju popularitu a terapeutické vlastnosti má najvyššiu prioritu. Antimikrobiálne vlastnosti rozmarínu sú spôsobené fenolovými zlúčeninami: karnozol, kyselina rozmarínová, kyselina kávová, flavonoidy vrátane diosmínu, luteolín, zinkquanín a monoprény ako gáfor, cineol a borneol (Peng *et al.*, 2005). Rozmarín je odolný voči vodnému stresu a môže pokračovať v raste v podmienkach sucha (Kloy *et al.*, 2020). Čerstvé aj sušené listy rozmarínu sa pre svoju charakteristickú vôňu používajú pri varení jedál alebo v malých množstvách ako bylinkové čaje, zatiaľ čo výťažky z rozmarínu sa bežne používajú ako prírodné antioxidanty na zlepšenie trvanlivosti potravín (Kloy *et al.*, 2020). Rozmarín je jedno z korení, ktoré má najvyšší obsah antioxidantov a môže pomôcť v boji proti baktériám a rakovine. Antioxidantné vlastnosti extraktov z rozmarínu sa líšia v závislosti od genetických a rastových podmienok, regiónu a geografického pôvodu, klimatických podmienok, extrakčný proces, kvalita hlavnej rastliny a dátum zberu (Kloy *et al.*, 2020). Zatiaľ čo vlastnosti rozmarínu na posilnenie imunity sú dostatočne účinné, rastlina dobre funguje aj proti bakteriálnym infekciám, najmä tým, ktoré sa vyskytujú v žalúdku. *Helicobacter pylori* je bežný a veľmi nebezpečný patogén alebo patogén, ktorý môže viesť k žalúdočnému vredu, ale rozmarín preukázateľne pomáha zabrániť jeho rastu. Rozmarín je tiež spojený s prevenciou stafylokokovej infekcie, ktorá každoročne zabije tisíce ľudí (Kloy *et al.*, 2020).

Cieľom našej štúdie bolo sledovanie antimikrobiálnej aktivity rastlinnej silice *Rosmarinus officinalis* proti fytopatogénom v *in vitro* podmienkach diskovou difúznou metódou a metódou minimálnej inhibičnej koncentrácie a *in situ* podmienkach za použitia parnej fázy na ovocí a zelenine.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Rosmarinus officinalis* (RORS) bola zakúpená od firmy Hanus (Nitra, Slovensko). Silica bola vyrobená destiláciou kvitnúcej vňate vodnou parou. Krajina pôvodu rastlinnej silice bolo Tunisko. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavnými zložkami silice sú 1,8 cineol 38 – 55%, gáfor 5 – 15%, a+β pinén 13 – 23 %, limonén 1 – 4 %, borneol 1 – 5 %.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon

: Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

#### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Rosmarinus officinalis* (RORS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vláknité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100  $\mu$ l sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10  $\mu$ l RORS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

#### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50  $\mu$ l inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa RORS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100  $\mu$ l suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulum v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulum bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbancia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

#### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy RORS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli jahody, broskyne, paradajok a uhorky. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jahody, broskyne, paradajky a uhorky na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. RORS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5  $\mu$ l/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)

$$BGI = [(C - T)/C] \times 100,$$

kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.



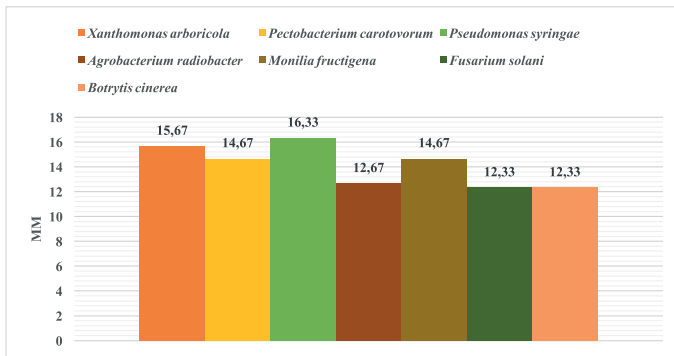
### Štatistické vyhodnotenie

Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rastlinná silica z rozmarínu je známa svojim chemickým zložením, ktoré má priaznivé vlastnosti. Používa sa na liečbu niekoľkých chorôb, ako sú choroby súvisiace so zápalom (Borges *et al.*, 2019), rakovina, cukrovka (Hamidpour *et al.*, 2017), kardiovaskulárne choroby (Sedighi *et al.*, 2015) a Alzheimerova choroba (Nieto *et al.*, 2018). Používa sa na liečbu respiračných a zápalových ochorení (Padalia *et al.*, 2015) v dôsledku prítomnosti zlúčeniny 1,8-cineolu. Rozmarínová RS je známa aj pre svoju antimikrobiálnu aktivitu (Borges *et al.*, 2019; Aziz *et al.*, 2022) a táto aktivita je spojená s hlavnými chemickými zlúčeninami esenciálneho oleja (1,8-cineol a  $\alpha$ -pinén) (Irshad *et al.*, 2020). 1,8-cineolové a  $\alpha$ -pinénové zlúčeniny sú známe svojou antimikrobiálnou aktivitou proti niektorým mikroorganizmom, ako je *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* (Jiang *et al.*, 2011) a *Mycobacterium smegmatis* (Fikri-Benbrahim *et al.*, 2020). Rozmarín sa používa v potravinárskom priemysle ako konzervačný prostriedok (Borrás-Linares *et al.*, 2014) a v kozmetike (de Macedo *et al.*, 2020) ako stimulačný a rozjasňujúci prostriedok a tiež ako prostriedok na úpravu pokožky (Borrás-Linares *et al.*, 2014).

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Rosmarinus officinalis* (RORS) bola uskutočnená diskovou difúznou metódou a výsledky sú uvedené na obrázku 1 a minimálnou inhibičnou koncentráciou a výsledky sú uvedené na obrázku 2. Najsilnejšia antimikrobiálna aktivita RORS bolo zistená proti fytopatogénnej baktérii *Pseudomonas syringae* (16,33 mm) a najnižšia bolo zistená proti MVH *Fusarium solani* a *Botrytis cinerea* (12,33 mm).

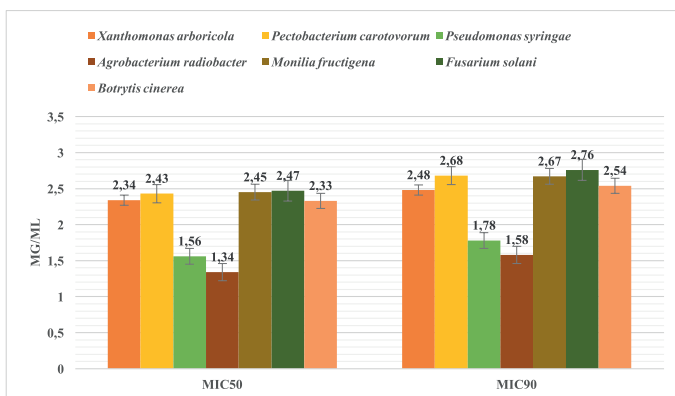


**Obrázok 1.** Antimikrobiálna aktivita RORS diskovou difúznou metódou v mm

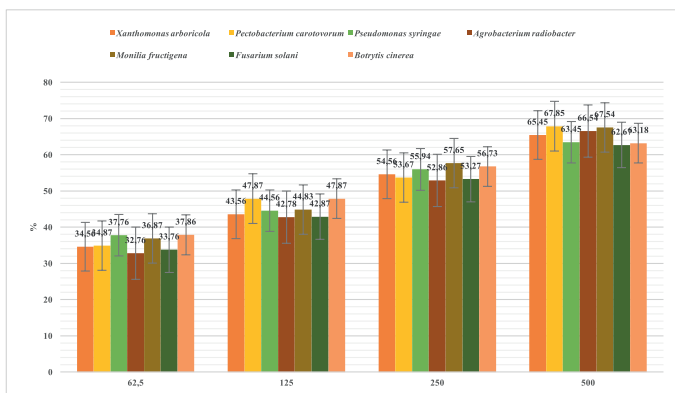
MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií. Najnižšie hodnoty MIC 50 (1,34 mg/ml) a MIC 90 (1,58 mg/ml) boli zaznamenané u baktérii *Agrobacterium radiobacter* a najvyššie hodnoty boli zistené u *Fusarium solani* MIC 50 (2,47 mg/ml) a MIC 90 (2,76 mg/ml).

Mnohé štúdie preukázali, že rozmarínová RS poskytuje účinnú antibakteriálnu aktivitu

proti rôznym mikroorganizmom (Bouyahya *et al.*, 2017; Farhat *et al.*, 2017). Gramnegatívne baktérie (*E. coli*) boli o niečo viac citlivé na rozmarínovú RS ako na grampozitívne baktérie (Vahdat *et al.* 2019). Megzari *et al.* (2015) zistili, že rozmarínová RS vykazuje antibakteriálnu aktivitu proti rovnakému bakteriálnemu kmeňu s priemermi inhibície podobnými tým, ktoré sme pozorovali v našej štúdií. Bajalan *et al.* (2017) uviedli, že RS z rozmarínu vykazuje antibakteriálnu aktivitu proti štyrom kmeňom baktérií, najmä *E. coli*, s inhibičnou zónou 18,5 mm, po ktorých nasledoval *Staphylococcus aureus* (14,6 mm), *Klebsiella pneumoniae* (13,9 mm) a *Streptococcus agalactiae* (13,1 mm). Abdellaoui a *et al.* (2020) odhalili, že najvyššia antibakteriálna aktivita bola proti *E. coli*, ktorá bola z testovaných kmeňov najcitlivejšia s najväčšou inhibičnou zónou (18,4 mm). Chahboun *et al.* (2020) ukázali, že rozmarínová RS v oblasti Taza v Maroku bola účinná proti všetkým kmeňom, okrem *Pseudomonas aeruginosa*, pričom ostatné kmene mali priemery medzi 12,0 a 22,0 mm.



Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia RORS v mg/ml

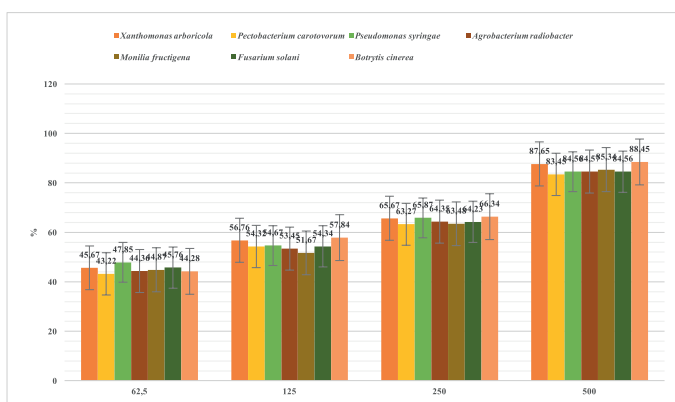


Obrázok 3. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli jahody v %

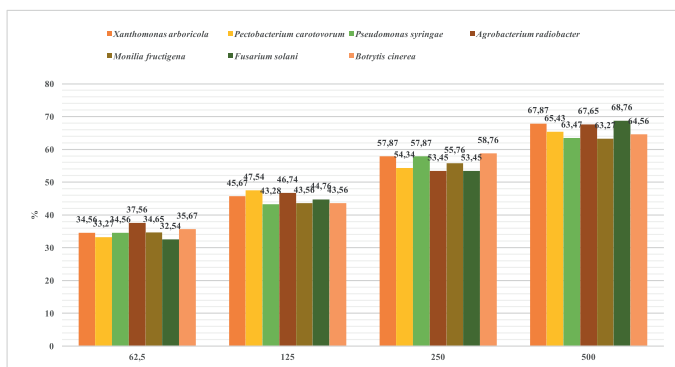
Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím jahody ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RORS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii silice (500  $\mu\text{l/l}$ ) bol *Pectobacterium carotovorum* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (67,85 %) na jahode. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *F. solani*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím broskyne ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RORS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najvyššej koncentrácii silice (500  $\mu\text{l/l}$ ) bol *Botrytis cinerea* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (88,75 %) na broskyni. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. carotovorum*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím paradajky ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RORS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najvyššej koncentrácii silice (500  $\mu\text{l/l}$ ) bol *F. solani* najsilnejšie inhibovaným mikroor-



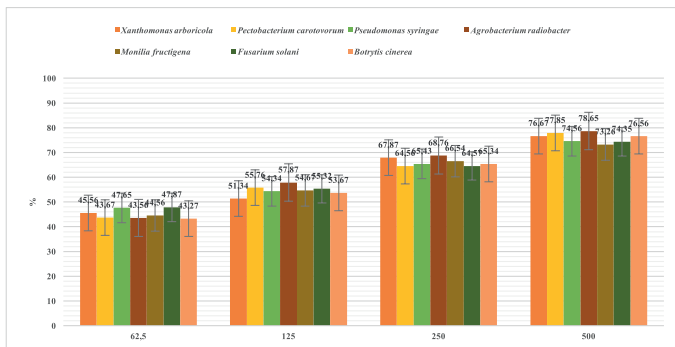
Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli broskyne v %



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli paradajky v %

ganizmom (68,76%) na paradajke. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Monilia fructigena*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím uhorky ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RORS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najvyššej koncentrácii silice (500  $\mu\text{l/l}$ ) bol *Agrobacterium radiobacter* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (78,65%) na uhorky. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Monilia fructigena*.



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli uhorky v %

Konzervovanie potravín bolo vždy významnou oblasťou výskumu v potravinárskom priemysle (Zhang *et al.*, 2023). Rôznych čerstvé potraviny, ako je bravčové, kuracie mäso a syry, sú náchylné na mikrobiálne napadnutie, čo vedie k ich kazeniu. Okrem toho môžu niektoré invázne huby vytvárať toxíny, ktoré by mohli viesť k zdravotným problémom, ako je hepatotoxicita a rakovina žalúdka, ak sú náhodne skonzumované (Shwaiki *et al.*, 2021). Preto je nevyhnutné zamerať sa na vývoj konzervačných látok ako kľúčovej výskumnej priority v oblasti konzervácie potravín. Potravinové konzervanty môžu priamo inhibovať rast mikroorganizmov, čím predlžujú trvanlivosť rôznych potravín. Zatiaľ čo chemické konzervačné látky boli komerčne využívané už dlhú dobu na účely skladovania a konzervovania druhov potravín kvôli ich vysokej účinnosti a nízkej cene, ich chemické zložky boli identifikované ako bezpečnostné riziko a hrozby pre ľudské zdravie. Dlhodobé používanie chemických konzervačných látok môže tiež viesť k vývoju kmeňov baktérií odolných voči liekom (Göksen *et al.*, 2021). Čoraz viac chemických konzervantov je zakázaných pre dosiahnutie cieľa trvalo udržateľného rozvoja, preto sa výskum a používanie prírodných konzervačných látok v potravinách stalo naliehavou nevyhnutnosťou a najslubnejšou oblasťou vývoja v potravinárskom priemysle. V posledných rokoch si získava na popularite používanie prírodných účinných látok ako konzervačných látok. Spomedzi týchto zlúčenín vzbudili záujem rastlinné silice ako sľubná alternatíva k chemickým konzervačným látkam vďaka ich prirodzeným, bezpečným, antioxidačným a antibakteriálnym vlastnostiam (Göksen *et al.*, 2020). Napríklad aplikácia rozmarínovej rastlinnej silice zlepšila zmeny v štruktúre mäsa kurčiat počas ich skladovania. Sledovali sa mikrobiálne a chuťové zmeny, čo má za následok dlhšiu trvanlivosť (Mavalizadeh *et al.*, 2022). Príprava chitosanových naplní a tiež výrazne oddialila trvanlivosť plodov datlí (Soltani *et al.*, 2022).

## ZÁVER

Rozmarín výrazne znižuje rast patogénnych mikroorganizmov ľudí, potravín, zvierat a rastlín, a spomaľuje rast týchto mikroorganizmov. Antimikrobiálny účinok rozmarínovej silice sa zvyšoval so zvyšujúcou sa koncentráciou RS na modeli ovocia a zeleniny. Vzhľadom na význam liečivých rastlín a ich metabolitov pri zabezpečovaní zdravia ľudí a vysoký ekonomický potenciál týchto rastlín, predstavuje spoľahlivý zdroj antimikrobiálnej aktivity. Časť výskumu agrobiotechnológií na univerzitách a výskumných ústavoch je venovaná identifikácii, industrializácii a optimalizácii metód extrakcie farmaceutických metabolitov z týchto rastlín. Výsledkami našich pokusov sme zistili, že rozmarínová silica má vysoký potenciál pre ochranu proti patogénom, a *in vitro* a *in situ* pokusy by mohli byť doplnené o experimenty *in vivo*.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Abdellaoui, M., Bouhlali, E. dine T., Derouich, M., El-Rhaffari, L. 2020. Essential oil and chemical composition of wild and cultivated fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.): A comparative study. In *South African Journal of Botany*, vol. 135, pp. 93-100. ISSN 0254-6299, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.sajb.2020.09.004
- Aziz, E., Batool, R., Akhtar, W., Shahzad, T., Malik, A., Shah, M. A., Iqbal, S., Rauf, A., Zengin, G., Bouyahya, A., Rebezov, M., Dutta, N., Khan, M. U., Khayrullin, M., Babaeva, M., Goncharov, A., Shariati, M. A., Thiruvengadam, M. 2022. Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications. In *South African Journal of Botany*, vol. 151, pp. 3-18. ISSN 0254-6299, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.sajb.2021.09.026
- Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A. G., Maggi, F. 2017. Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. In *Industrial Crops and Products*, vol. 107, pp. 305-311. ISSN 0926-6690, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.indcrop.2017.05.063
- Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., Carvalho, J. C. T. 2019. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. In *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 229, pp. 29-45. ISSN 0378-8741, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.jep.2018.09.038
- Borrás-Linares, I., Stojanović, Z., Quirantes-Piné, R., Arráez-Román, D., Švarc-Gajić, J., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A. 2014. *Rosmarinus Officinalis* Leaves as a Natural Source of Bioactive Compounds. In *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, no. 11, pp. 20585-20606. ISSN 1422-0067, Dostupné na: doi: org/10.3390/ijms151120585

- Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbau, A., Fellah, H., Abrini, J., Dakka, N. 2017. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. In *Microbial Pathogenesis*, vol. 111, pp. 41-49. ISSN 0882-4010, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.micpath.2017.08.015
- Bozin, B., Mimica-Dukić, N. 2007. Antibacterial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L.) essential oils. In *Planta Medica*, vol. 73, no. 09. ISSN 0032-0943, Dostupné na: doi: org/10.1055/s-2007-986945
- Campo, J. D., Amiot, M.-J., Nguyen-The, C. 2000. Antimicrobial Effect of Rosemary Extracts. In *Journal of Food Protection*, vol. 63, no. 10, pp. 1359-1368. ISSN 0362-028X, Dostupné na: doi: org/10.4315/0362-028x-63.10.1359
- Can, E., Sümer, E. 2019. Anesthetic and sedative efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils in blue dolphin cichlid (*Cyrtocara amoorii*). In *Turkish journal of veterinary and animal sciences*, vol. 43, no. 3, pp. 334-341. ISSN 1300-0128, Dostupné na: doi: org/10.3906/vet-1809-22
- Cragg, G. M., Newman, D. J. 2002. Drugs from nature: past achievements, future prospects. In *Ethnomedicine and Drug Discovery*, pp. 23–37. Dostupné na: doi: org/10.1016/s1572-557x(02)80010-1
- de Macedo, L. M., Santos, É. M. dos, Militão, L., Tundisi, L. L., Ataide, J. A., Souto, E. B., Mazzola, P. G. 2020. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. In *Plants*, vol. 9, no. 5, pp. 651. ISSN 2223-7747, Dostupné na: doi: org/10.3390/plants9050651
- Dello, S. G., Prado, N. I. 2021. The Inhibitory Effect of Paragis (*Eleusine Indica*) Stem Extract on the Growth of *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli*. In *Asian Scientific Journal*, vol. 11, no. 1. ISSN 1992-1454, Dostupné na: doi: org/10.7828/ajoh.v11i1.1410
- Farhat, A., Benmoussa, H., Bachoual, R., Nasfi, Z., Elfalleh, W., Romdhane, M., Bouajila, J. 2017. Efficiency of the optimized microwave assisted extractions on the yield, chemical composition and biological activities of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. In *Food and Bioproducts Processing*, vol. 105, pp. 224-233. ISSN Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fbp.2017.07.011
- Fikri-Benbrahim, K., Chraïbi, M., Farah, A., Elamin, O., Iraqui, H. 2020. Characterization, antioxidant, antimycobacterial, antimicrobial effects of Moroccan rosemary essential oil, and its synergistic antimicrobial potential with carvacrol. In *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, vol. 11, no. 1, pp. 25. ISSN 0976-2094, Dostupné na: doi: org/10.4103/japtr.japtr\_74\_19
- Göksen, G., Fabra, M. J., Ekiz, H. I., López-Rubio, A. 2020. Phytochemical-loaded electrospun nanofibers as novel active edible films: Characterization and antibacterial efficiency in cheese slices. In *Food Control*, vol. 112, pp. 107133. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodcont.2020.107133
- Göksen, G., Fabra, M. J., Pérez-Cataluña, A., Ekiz, H. I., Sanchez, G., López-Rubio, A. 2021. Biodegradable active food packaging structures based on hybrid cross-linked electrospun polyvinyl alcohol fibers containing essential oils and their application in the preservation of chicken breast fillets. In *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 27, pp. 100613. ISSN 2214-2894, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fpsl.2020.100613
- Goncagül, G., Güceyü, Ç., Günaydin, E. (2020). *Cotinus coggygria* Scop. Ekstraktının *İn-Vitro* Antibakteriyal Aktivitesinin Araştırılması. In *Van Veterinary Journal*,

- vol. 31, no. 3, pp. 127-132. ISSN 2149-8644, Dostupné na: doi: org/10.36483/vanvetj.742535
- Hamidpour, R., Handipour, S., Elias, G. 2017. *Rosmarinus officinalis* (Rosemary): A Novel Therapeutic Agent for Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer, Antidiabetic, Antidepressant, Neuroprotective, Anti-Inflammatory and Anti-Obesity Treatment. In *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*, vol. 1, no. 4. ISBN: 25741241, Dostupné na: doi: org/10.26717/BJSTR.2017.01.000371
- Irshad, M., Ali Subhani, M., Ali, S., Hussain, A. 2020. Biological Importance of Essential Oils. Essential Oils - Oils of Nature. Dostupné na: doi:org/10.5772/intechopen.87198
- Jafari-Sales, A., Bolouri, P. 2018. Evaluation of the antimicrobial effects of *Glycyrrhiza glabra* L. on some gram positive and gram negative pathogenic bacteria in laboratory conditions. In *Jorjani Biomedicine Journal*, vol. 6, no. 4, pp. 78.84. ISSN 2645-3509, Dostupné na: doi: org/10.29252/jorjanibiomedj.6.4.78
- Jafari-Sales, A., Pashazadeh, M. 2020. Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. In *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, vol. 3, no. 1, pp. 62–69. ISSN 2250-3137, Dostupné na: doi: org/10.38001/ijlsb.693371
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.-J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.-J., Zu, Y.-G., Liu, X.-L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. In *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 32, no. 1, pp. 63-68. ISSN 1382-6689, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.etap.2011.03.011
- Kloy, A., Ahmad, J., Yusuf, U., Muhammad, M. 2020. Antibacterial Properties of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*). In *South Asian Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 02, no. 01, pp. 4-7. ISSN 1818-0876, Dostupné na: doi: org/10.36346/sarj-ps.2020.v02i01.002
- Mavalizadeh, A., Fazlara, A., PourMahdi, M., Bavarsad, N. 2022. The effect of separate and combined treatments of nisin, *Rosmarinus officinalis* essential oil (nanoemulsion and free form) and chitosan coating on the shelf life of refrigerated chicken fillets. In *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 16, no. 6, pp. 4497-4513. ISSN Dostupné na: doi: org/10.1007/s11694-022-01541-9
- Megzari, A., Farah, A., Houssaini, M.I., EL Hadrami, E.M. 2015. Provenance Effect on the Yield, Chemical Composition and Antibacterial Activity of Moroccan Rosemary Essential Oils. *Der Pharma Chemica*, vol. 7, pp. 9–22. ISSN 0975-413X.
- Nieto, G., Ros, G., Castillo, J. 2018. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. In *Medicines*, vol. 5, no. 3, pp. 98. ISSN 2305-6320, Dostupné na: doi: org/10.3390/medicines5030098
- Özcan, M. 2003. Antioxidant Activities of Rosemary, Sage, and Sumac Extracts and Their Combinations on Stability of Natural Peanut Oil. In *Journal of Medicinal Food*, vol. 6, no. 3, pp. 267-270. ISSN 1096-620X, Dostupné na: doi: org/10.1089/10966200360716698
- Padalia, R. C., Verma, R. S., Chauhan, A., Goswami, P., Verma, S. K., Darokar, M. P. 2015. Chemical composition of *Melaleuca linarrifolia* Sm. from India: a potential source of 1,8-cineole. In *Industrial Crops and Products*, vol. 63, pp. 264-268. ISSN 0926-6690, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.indcrop.2014.09.039
- Peng, Y., Yuan, J., Liu, F., Ye, J. 2005. Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. In *Journal of Pharmaceutical*

- and Biomedical Analysis*, vol. 39, no. 3–4, pp. 431-437. ISSN 0731-7085, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.jpba.2005.03.033
- Sedighi, R., Zhao, Y., Yerke, A., Sang, S. 2015. Preventive and protective properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in obesity and diabetes mellitus of metabolic disorders: a brief review. In *Current Opinion in Food Science*, vol. 2, pp. 58-70. ISSN 2214-7993, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.cofs.2015.02.002
- Shwaiki, L. N., Lynch, K. M., Arendt, E. K. 2021. Future of antimicrobial peptides derived from plants in food application – A focus on synthetic peptides. In *Trends in Food Science and Technology*, vol. 112, pp. 312-324. ISSN 0924-2244, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.tifs.2021.04.010
- Soltani, A., Haouel-Hamdi, S., Sadraoui Ajmi, I., Djebbi, T., Ben Abada, M., Yangui, I., Chouachi, N., Hassine, K., Majdoub, H., Messaoud, C., Mediouni Ben Jemâa, J. 2022. Insights for the control of dried-fruit beetle *Carpophilus hemipterus* (Nitidulidae) using rosemary essential oil loaded in chitosan nanoparticles. In *International Journal of Environmental Health Research*, vol. 33, no. 12, pp. 1243-1253. ISSN 0960-3123, Dostupné na: doi: org/10.1080/09603123.2022.2083089
- Vahdat, S.M., Khavarpour, M., Kazemi, S. 2019. Chemical Composition, Antimicrobial and Analgesic Properties of *Rosmarinus officinalis* L. from North of Iran. In *Journal of Medicinal plants and By-Products*, vol. 9, pp. 107-114. ISSN 2588-3739, Dostupné na: doi: 10.22092/JMPB.2020.121757
- Yesil-Celiktas, O., Sevimli, C., Bedir, E., Vardar-Sukan, F. 2010. Inhibitory Effects of Rosemary Extracts, Carnosic Acid and Rosmarinic Acid on the Growth of Various Human Cancer Cell Lines. In *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 65, no. 2, pp. 158-163. ISSN 0921-9668, Dostupné na: doi: org/10.1007/s11130-010-0166-4
- Zhang, W., Ahari, H., Zhang, Z., Jafari, S. M. 2023. Role of silica (SiO<sub>2</sub>) nano/micro-particles in the functionality of degradable packaging films/coatings and their application in food preservation. In *Trends in Food Science and Technology*, vol. 133, pp. 75-86. ISSN 0924-2244, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.tifs.2023.01.009



## Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice ruže damascénskej v podmienkach *in vitro* a *in situ*

### Antimicrobial activity of Damask rose essential oil under *in vitro* and *in situ* conditions

Andrea VEREŠOVÁ, Miroslava KAČÁNIOVÁ

Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

#### Abstrakt

*Rosa damascena* an important species as a source of rose oil, is one of the oldest rose species grown in Iran. The large cultivation area of Damask rose in Iran represents a potentially rich source of genetic resources for the species. The aim of this study was the antimicrobial potential of *Rosa x damascena* essential oil (RDEO) against phytopathogenic bacteria and microscopic filamentous fungi. In our study, the disc diffusion method and minimum inhibitory concentration were evaluated in an *in vitro* study and vapor phase on apple, pear, potato and carrot in an *in situ* study. *Pectobacterium carotovorum* was the most sensitive of all microorganisms tested, while RDEO showed strong inhibitory activity with disc diffusion method. The lowest MIC 50 (4.23 µg/ml) and MIC 90 (4.48 µg/ml) values were evaluated against *Agrobacterium radiobacter*. At the highest concentration of essential oil (500 µl/l), *A. radiobacter* was the most strongly inhibited microorganism on the apple model. At the 250 µl/concentration of essential oil, *P. carotovorum* was the most strongly inhibited microorganism in the pear model. At the lowest concentration of essential oil (62.5 µl/l), *Botrytis cinerea* was the most strongly inhibited microorganism on the potato model and *P. carotovorum* on the carrot model.

**Keywords:** phytopathogenic microorganisms, *Rosa x damascena*, antimicrobial activity, vegetable and fruits model

#### ÚVOD

Rod *Rosa*, ktorý patrí do čelade Rosaceae, zahŕňa okolo 200 druhov a viac ako 18 000 kultivarov (Gudin, 1999). Ruže sa používajú aj v potravinárskom, parfumérskom a kozmetickom priemysle už mnoho rokov. Rôzne druhy ruží, a to *Rosa damascena* (damascénska ruža) a *Rosa bourboniana* (Edwardova ruža) sa bežne používajú na extrakciu rastlinných silíc a produkciu ružovej vody. Kvitnutie v *R. bourboniana* je sporadické a kvitne trikrát do roka, t. j. apríl – máj, júl – august a polovica októbra; však apríl – máj je hlavným obdobím kvitnutia (Sood a Nagar, 2004). Pestuje sa výlučne na extrakciu ružovej vody, lebo výroba silice z kvetov je veľmi nízka. Rastlinná silica tejto rastliny má upokojujúce účinky a pomáha zmierniť depresiu, smútok, nervové napätie a stres, a preto sa tiež používa v aromaterapii po celom svete. Využitie ruže je v parfumerstve, a rovnaké využitie má aj jej rastlinná silica. U druhu *R. damascena* boli zistené antioxidačné a antimikrobiálne látky (Achuthan *et al.*, 2003; Basim a Basim, 2003; Kumar *et al.*, 2009; Servi *et al.*, 2020), a anti-HIV vlastnosti (Mahmood *et al.*, 1996). Rastlinná silica sa používa aj pri zlom krvnom obeh, astme a kašli, nepravidelnej menštruácii, leucorrhoei a poruchách funkcie mater-

nice. Používa sa aj pri kožných ochoreniach, možno ju použiť na suchú pokožku, ekzémy a citlivú pokožku. Parná terapia ružovou silicou pomáha pri niektorých alergiách, bolestiach hlavy, migrény a pod. (Kumar *et al.*, 2014). Genetická a morfológická rozmanitosť kultivarov ruží bola študovaná v Bulharsku (Rusanov *et al.*, 2005; Rusanov *et al.*, 2012), Indii (Kaul *et al.*, 2009), Iráne (Kiani *et al.*, 2009) a Pakistané (Ahmed, 2018). Bolo uskutočnené množstvo experimentov, kde sa zisťovalo chemické zloženie silice z damaškej ruže mnohými výskumníkmi (Almasirad *et al.*, 2007; Rusanov *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2013). V Indii je ružová silica väčšinou pestovaná v severných štátoch vrátane Himachalu Pradesh, Džammú a Kašmír, Rajasthan, Haryana, Uttar Pradesh a niektoré oblasti Pandžábu na 2500-3000 hektárov pôdy a ročne sa vyrába asi 200 kg ružovej silice. Uskutočnilo sa niekoľko pokusov na porovnanie výkonnosti odrôd ruže pre výrobu ružovej silice a ich chemické zloženie (Mostafavi a Afzali, 2009; Kovatcheva *et al.*, 2011; Verma *et al.*, 2011).

Cieľom našej štúdie bolo sledovanie antimikrobiálnej aktivity rastlinnej silice *Rosa × damascena* proti rastlinným patogénom v *in vitro* podmienkach diskovou difúznou metódou a metódou minimálnej inhibičnej koncentrácie a *in situ* podmienkach za použitia parnej fázy na ovocí a zelenine.

## MATERIÁL A METODIKA

### Rastlinná silica

Rastlinná silica *Rosa × damascena* (RDRS) bola zakúpená od firmy Hanus (Nitra, Slovensko). Prvým krokom je výroba ružového konkréту, ktorý sa získava extrakciou kvetov ruže damašskej. Následne sa táto príjemná voskovitá substancia rozpustí v čistom etanole a schladí. Vymrazený vosk sa odfiltruje a z roztoku sa odparí všetok lieh. Výsledkom je ružové absolute. Krajina pôvodu rastlinnej silice bolo Turecko. RS bola skladovaná v tme pri teplote 4 °C. Hlavnými zložkami silice sú enyletyl alkohol 45 – 71 %, cirtronellol 6 – 12 %, geraniol 2,5% – 7,5 %, nerol 1,5 % – 6,5 %.

### Testované mikroorganizmy

V práci boli použité fytopatogénne druhy mikroorganizmov: *Xanthomonas arboricola* Vauterin *et al.* 1995VP CCM 1441, *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945AL CCM 1008, *Pseudomonas syringae* van Hall 1902AL CCM 2868, *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942AL CCM 2926, *Monilia fructigena* CCM F-300, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo CCM 8014, *Botrytis cinerea* Persoon : Fries F-314. Čisté kultúry mikroorganizmov boli získané z českej zbierky mikroorganizmov (Brno, Česká republika).

### Disková difúzna metóda

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Rosa × damascena* (RDRS) bola stanovená diskovou difúznou metódou. Bakteriálne druhy sa kultivovali 24 hodín na Mueller Hinton agare (MHA, Oxoid, Basingstoke, UK) pri teplote 37 °C a mikroskopické vlákňité huby (MVB) na Sabouraud Dextrose agar (SDA, Oxoid, Basingstoke, UK) počas 5 dní. Mikrobiálne inokulum sa upravilo na optickú hustotu 0,5 McFarlandovho štandardu ( $1,5 \times 10^8$  KTJ/ml) a 100  $\mu$ l sa pridalo na platne s MHA a SDA. Sterilné papierové disky 6 mm boli nasýtené 10  $\mu$ l RDRS a umiestnili sa na vrstvu agaru obsahujúcu suspenziu mikroorganizmov. Baktérie sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH 5 dní pri teplote 20 °C. Dve antibiotiká ATB (Gentamicin, Fluconazol, Oxoid, Basingstoke, UK) boli použité ako

pozitívne kontroly pre baktérie a MVH. Ako negatívna kontrola slúžili disky impregnované 0,1 % DMSO (dimetylsulfoxid, Centralchem, Bratislava, SK). Analýzy sa uskutočňovali v trojnásobnom opakovaní.

### Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC)

Mikrobiálne inokulum sa kultivovalo 24 hodín v Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre baktérie pri teplote 37 °C a v Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid, Basingstoke, UK) pre MVH pri teplote 25 °C. Alikvotná časť 50 µl inokula s optickou hustotou 0,5 McFarland sa pridala na 96-jamkovú mikrotitračnú platňu. Následne sa RDRS pripravila sériovým riedením na koncentračný rozsah od 400 mg/ml do 0,2 mg/ml v MHB, SDB a 100 µl suspenzie sa dôkladne premiešalo s bakteriálnym inokulom v jamkách. Bakteriálne vzorky sa inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C a MVH sa inkubovali 24 hodín pri teplote 25 °C. MHB, SDB s RS bol použitý ako negatívna kontrola a MHB, SDA s inokulom bol použitý ako pozitívna kontrola reprezentujúca neinhibovaný rast. Pre neadherentné mikroorganizmy sa absorbančia merala po inkubačnej perióde pri 570 nm spektrofotometrom Glomax (Promega Inc., Madison, WI, USA).

### In situ analýzy

Antimikrobiálna analýza parnej fázy RDRS *in situ* bola testovaná na všetkých baktériách a MVH na modeli jablko, hruška, zemiak a mrkva. Zahriaty MHA, SDA sa nalial do 60 mm Petriho misiek (PD) a do veka PD. Nakrájané jablká, hrušky, zemiaky a mrkvy na plátky (o veľkosti 0,5 mm) sa umiestnili na agar. Potom sa pripravilo inokulum, ako bolo opísané vyššie. RDRS sa zriedila v etylacetáte na 500, 250, 125 a 62,5 µl/l a naniesla sa na sterilný filtračný papier. Po odparení zostávajúceho etylacetátu (1 minúta) sa misky uzavreli a inkubovali pri teplote 37 °C pre baktérie a 25 °C pre MVH počas 7 dní. Inhibícia rastu baktérií a MVH bola hodnotená stereologickou metódou.

*In situ* mikrobiálny rast bol stanovený pomocou stereologických metód. V tomto koncepte sa objemová hustota (Vv) mikrobiálnych kolónií najprv odhadla pomocou softvéru ImageJ počítaním bodov stereologickej mriežky zasahujúcich kolónie (P) a tie (p) spadajúce do referenčného priestoru (použitý rastový substrát). Objemová hustota mikrobiálnych kolónií sa následne vypočítala nasledovne:  $Vv (\%) = P/p$ . Antimikrobiálna aktivita EO bola definovaná ako percento inhibície rastu mikroorganizmov (BGI)

$$BGI = [(C - T)/C] \times 100,$$

kde C a T bol mikrobiálny rast (vyjadrené ako Vv) v kontrolnej skupine a experimentálnej skupine, resp. negatívne výsledky predstavovali stimuláciu rastu.

### Štatistické vyhodnotenie

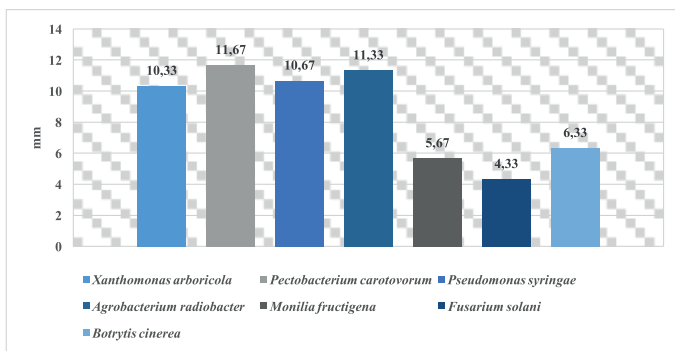
Všetky analýzy boli vykonané v trojnásobnom opakovaní. Štatistická variabilita údajov bola spracovaná pomocou softvéru Microsoft-Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antimikrobiálna aktivita rastlinnej silice *Rosa × damascena* (RDRS) bola uskutočnená diskovou difúznou metódou a výsledky sú uvedené na obrázku 1 a minimálnou inhibičnou koncentráciou a výsledky sú uvedené na obrázku 2. Najsilnejšia antimikrobiálna aktivita RDRS bolo zistená proti fytopatogénnej baktérii *Pectobacterium carotovorum* (11,67 mm) a najnižšia bolo zistená proti MVH *Fusarium solani* (4,33 mm).

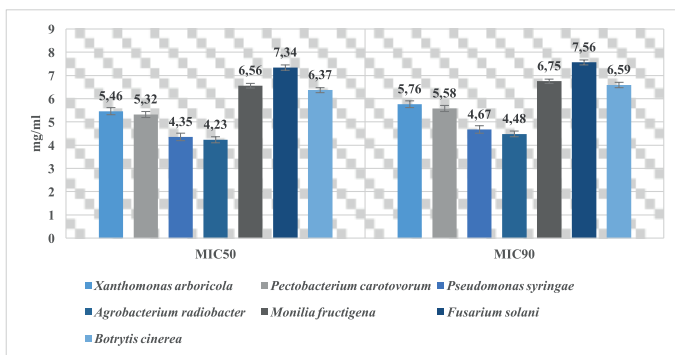
V práci Shohayeb a *et al.* (2014) silica z ruže damascénskej vykazovala široké spektrum

antimikrobiálnych účinkov proti testovaným organizmom. Zostupné poradie antifungálnej aktivity silice z ruže bolo *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger* a *Candida albicans*. Gram-pozitívne baktérie, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a *Streptococcus pyogenes* boli citlivejšie ako gramnegatívne baktérie a mali MIC a MBC v rozmedzí 0,125 až 2 mg/ml, respektíve 0,5 až 4 mg/ml. *Acinetobacter baumannii*, ktorý je prirodzene odolný voči väčšine antibiotík, bol relatívne citlivejší ako iné gramnegatívne baktérie. Naopak, *Klebsiella pneumoniae* bola najmenej citlivá gramnegatívne baktéria. MIC Gram-pozitívnych baktérií pre rôzne extrakty boli významne nižšie ako hodnoty *K. pneumoniae*. Baktéria *Mycobacterium phlei* bola stredne citlivá v porovnaní s grampozitívnymi a gramnegatívnymi baktériami.



Obrázok 1. Antimikrobiálna aktivita RDRS diskovou difúznou metódou v mm

MIC 50 a MIC 90 boli stanovené analýzou minimálnych inhibičných koncentrácií. Najnižšie hodnoty MIC 50 (4,23 mg/ml) a MIC 90 (4,48 mg/ml) boli zaznamenané u baktérii *Agrobacterium radiobacter* a najvyššie hodnoty boli zistené u *Fusarium solani* MIC 50 (7,34 mg/ml) a MIC 90 (7,56 mg/ml).



Obrázok 2. Minimálna inhibičná koncentrácia RDRS v mg/ml

V štúdií Demirel (2022) *E coli* bola inhibovaná minimálnou koncentráciou 125 µl/ml riedenia silicou z ruže štandardného kmeňa aj CI, *B. subtilis* minimálnou koncentráciou 15,62 µl/ml a 31,25 µl/ml riedenia silice z ruže štandardného kmeňa a CI, v uvedenom poradí, a *S. aureus* minimálnou koncentráciou 31,25 µl/ml a 125 µl/ml štandardného kmeňa zriedeného silicou z ruže a CI, v danom poradí. Zistilo sa teda, že silica z ruže môže vykazovať antimikrobiálnu aktivitu u grampozitívnych aj gramnegatívnych baktérií.

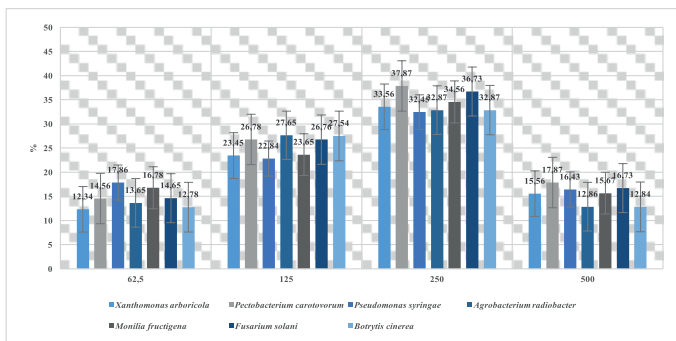
V súčasnosti sa preferencie spotrebiteľov presúvajú smerom k potravinám, ktoré sú bez chemických prísad a vykazujú čerstvejšie a prirodzenejšie vlastnosti (da Cruz-Cabral *et al.*, 2013). V súlade s týmto sa skúmajú alternatívne prístupy k zachovaniu kvality potravín. Vybrané metabolity produkované rastlinami patria medzi perspektívnejšie alternatívy, pretože rastliny produkujú široké spektrum rôznych zlúčenín, ktoré majú často antimikrobiálne vlastnosti. Rastlinné silice (RS) a ich zložky majú preukázateľný rozsah antibakteriálnej aktivity, ako aj antifungálne, insekticídne a antioxidačné vlastnosti (Tajkarimi *et al.*, 2010; Hyltdgaard *et al.*, 2012). Záujem o RS vzrastá kvôli ich relatívnej miere zdravotne bezpečnosti, sú ľahko rozložiteľné, šetrné k životnému prostrediu a nefytotoxické (da Cruz-Cabral *et al.*, 2013). Rôzne štúdie *in vitro* uvádzajú RS v kvapalnej fáze vykazujúcej vysokú účinnosť proti patogénom prenášaným potravinami a kaziacími mikroorganizmom; všeobecne, je však potrebná vyššia koncentrácia RS, ktorá dosahuje rovnaký účinok v potravinách ako *in vitro*. Preto by sa RS mali používať ako prírodné konzervačné látky, pretože môžu upravovať chuť jedla (Gutierrez *et al.*, 2008). Boli navrhnuté niektoré alternatívy na minimalizáciu koncentrácie RS potrebnej na inhibíciu/inaktiváciu mikroorganizmov, ako je použitie RS v ich prchavej parnej fáze, čím je možné znížiť množstvo potrebné na zabezpečenie požadovaného antimikrobiálneho účinku (Boukhatem *et al.* 2014). Bioaktivita RS v plynnej fáze je zaujímavou alternatívou, ktorá robí ich potenciálne užitočnými ako antimikrobiálne činidlá a konzervanty pre skladovaných čerstvých produktov; sľubné výsledky sa už získali, najmä pre baktérie a huby (Sacchetti *et al.*, 2005; Moreira *et al.*, 2005; Murbach Teles Andrade *et al.*, 2014).

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím modelu jablka ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RDRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 3). Pri najvyššej koncentrácii silice (500 µl/l) bol *A. radiobacter* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (36,87%) na modeli jablka. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Pseudomonas syringae*.

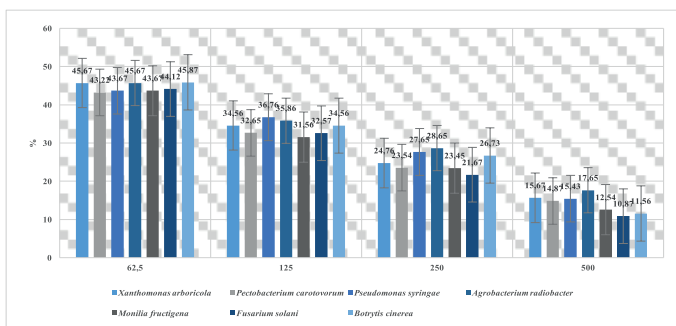
Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím hrušky ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RDRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 4). Pri najvyššej koncentrácii silice (250 µl/l) bol *Pectobacterium carotovorum* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (37,87%) na hruške. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. syringae*.

Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím zemiaka ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RDRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 5). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *Botrytis cinerea* najsilnejšie inhibovaným mikroorganizmom (45,87%) na zemiaku. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *P. carotovorum*.

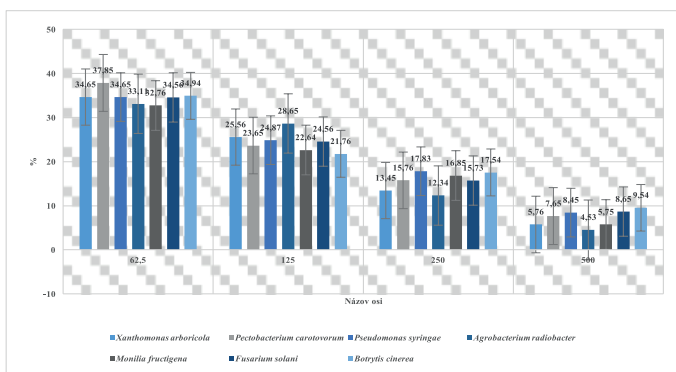
Antimikrobiálna analýza *in situ* s použitím mrkvy ukázala, že všetky mikroorganizmy boli inhibované výparmi RDRS vo všetkých testovaných koncentráciách (obrázok 6). Pri najnižšej koncentrácii silice (62,5 µl/l) bol *P. carotovorum* najsilnejšie inhibovaným mikro-



Obrázok 4. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli hrušky v %



Obrázok 5. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli zemiakov v %



Obrázok 6. Antimikrobiálna aktivita na potravinovom modeli mrkvy v %

organizmom (37,85 %) na mrkve. Najslabšia inhibícia pri tejto koncentrácii bola pozorovaná pre *Monilia fructigena*.

Wang (2003) zistil, že niektoré prchavé zlúčeniny RS z čajovníka používané v aktívnych obaloch na konzervovanie malín pomocou modifikovanej atmosféry a skladovaní pri 10 °C si zachovali kvalitu a výrazne oddialila kazenie malín. Serrano *et al.* (2005) vyvinuli aktívne balenie obsahujúce eugenol, mentol, tymol a eukalyptol pre čerešne počas skladovania a zistilo sa, že rast mikroskopických vlákňitých húb sa výrazne znížil; okrem toho kvalita čerešní bola vylepšená, zachovávaajúca farbu a pevnosť ovocia. Tzortzakis (2007) hodnotil kvalitu jahôd a paradajok vystavených výparom eukalyptovej a škoricovej RS. V tejto práci podobne ako v našej bola zistená ochrana proti mikroorganizmom a zvýšenú kvalitu ovocia. Suhr a Nielsen (2003) hodnotili parnú fázu škorice, bobkového listu, klinčeku, citrónovej trávy, horčice, pomaranča, šalvie, tymiánu a ruže na konzervovanie ražného chleba a uviedla, že parná fáza RS horčice a citrónovej trávy boli najviac účinné. Du *et al.* (2009) študovali antimikrobiálnu aktivitu RS z korenia, cesnaku a oregana v paradajkových filmoch proti *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* a *Listeria monocytogenes* a ukázali, že paradajkové filmy impregnované RS inhibovali rast testovaných mikroorganizmov spôsobom závislým od koncentrácie. Phillips *et al.* (2012) testovali protiplesňový účinok zmesi RS z bergamotu a pomaranča v parnej fáze na paradajky. Táto štúdia ukázala, že zmes fungovala ako účinné antimykotikum bez ovplyvnenia senzorických vlastností testovaných paradajok.

## ZÁVER

Antimikrobiálna účinnosť rastlinných silíc proti mnohým potravinovým ako aj rastlinným mikroorganizmom pri aplikácii priamym kontaktom bola potvrdená v mnohých štúdiách. Avšak, parná fáza rastlinných silíc nebola dôkladne preskúmaná. V našej práci sa nám podarilo potvrdiť výsledky metódou diskovej difúznej metódy a minimálnej inhibičnej koncentrácie, avšak naše výsledky z parnou fázou použitím RS z ruže neboli až tak jednoznačne preukázateľné. Je dobre známe, že antimikrobiálna aktivita RS závisí najmä od ich chemického zloženia. Je tiež dôležité; však pochopiť prchavosť týchto zlúčenín, ako aj metodológie použitej na hodnotenie antimikrobiálnej účinnosti v parnej fáze. Aj keď stále neexistuje štandardná metodika určovania činnosti EO v plynnej fáze sú doteraz uvedené výsledky povzbudivé a naznačujú možné aplikácie v konzervovaní potravín.

## POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu Agentúry na výskum a vývoj SR na základe Zmluvy č. APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a konzerváciu potravín“.

## Kontaktná adresa:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, miroslava.kacaniova@gmail.com

## LITERATÚRA

- Achuthan, C. R., Babu, B. H., Padikkala, J. 2003. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Rosa damascena*. In *Pharmaceutical Biology*, vol. 41, no. 5, pp. 357–361. ISSN 1388-0209, Dostupné na: doi: org/10.1076/phbi.41.5.357.15945
- Almasirad, A., Amanzadeh, Y., Taheri, A., Iranshahi, M. 2007. Composition of a Historical Rose Oil Sample (*Rosa damascena* Mill., *Rosaceae*). In *Journal of Essential Oil Research*, vol. 19, no. 2, pp. 110–112. ISSN 1041-2905, Dostupné na: doi: org/10.1080/10412905.2007.9699241
- Basim, E., Basim, H. 2003. Antibacterial activity of *Rosa damascena* essential oil. In *Fito-terapia*, vol. 74, no. 4, pp. 394–396. ISSN 0367-326X, Dostupné na: doi: org/10.1016/s0367-326x(03)00044-3
- da Cruz Cabral, L., Fernández Pinto, V., Patriarca, A. 2013. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 166, no. 1, pp. 1-14. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026
- Demirel, S. 2022. Medical Evaluation of the Antimicrobial Activity of Rose Oil on Some Standard Bacteria Strains and Clinical Isolates. In *Alternative Therapies In Health And Medicine*. vol. 28, no. 6, pp. 52-56. ISSN 1078-6791.
- Du, W., Olsen, C. W., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., Levin, C. E., Mandrell, R., Friedman, M. 2009. Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor-Phase Methods. In *Journal of Food Science*, vol 74, no. 7. ISSN 0022-1147, Dostupné na: doi: org/10.1111/j.1750-3841.2009.01289.x
- Gudin, S. 1999. Rose: Genetics and Breeding. In *Plant Breeding Reviews*, pp. 159–189. ISSN 0730-2207, Dostupné na: doi: org/10.1002/9780470650134.ch3
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 124, no. 1, pp. 91-97. ISSN 0168-1605, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.02.028
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. 2012. Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. In *Frontiers in Microbiology*, vol. 3. ISSN 1664-302X, Dostupné na: doi: org/10.3389/fmicb.2012.00012
- Kaul, K., Karthigeyan, S., Dhyani, D., Kaur, N., Sharma, R. K., Ahuja, P. S. 2009. Morphological and molecular analyses of *Rosa damascena* × *R. bourboniana* interspecific hybrids. In *Scientia Horticulturae*, vol. 122, no. 2, pp. 258-263. ISSN 0304-4238, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.scienta.2009.05.027
- Kiani, M., Zamani, Z., Khalighi, A., Fatahi, R., Byrne, D. H. 2009. Microsatellite analysis of Iranian Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) germplasm. In *Plant Breeding*, vol. 129, pp. 551-557. ISSN 1439-0523, Dostupné na: doi: org/10.1111/j.1439-0523.2009.01708.x
- Kovatcheva, N., Zheljzkov, V. D., Astatkie, T. 2011. Productivity, Oil Content, Composition, and Bioactivity of Oil-bearing Rose Accessions. In *Horticultural Science*, vol. 46, no. 5, pp. 710–714. ISSN 0862-867X, Dostupné na: doi: org/10.21273/hortsci.46.5.710
- Kumar, N., Bhandari, P., Singh, B., Bari, S. S. 2009. Antioxidant activity and ultra-performance LC-electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for



- phenolics-based fingerprinting of Rose species: *Rosa damascena*, *Rosa bourboniana* and *Rosa brunonii*. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47, no. 2, pp. 361-367. ISSN 0278-6915, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.fct.2008.11.036
- Kumar, R., Sharma, S., Sood, S., Agnihotri, V. K., Singh, B. 2013. Effect of diurnal variability and storage conditions on essential oil content and quality of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) flowers in north western Himalayas. In *Scientia Horticulturae*, vol. 154, pp. 102-108. ISSN 0304-4238, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.scienta.2013.02.002
- Kumar, R., Sharma, S., Sood, S., Agnihotri, V. K., Singh, V., Singh, B. 2013. Evaluation of several *Rosa damascene* varieties and *Rosa bourboniana* accession for essential oil content and composition in western Himalayas. In *Journal of Essential Oil Research*, vol. 26, no. 3, pp. 147-152. ISSN Dostupné na: doi: org/10.1080/10412905.2013.829004
- M. Ahmed, S. 2018. Phylogenetic analysis of *Rosa damascena* L. from Taif using DNA barcoding approach. In *Pakistan Journal of Botany*, vol. 51, no. 1. ISSN 0556-3321, Dostupné na: doi: org/10.30848/pjb2019-1(32)
- Mahmood, N., Piacente, S., Pizza, C., Burke, A., Khan, A. I., Hay, A. J. 1996. The Anti-HIV Activity and Mechanisms of Action of Pure Compounds Isolated from *Rosa damascena*. In *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 229, no. 1, pp. 73-79. ISSN 0006-291X, Dostupné na: doi: org/10.1006/bbrc.1996.1759
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., del Valle, C. E., Roura, S. I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. In *LWT Food Science and Technology*, vol. 38, no. 5, pp. 565-570. ISSN 0023-6438, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.lwt.2004.07.012
- Mostafavi, A., Afzali, D. 2009. Chemical composition of the essential oils of *Rosa damascena* from two different locations in Iran. In *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 45, no. 1, pp. 110-113. ISSN 0009-3130, Dostupné na: doi: org/10.1007/s10600-009-9236-y
- Murbach Teles Andrade, B. F., Nunes Barbosa, L., da Silva Probst, I., Fernandes Júnior, A. 2013. Antimicrobial activity of essential oils. In *Journal of Essential Oil Research*, vol. 26, no. 1, pp. 34-40. ISSN 1041-2905, Dostupné na: doi: org/10.1080/10412905.2013.860409
- Nadjib, B. M., Amine, F. M., Abdelkrim, K., Fairouz, S., Maamar, M. 2014. Liquid and vapour phase antibacterial activity of eucalyptus globulus essential oil susceptibility of selected respiratory tract pathogens. In *American Journal of Infectious Diseases*, vol. 10, no. 3, pp. 105-117. ISSN 1553-6203, Dostupné na: https://doi.org/10.3844/ajid-sp.2014.105.117
- Phillips, C. A., Laird, K., Allen, S. C. 2012. The use of Citri-V™ — An antimicrobial citrus essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* in vitro and on food. In *Food Research International*, vol. 47, no. 2, pp. 310-314. ISSN 0963-9969, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodres.2011.07.035
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Rusanova, M., Atanassov, I. 2011. Traditional *Rosa damascena* flower harvesting practices evaluated through GC/MS metabolite profiling of flower volatiles. In *Food Chemistry*, vol. 129, no. 4, pp. 1851-1859. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodchem.2011.05.132
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Rusanova, M., Atanassov, I. 2012. Low variability of flower volatiles of *Rosa damascena* Mill. plants from rose plantations along the Rose Valley, Bulgaria. In *Industrial Crops and Products*, vol. 37, no. 1, pp. 6-10. ISSN 0926-6690, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.indcrop.2011.11.010

- Rusanov, K., Kovacheva, N., Vosman, B., Zhang, L., Rajapakse, S., Atanassov, A., Atanassov, I. 2005. Microsatellite analysis of *Rosa damascena* Mill. accessions reveals genetic similarity between genotypes used for rose oil production and old Damask rose varieties. In *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 111, no. 4, pp. 804-809. ISSN 0040-5752, Dostupné na: doi: org/10.1007/s00122-005-2066-9
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. In *Food Chemistry*, vol. 91, no. 4, pp. 621-632. ISSN 0308-8146, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodchem.2004.06.031
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Valero, D. 2005. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 6, no. 1, pp. 115-123. ISSN 1466-8564, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.ifset.2004.09.001
- Servi, H., Vatanever, C., Doğan, A., Majeed, V. 2020. Antibacterial activity and essential oil composition of *Calendula arvensis* L. In *International Journal of Secondary Metabolite*, vol. 7, no. 4, pp. 229-236. ISSN 2148-6905, Dostupné na: doi: org/10.21448/ijsm.676985
- Shohayeb, B., Abdel-Hameed, E.S.S., Bazaid, S.A., Maghrabi, I. 2014. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* Mill. essential oil, different extracts of rose petals. In *Global Journal of Pharmacology*, vol. 8, no. 1, pp. 1-7. ISSN 1992-0075, Dostupné na: doi: 10.5829/idosi.gjp.2014.8.1.81275
- Sood, S., Nagar, P. K. 2004. Changes in endogenous polyamines during flower development in two diverse species of rose. In *Plant Growth Regulation*, vol. 44, no. 2, pp. 117-123. ISSN 0721-7595, Dostupné na: doi: org/10.1023/b:grow.0000049413.87438.b4
- Suhr, K. I., Nielsen, P. V. 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 94, no. 4, pp. 665-674. ISSN 1364-5072, Dostupné na: doi: org/10.1046/j.1365-2672.2003.01896.x
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. In *Food Control*, vol. 21, no. 9, pp. 1199-1218. ISSN 0956-7135, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003
- Tzortzakis, N. G. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 8, no. 1, pp. 111-116. ISSN 1466-8564, Dostupné na: doi: org/10.1016/j.ifset.2006.08.001
- Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., Singh, A., Yadav, A. K. 2011. Volatile constituents of essential oil and rose water of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) cultivars from North Indian hills. In *Natural Product Research*, vol. 25, no. 17, pp. 1577-1584. ISSN 1478-6419, Dostupné na: doi: org/10.1080/14786419.2010.520162
- Wang, C. Y. 2003. Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. In *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 38, no. 8, pp. 869-875. ISSN 0950-5423, Dostupné na: doi: org/10.1046/j.0950-5423.2003.00758.x

## Sledovanie obsahu furfuralu a furfurylalkoholu v bielych vínach vyrievaných v rôznych typoch drevených sudov

### Monitoring the content of furfural and furfuryl alcohol in white wines aged in different types of wooden barrels

Miloš VIDLÁŘ<sup>1</sup>, Štefan AILER<sup>2</sup>, Lucia BENEŠOVÁ<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>BS vinařské potřeby s.r.o., Žižkovská 1230, CZ-691 02 Velké Bílovice

<sup>2</sup>Ústav záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva,  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

<sup>3</sup>VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre,  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

#### Abstract

The topic of barrel-aging white wine is somewhat controversial in professional circles and has been scarcely researched in the scientific field. Oak wood contains a high amount of volatile compounds that influence the aroma of wine aging in barrels. These compounds mainly include lactones, furfural and its derivatives, phenolic aldehydes, and volatile phenols. For the experiment, five grapevine varieties were selected: Riesling italico, Veltliner green, Pálava, Sauvignon Blanc, and Chardonnay. The wines fermented and aged for 12 months in different barrels. Spontaneous malolactic fermentation (MLF) occurred in all barrels, and malic acid was completely broken down. The content of furfural and furfuryl alcohol was determined using gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). The average furfural content in all wines varied significantly depending on the vintage and barrels, ranging from 140 to 5000  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . It was confirmed that more intense toasting transfers higher amounts of compounds formed by the thermal degradation of cellulose, including furfural, into the wine. A significant difference was found between the first and second use of the barrels. The proportion of the detected aromatic compounds in the wines decreased by 11.4 to 36.5% with the second use of the barrels. Yeasts can metabolize furfural into furfurylthiol, a compound with a strong coffee aroma, which is an important sensory descriptor.

**Keywords:** barrique, white wine, furfural, quality

#### ÚVOD

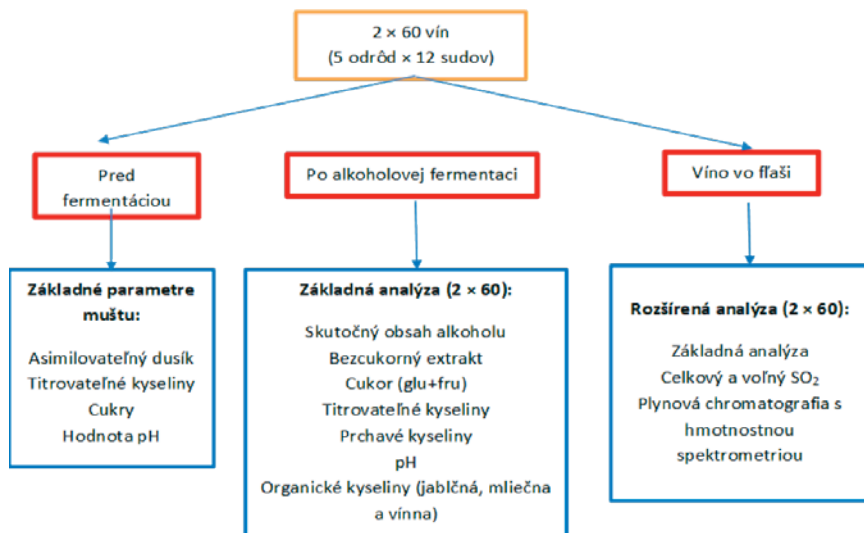
Tvorba veľkých červených vín tradične zahŕňa zrenie v drevených sudoch. Sudy majú svoje miesto aj pri výrobe špecifických bielych vín s vysokým archivačným potenciálom. V debnárstve sú vďaka požiadavkám producentov vína používané rôzne druhy, ale na základe kvalitatívnych výsledkov patria medzi najrozšírejšie dubové drevo (Ribéreau-Gayon a kol. 2006), najmä dub zimný (*Quercus petraea* L.), dub letný (*Quercus robur* L.) a americký dub biely (*Quercus alba* L.). Víno prechádza počas zrenia v dreve mnohými fyzikálno-chemickými modifikáciami, ktoré vedú k značným zmenám v ich zložení, farbe, stabilite a v sensorických vlastnostiach. V ostatných rokoch sa výskum zamerával na identifikáciu a kvantifikáciu aromatických zlúčenín uvoľnených počas zrenia vína v sudoch. Vanilín (vanilka), whisky laktóny (kokos), prchavé fenoly (korenitosť) a 2-furanmethanthiol (káva) sú pova-

žované za kľúčové molekuly spojené so zrením vína v dubových sudoch (Blanchard a kol. 2001). Chemické zloženie dubového dreva je ovplyvnené druhom duba, zemepisným pôvodom, lesným hospodárením, spôsobom spracovania dreva, obzvlášť sušením, a nakoniec intenzitou opálenia (Chira a Teissedre, 2015). Dubové drevo z pohľadu využiteľnosti pre barikové sudy sa skladá z vody, bunkových stien a vylúhovateľných látok. Dubové drevo obsahuje vysoké množstvo prchavých látok, ktoré majú vplyv na arómu vína zrejúceho v sude. Patria k nim predovšetkým laktóny, furfural a jeho odvodené zlúčeniny, fenolové aldehydy a prchavé fenoly. Toustovanie ovplyvňuje výraznejšie koncentráciu furánu, guajakolu, vanilínu a elagotanínov. Zo senzorického hľadiska sa výrazne zvyšuje vanilková aróma a znižuje horká chuť a adstringencia (trpkosť, drsnosť). Adstringencia vína sa zvyšuje s koncentráciou elagotanínov (Chira a Teissedre, 2013). Vína, ktoré chceme obohatiť o látky z ožehnutého dreva, by mali byť získané výhradne zo zdravého hrozna, ktorého cukornatosť dosiahla aspoň 23 °NM. Barrique vyžaduje bezcukorný extrakt vína najmenej 25 g.l<sup>-1</sup> a skutočný obsah alkoholu aspoň 13,0 % obj. Cieľom štúdie bolo zistiť vplyv zemepisného pôvodu a spôsobu výroby sudov na obsah furfuralu a furfurylalkoholu vo víne čo ulahčí výrobcovi výber suda pre konkrétny typ vína. Štúdia bola súčasťou rozsiahlej dizertačnej práce (Vidlář, 2024). Moreno a Peinad (2012) uvádzajú, že furánové aldehydy vznikajú z celulózy a hemicelulózy počas opálenia dreva. Medzi tieto aldehydy patria najmä furfural, 5-metylfurfural (5MF) a 5-hydroxymetylfurfural (5HMF). Ich aróma pripomína toustovaný chlieb, mandle alebo karamel. Ich koncentrácia vo víne závisí od intenzity opálenia suda a od dĺžky jeho kontaktu s vínom. Kvasinky môžu metabolizovať furfural na furfurylthiol, zlúčeninu silne voňajúcu po káve, ktorý je významným senzorickým deskriptorom.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Proces tvorby vína prebiehal vo výrobnom zázemí firmy Vinselekt Michlovský a.s., so sídlom v Rakvíciach v rokoch 2016 a 2017. Pre experiment bolo vybraných päť na Morave pomerne rozšírených odrôd, a to Rizling vlašský, Veltlínske zelené, Pálava, Sauvignon blanc a Chardonnay. Vína kvasili a zreli cca 12 mesiacov v rozdielnych sudoch. Vo všetkých sudoch spontánne prebehla MLF a kyselina jablčná bola úplne odbúraná.

Zdravé hrozno bolo zberané po dosiahnutí cukrnatosti 22 NM, obsah titrovateľných kyselín sa pohyboval nad 7 g.l<sup>-1</sup> a hodnota pH do 3,5. Výnimkou bol Rizling vlašský, ktorý pri cukrnatosti cez 24 °NM obsahoval len 4,5 g.l<sup>-1</sup> titrovateľných kyselín. Meranie cukrnatosti prebiehalo priebežne počas dozrievania refraktometrom vo vinici a pred zberom boli sledované parametre zisťované v laboratóriu. Hrozno bolo zberané ručne. Mušt každej z piatich odrôd bol naplnený do 12 rôznych dubových barikových sudov (Tabuľka 1) v dvoch opakovaniach, to znamená celkom do 120 sudov. Alkoholová (AF) aj malolaktická fermentácia (MLF) prebehli v sude. Štart AF bol vykonaný pomocou čistého kmeňa kvasiniek neutrálneho typu (Oenoferm Klosterneuburg-Erbsloeh Geisenheim). MLF prebehla spontánne. Výživa kvasiniek nebola aplikovaná. Fermentácia prebiehala v teplote prostredia 15 °C. Sledované prchavé látky sme stanovili pomocou plynovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS). Detekcia prebiehala pomocou hmotnostne selektívneho detektora s využitím elektronického nárazu (ionizačná energia 70 keV, teplota zdroja 230 °C, teplota kvadrupólu 150 °C, teplota prenosovej linky 260 °C) a selektívneho monitorovania iónov pre špecifickú detekciu cieľových zlúčenín. Kvantitatívna analýza bola získaná z kalibračnej krivky vytvorenej pre každú zlúčeninu v modelovom roztoku vína. Na súčasnú identifikáciu a kvantifikáciu rôznych zlúčenín boli použité nasledujúce m/z ióny: furfural, 96/95; furfurylalkohol, 98/97. Pri zrení vína v su-



Obrazok 1 Priebeh experimentu v jednotlivých ročníkoch

de sa furfural môže premeniť na furfurylalkohol (Prida a Chatonnet, 2010). Preto sme celkovú koncentráciu furfuralu vypočítali ako súčet furfuralu a furfurylalkoholu. Štatistické hodnotenie výsledkov sme realizovali metódou ANOVA (Tukey post hoc test) na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Tabuľka 1 Druhy a označenie variantov použitých sudov (A - L)

Označenie variantov použitých sudov	Pôvod dreva	Krajina výrobcu
Seguin Moreau caucasian classic M (A)	Kaukaz	Francúzsko
Stockinger Y LDL (B)	Ybbstal (Rakúsko)	Rakúsko
Seguin Moreau Icon Blanc ML (C)	Francúzsko – zmes oblastí	Francúzsko
Seguin Moreau Icon Blanc ML Aquaflex (D)	Francúzsko – zmes oblastí	Francúzsko
Stockinger P LDL (E)	Falc (Nemecko)	Rakúsko
Nadalie Perle blanche (F)	Francúzsko – zmes oblastí	Francúzsko
Ermitage CM B (G)	Bertrange (Francúzsko)	Francúzsko
Seguin Moreau Fraicheur ML TH (H), poz.: čelá z agátu ( <i>Robinia pseudoacacia</i> )	Francúzsko – zmes oblastí	Francúzsko
Francois Freres B M (I)	Bertrange (Francúzsko)	Francúzsko
Berthomieu CM N (J)	Nevers (Francúzsko)	Francúzsko
Cadus Access (K)	Francúzsko – zmes oblastí	Francúzsko
Cadus Equilibre (L)	Francúzsko – zmes oblastí	Francúzsko

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

## Porovnanie obsahu furfuralu v jednotlivých variantoch

Priemerný obsah furfuralu vo všetkých vínach sa podľa ročníka i sudov značne líšil a pohyboval sa v rozmedzí priemerov od 140 do 5000  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Najväčšie zmerané množstvo bolo takmer 36× vyššie v porovnaní s najnižším. Bol zistený výrazný rozdiel medzi prvým a druhým použitím sudov. Pri prvom použití (ročník 2016) bola priemerná hodnota furfuralu vo všetkých vínach 2800  $\mu\text{g.l}^{-1}$ , zatiaľ čo pri druhom (ročník 2017) iba 330  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Pri druhom použití sudov teda vína v priemere obsahovali iba 12 % furfuralu z nových sudov. Najvyšší priemerný obsah furfuralu pri prvom (5000  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ) aj druhom (660  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ) použití bol zistený pri vínach zo sudov Seguin Moreau Fraicheur ML TH (H). Je to veľmi zaujímavé zistenie, pretože jedine vo variante H bol použitý sud s agátovými čelami. Môže to však byť spôsobené aj intenzitou toustovania tela a čiel suda. Všetky ostatné varianty boli výhradne z dreva duba. Najmenej furfuralu v oboch ročníkoch obsahovali vína zrejúce v sudoch Stockinger Y LDL (B) a Stockinger P LDL (E). Pri ročníku 2016 to bolo 1005/980  $\mu\text{g.l}^{-1}$ , pri druhom použití 140/150  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Všeobecne platí, že sudy, ktoré v prvom roku uvoľnili do vína nadpriemerné množstvo furfuralu, ho uvoľnili nadpriemerne aj v druhom roku a obdobne tento vzťah platí aj pre podpriemerné množstvo.

**Tabuľka 2** Priemerný obsah furfuralu vo vínach sledovaných odrôd v závislosti od variantu suda

Variant	Ročník	Furfural ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	Variant	Ročník	Furfural ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )
B	2017	140,292a	E	2016	975,083h
E	2017	147,142ab	B	2016	1045,333h
D	2017	202,750abc	D	2016	1648,333i
A	2017	225,250abc	A	2016	2172,500j
C	2017	259,917bcd	F	2016	2456,250k
F	2017	273,250cd	L	2016	2728,417l
L	2017	275,333cd	K	2016	2732,417l
K	2017	363,083de	C	2016	2878,000m
J	2017	407,417d	I	2016	3684,583n
I	2017	463,417ef	G	2016	3881,083o
G	2017	531,000f	J	2016	4534,583p
H	2017	660,421g	H	2016	5000,242r

Poznámka: a až r znamená, že riadky s odlišnými písmenami sú štatisticky odlišné (Tukey test,  $p \leq 0,05$ ).

Obsah furfuralu by mal stúpať s teplotou pri toustovaní, keďže je produktom degradácie hemicelulózy. To sa pri pokuse potvrdilo, pretože sudy Seguin Moreau Fraicheur ML TH (H) majú ako jediné zo všetkých porovnávaných sudov toustované aj čelá, ktoré tvoria cca 30 % vnútorného povrchu suda. Veľmi zaujímavé je porovnanie sudov Seguin Moreau Icon Blanc ML (C) a Seguin Moreau Icon Blanc ML Aquaflex (D), kde vína zo sudov D obsahovali v ročníku 2016 o cca 43 % menej furfuralu ako vína zo sudov C.

## ZÁVER

Víno zrodené v sude obsahuje viac ako 800 rôznych látok, ktoré víno v spolupráci s kyslíkom optimalizujú. Kyslík je prvkom života vína a víno je vínom, keď je živé. A práve sud najlepšie optimalizuje množstvo kyslíka pri kvasení a dozrievaní vína, čo napomáha zvýšeniu jeho kvality, ktorá je jednoznačne ovplyvnená druhom dreva, štýlom toustovania, dobou zrenia a odrodou viniča. Päť rôznych odrôd vín, z ktorých každé zrelo v dvanástich rozdielnych typoch suda zo siedmich debnárstiev, bolo študovaných pomocou chemickej analýzy. Potvrdilo sa, že intenzívnejšie sendvičovanie prenáša do vína zvýšený obsah látok vznikajúcich teplotnou degradáciou celulózy, a to aj furfuralu. Prejavilo sa to na sudoch Seguin moreau Fraicheur ML TH (H), Berthomieu CM N (J), Francois Freres B M (I) a Ermitage CM B (G). Je dôležité, aby si výrobca zvolil správnu kombináciu typ hrozna, druh suda i spôsob technológie, aby bolo zrenie vína v sude skutočnou symbiózou analytických a senzorických parametrov.

## POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0239/21.

## Kontaktná adresa

Ing. Lucia Benešová, PhD., VC AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

## LITERATÚRA

- Ribèreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. 2006. *Handbook of Enology, 2.ed. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 441 p, ISBN 978-0-470-01037-2.
- Blanchard, L., Tominaga, T., Dubourdieu, D. 2001. Formation of furfurylthiol exhibiting a strong coffee aroma during oak barrel fermentation from furfural released by toasted staves. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, pp. 4833-4835, ISSN 0021-8561. Dostupné na: doi: 10.1021/jf010539w
- Chira, K., Teissedre, P. L. 2013. Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage. In *Food Chemistry*, vol. 140, pp. 168-177, ISSN 1873-7072. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2013.02.049
- Chira, K., Teissedre, P. L. 2015. Chemical and sensory evaluation of wine matured in oak barrel: Effect of oak species involved and toasting proces. In *European Food Research and Technology*, vol. 240, pp. 533-547, ISSN 1438-2385.
- Vidlář, M. 2024. *Porovnání výroby bílých vín v sudech s různým geografickým původem dřeva*. Doktorská disertační práce. ZF Mendelu, Lednice na Moravě.
- Moreno, J., Peinad, R. 2012. *Enological chemistry*. London: Elsevier. 429 p, ISBN: 978-0-12-388438-1.
- Prida, A., Chatonnet, P. 2010. Impact of Oak-Derived Compounds on the Olfactory Perception of Barrel-Aged Wines. In *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 61, pp. 408-413, ISSN 0002-9254. Dostupné na: doi: 10.5344/ajev.2010.61.3.408





# Pedologická sekcia



## Monitoring pôd ako základný nástroj pre stratégiu ochrany a využívania pôd v SR a v kontexte s EÚ

### Soil monitoring as a basic tool for protection and land use strategy in the Slovak Republic and in the context of the EU

Jozef KOBZA, Gabriela BARANČÍKOVÁ, Rastislav DODOK,  
Jarmila MAKOVNÍKOVÁ, Boris PÁLKA, Ján STYK, Miloš ŠIRÁŇ

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav pôdoznanectva  
a ochrany pôdy, Trenčianska 55, 821 09 Bratislava  
korešpondenčný autor – e-mail: jozef.kobza@nppc.sk*

#### Abstract

One of the important initiatives of European Strategy on soil monitoring is a stimulation of national strategies of soil protection and their evaluation. In effort of European Commission is an approximation of such soil monitoring process which will be helpful for management of all activities on soil including soil protection and functions of soil by transparent manner in all EU countries. In harmony with European strategy important soil properties concerning recommended concrete threats to soil are included in soil monitoring system in Slovakia (soil contamination, soil acidification, soil salinization and sodification, decline in soil organic matter and macro- and microelements, soil compaction and soil erosion, as well). Based on obtained results it may be said that significant soil changes were indicated in some indicators of physical degradation of soil – especially concerning soil erosion and compaction, as well. Obtained measured data and required outputs are reported to Joint Research Centre (JRC) in Ispra (Italy) and European Environmental Agency (EEA) in Copenhagen (Denmark).

**Keywords:** soil monitoring, soil protection, land use, threats to soil, EU initiatives

#### ÚVOD

Vstupom do spoločenstva krajín EU sa vnáša viac svetla aj do pôdnej politiky našej krajiny, ktorá sa tak stáva súčasťou Európskej pôdnej politiky. Jej úsilím je mobilizovať a akcelerovať všetky Európske výskumné a vedecké kapacity zaoberajúce sa pôdou, jej postavením a funkciami v životnom prostredí s dôrazom na jej ochranu v snahe zachovať ju v udržateľnom stave aj pre budúce generácie. To znamená na jednej strane maximálne využiť existujúce poznatky o pôdach, na druhej strane zabezpečiť ich kompatibilitu a integráciu v rámci európskeho spoločenstva. Tá druhá požiadavka je práve úlohou v súčasnosti pracujúcich Európskych komisií pre rôzne oblasti pôdnej politiky zahŕňajúc aj výkon ochrany pôdy. Tento predpokladá permanentné sledovanie jej stavu spojené s predikciou jej ďalšieho možného vývoja. Monitoring pôd tak má osobitné postavenie pri stratégii ochrany, ako aj ďalšieho využívania pôdy. Táto koncepcia bola plne chápaná a aj uplatnená v európskej stratégii pôd, osobitne pre výkon monitoringu pôd v EU (Huber, *et al.* 2001), ktorá bola publikovaná ešte v roku 2004 v Luxemburgu (Van Camp *et al.*, 2004) a na ktorej vypracovaní sa podieľal aj Výskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy v Bratislave. Zameranie pôd v SR je v súlade s Národnou stratégiou udržateľného rozvoja SR, uzne-

sením vlády SR č. 664/2000, Štátnou pôdnou politikou, Stratégiou ochrany a využívania poľnohospodárskej pôdy v SR do roku 2024, Stratégiou EÚ na ochranu pôdy, pripravovanou Rámcovou smernicou EÚ na ochranu pôdy, ako aj Poľnohospodárskou a potravinovou politikou SR kladúcu dôraz na efektívnejšie využívanie, ochranu, regeneráciu a trvalú reprodukciu prírodných zdrojov SR. Výkon monitoringu pôd je v súlade so Zákonom č. 220/2004 Z.z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy a jeho novelizovanej Vyhlášky MPRV SR 59/2013. Je zároveň jedným z dôležitých bodov európskej pôdnej politiky.

Detailnejšie sme sa začali zaoberať hodnotením aktuálneho stavu a vývoja degradačných procesov v poľnohospodárskych pôdach Slovenska prostredníctvom komplexného systému monitorovania pôd Slovenska (permanentne od roku 1993) podľa konkrétnych ohrození (acidifikácia, salinizácia a sodifikácia, kontaminácia pôd, úbytok pôdnej organickej hmoty a prístupných makroživín (P, K, Mg) a mikroživín (Cu, Zn, Mn), kompakcia a erózia pôd) (Linkeš a kol., 1997, Kobza a kol., 2002, 2009, 2014, 2019, 2024).

Cieľom príspevku je poskytnúť údaje o dôležitých pôdnych vlastnostiach týkajúcich sa odporúčaných konkrétnych hrozieb pre pôdu zaradené do monitorovacieho systému pôdy na Slovensku (kontaminácia pôdy, acidifikácia pôdy, salinizácia a sodifikácia pôdy, pokles organickej hmoty a makro- a mikroprvkov, zhutňovanie pôdy a erózia pôdy. Získané namerané údaje a požadované výstupy sú hlásené Spoločnému výskumnému centru (JRC) v Ispre (Taliansko) a Európskej environmentálnej agentúre (EEA) v Kodani (Dánsko).

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

V príspevku sme vychádzali z najnovších výsledkov permanentného systému monitorovania pôd na Slovensku, ktorý zahŕňa 318 monitorovacích lokalít na poľnohospodárskych pôdach (Kobza a kol., 2024). Boli sledované a hodnotené základné indikátory vlastností pôd, ktoré sa vzťahujú ku konkrétnym ohrozeniam pôdy:

### *Monitorované indikátory podľa degradačných procesov pôd:*

**Acidifikácia pôd:** pH/H<sub>2</sub>O, pH/KCl, pH/CaCl<sub>2</sub>, KVK (kationová výmenná kapacita), výmenné katióny (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>), aktívny Al (len ak pH/KCl < 6,0).

**Salinizácia a sodifikácia pôd:** elektrická vodivosť (ECe), obsah výmenného Na v sorpčnom komplexe pôdy (ESP) sodíkový adsorpčný pomer (SAR), pH/H<sub>2</sub>O, výmenné katióny a anióny (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

**Kontaminácia pôd:** Cd, Cr, Pb, Ni, Zn, Cu, As, Co (rozklad lúčavkou kráľovskou), Hg (celkový obsah – analyzátor DMA-11 evp)

**Kvantitatívne a kvalitatívne zloženie pôdnej organickej hmoty:** POC, N<sub>p</sub>, C<sub>HK</sub>/C<sub>FK</sub>, Q<sub>6</sub>

**Obsah prístupných makroživín:** P, K, Mg (Mehlich III.);

**Obsah prístupných mikroživín:** Cu, Zn, Mn (DTPA);

**Kompakcia pôdy:** objemová hmotnosť, pórovitosť, maximálna kapilárna kapacita, zrnitosť (USDA).

**Erózia pôdy:** <sup>137</sup>Cs, pH/KCl, Cox, P, K, zrnitosť (USDA).

Analýzy boli vykonané na pracovisku laboratórnych činností pri NPPC – VÚPOP v Bratislave podľa Jednotných pracovných postupov rozborov pôd (Kolektív, 2011). Dosiahnuté výsledky boli spracované a vyhodnotené podľa zaužívaných štatistických postupov v rokoch 2018 – 2022.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Acidifikácia pôd

Acidifikácia, proces okyslenia pôdy, predstavuje jeden zo závažných procesov chemickej degradácie. Prírodný acidifikačný proces je intenzívnym hospodárením a pretrvávajúcou industrializáciou akcelerovaný antropogénnou acidifikačnou záťažou. V klasickej literatúre je kyslosť pôdy charakterizovaná nenasýtenosťou sorpčného komplexu, t. j. väčšinovým zastúpením  $H^+$  a  $Al^{3+}$  iónov a prítomnosťou voľných  $H^+$  a  $Al^{3+}$  iónov v pôdnom roztoku.

Pokles priemernej hodnoty aktívnej pôdnej reakcie v skupinách využívaných ako orné pôdy sme zaznamenali v skupine fluvizemí na nekarbonátových fluvialných sedimentoch, v skupine pseudoglejov, regozemí na karbonátových viatych pieskoch, a v skupine regozemí na nekarbonátových viatych pieskoch. Zmeny v skupinách pôd využívaných ako trávny porast sú výrazné v skupine pseudogleje na polygenetických sprašových hlinách (pokles o 0,56 jednotiek).

**Tabuľka 1** Acidifikácia vo vzťahu k degradačným procesom v pôde

Degradačný proces	Negatívny vplyv acidifikácie
Erózia	*
Zhutnenie, kompakcia	*
Kontaminácia	* * *
Zníženie obsahu organickej hmoty v pôde	* *
Obmedzenie tvorby mikrobiálnej biomasy	* *
* slabý; * * stredný; * * * silný	

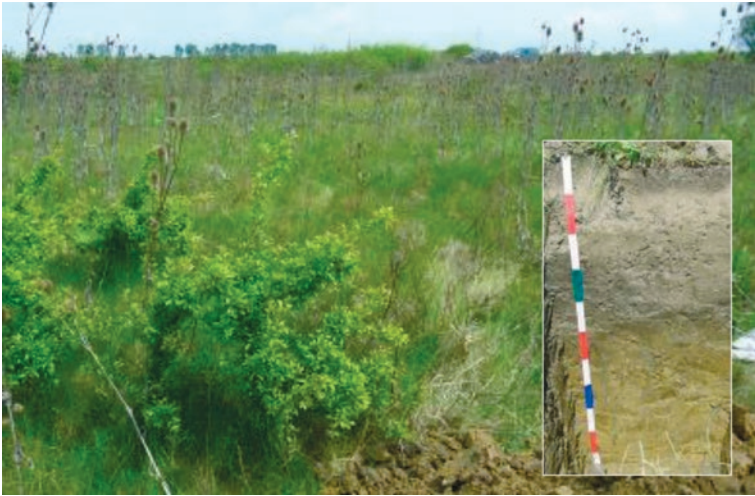
### Salinizácia a sodifikácia pôd

Salinizácia je proces akumulácie neutrálnych sodných solí v pôde, predovšetkým chloridu sodného ( $NaCl$ ) a síranu sodného ( $Na_2SO_4$ ). Indikátorom procesu salinizácie je jednak celkový obsah rozpustných solí v pôde a jednak merná elektrická vodivosť nasýteného extraktu pôdy (ECe) (Hraško, 1962).

Sodifikácia je proces viazania výmenného sodíka na sorpčný komplex pôd. Tento proces je podmienený prítomnosťou alkalických solí v pôde, predovšetkým uhličitanu sodného ( $Na_2CO_3$ ), hydrogénuhličitanu sodného ( $NaHCO_3$ ) a kremičitanu sodného ( $Na_2SiO_3$ ). Indikátorom procesu sodifikácie je jednak obsah výmenného sodíka v sorpčnom komplexe (ESP) a jednak pôdna reakcia (pH) (Sotáková, 1988, Valla a kol., 1983).

Na základe analýz procesov salinizácie a sodifikácie v 6. monitorovacom cykle môžeme monitorované lokality rozdeliť do štyroch skupín. V prvej skupine je pôda lokality Iža a Gabčíkovo bez výraznejších prejavov solných procesov. V druhej skupine sú lokality Komárno-Hadovce so slabou salinizáciou (obsah rozpustných solí v pôde 0,10–0,15%) aj sodifikáciou (ESP 5–10%) a Zemné so slabou sodifikáciou. V tretej skupine je lokalita Zlatná na Ostrove s prejavmi stredne intenzívnej sodifikácie (ESP 10–20%). A vo štvrtej skupine sú pôdy na lokalitách Kamenín, Žiar nad Hronom a Malé Raškovce so silnými procesmi salinizácie (obsah rozpustných solí v pôde > 0,70%) aj sodifikácie (ESP > 20%). Z analýz podzemných vôd vyplýva, že v niektorých rokoch 6. monitorovacieho cyklu boli zvýšené

hodnoty celkovej mineralizácie ( $>1000 \text{ mS.l}^{-1}$ ) a kritická hodnota SAR  $> 5$ , t.j. hodnoty, ktoré indikujú procesy salinizácie, boli sporadicky vyššie len na lokalitách Komárno-Hadovce a Zlatná na Ostrove.



*Obrázok 1 Primárne zasolená pôda na Východoslovenskej nížine (Malé Raškovce)*



*Obrázok 2 Sekundárne zasolená pôda v Žiarskej kotline (v okolí hliníkárne)*

Nami doteraz získané poznatky z vývoja vlastností solných pôd potvrdzujú súčasne prebiehajúce procesy salinizácie a sodifikácie pôd, pričom sa ukazuje, že proces sodifikácie je dominantný. Zároveň nami dosiahnuté výsledky meraní dovoľia konštatovať, že procesy

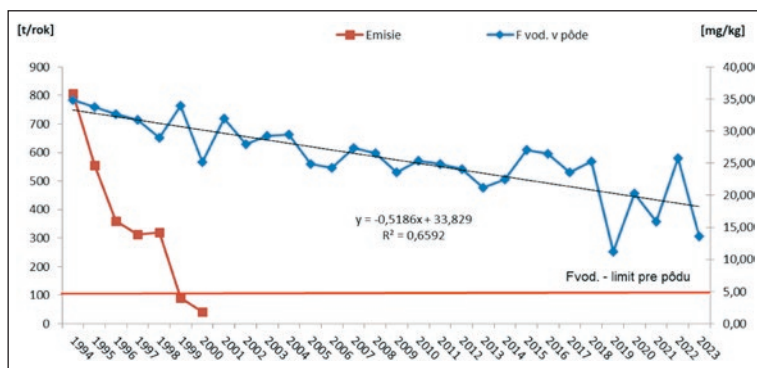
salinizácie a sodifikácie prebiehajú od substrátových horizontov smerom k povrchu pôdy, pričom tento vývoj je zreteľnejší v pôdach so slabým až stredným vývojom solných pôd.

Z hľadiska rizikovosti vzniku a rozširovania solných pôd charakterizovaného chemickým zložením podzemných vôd, je takéto riziko najreálnejšie na dolnej časti Žitného ostrova v úseku Zlatná na Ostrove – Komárno. Svedčia o tom vyššie hodnoty elektrickej vodivosti a vysoká mineralizácia podzemných vôd. Na Slovensku evidujeme celkom do 3 tis. ha solných pôd (Kobza a kol., 2019).

### Kontaminácia pôdy

V 6. odberovom cykle (rok 2018) sme sledovali zmeny v obsahu rizikových prvkov len na lokalitách, kde bol v predošlom cykle stanovený obsah vyšší ako 80 % limitnej hodnoty podľa platnej legislatívy. Pozitívny trend, zníženie obsahu arzénu, sme zaznamenali na 9 zo sledovaných 16 lokalít, jeho obsah však zostáva stále nadlimitný. Na 15 lokalitách z celkového počtu 30 sme zaznamenali zníženie celkového obsahu kadmia, ktorý stále zostáva nadlimitný. Na 17-tich lokalitách z celkového počtu 38 sme zaznamenali zníženie celkového obsahu kobaltu. Meď patrí medzi esenciálne prvky pre rastliny aj živočíchy v optimálnom koncentračnom intervale. Na 10 lokalitách z celkového počtu 17 sme zaznamenali zníženie celkového obsahu medi. Z celkového počtu hodnotených lokalít v prípade niklu (32 lokalít), stále zostáva vysoké percento nadlimitných (81 %). Obsah olova zostal na 11 sledovaných lokalitách aj v roku 2018 nadlimitný, na jednej sledovanej lokalite bol v roku 2018 podlimitný, avšak vyšší ako 80 % limitnej hodnoty podľa platnej legislatívy. Celkový obsah Zn bol v roku 2018 na 17 lokalitách vyšší ako je limitná hodnota podľa platnej legislatívy a na 7 lokalitách sa dostal pod túto hodnotu.

V prevažnej väčšine však fenomény kontaminácie nie sú viditeľné voľným okom, ale je potrebné ich zistiť laboratórne. Z viacerých možných príkladov je možné uviesť situáciu vo vývoji fluóru v Žiarskej kotline, kde v porovnaní s koncentráciou fluóru v ovzduší, jeho obsah v pôde i v súčasnosti stále 3-násobne prevyšuje platný hygienický limit pre vodorozpustný fluór ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).



Graf 1 Vývoj fluóru v okolí hliníkárne (Žiarska kotlina)

Bolo zistené, že pôdy, ktoré boli kontaminované v minulosti, sú kontaminované aj v súčasnosti, a preto je potrebné ich neustále monitorovať. Na Slovensku evidujeme menej ako 1 % kontaminovaných pôd z celkovej výmery poľnohospodárskych pôd.

### ***Kvantitatívne a kvalitatívne zloženie pôdnej organickej hmoty***

Množstvo pôdneho organického uhlíka (POC) je podmienené genézou pôd, ale na orných pôdach, predovšetkým v orníčnom horizonte, je jeho obsah ovplyvnený intenzívnym využívaním pôdy, a preto v porovnaní s prírodnými pôdami koncentrácia POC je na orných pôdach značne nižšia. Priemerné hodnoty POC sa v orných pôdach Slovenska pohybujú v intervale 1 – 2.5 % (Kobza a kol. 2020), čo v prepočte na humus (prepočítavací koeficient 1,724) predstavuje mierne až dobre humózne pôdy. Najnižšie hodnoty POC sú charakteristické pre regozeme, najvyššie pre čiernice. Nakoľko POH obsahuje viac ako 95 % celkového množstva dusíka (Nt), hodnoty Nt sú v súlade s hodnotami POC a medzi týmito parametrami POH boli vo všetkých hodnotených pôdnych typoch zistené kladné, štatisticky významné lineárne korelácie.

V 9é. rokoch v dôsledku výrazných zmien, ktorými prešlo poľnohospodárstvo na Slovensku sme na všetkých pôdnych typoch zaznamenali pokles obsahu POC. Na začiatku nového milénia, jednou z priorit štátnej dotačnej politiky bolo aj zvyšovanie obsahu organických látok v pôde prostredníctvom organického hnojenia, čím sa úroveň POC zvýšila. V súčasnosti je obsah POC na väčšine pôdnych typoch ustálený, mierne zvýšenie obsahu POC bolo zaznamenané na pseudoglejoch a kambizemiach pod trvalými trávami porastami a na fluvizemiach a hnedozemiach.

Z hľadiska kvality POH relatívne stabilná a vyzretá POH bola zistená na černoziach a čierniciach (hodnoty  $C_{HK}/C_{FK} > 1$ ), kde prevládajú stabilnejšie humínové kyseliny. Najmenej kvalitné sa ukazujú pseudogleje na TTP, na ktorých je hodnota  $C_{HK}/C_{FK} < 1$  a hodnota  $Q^4_6$  sa pohybuje v rozpätí 5,5 - 7. V priebehu celého monitorovacieho obdobia boli zmeny optického parametra minimálne a udržiavali sa na hodnotách charakteristických pre daný pôdny typ.

V poslednom období sme sa začali venovať aj rašeliniskám, ktoré sú najväčším rezervoárom terestriálneho organického uhlíka a plnia mnohé ekologické funkcie. Doteraz získané výsledky ukazujú na výrazné rozdiely v sledovaných parametroch, predovšetkým na vyššiu zásobu organickej hmoty na vrchoviskových rašeliniskách v porovnaní so slatinými rašeliniskami (Barančíková a kol., 2018).

### ***Obsah prístupných makroživín (P, K, Mg) a mikroživín (Cu, Zn, Mn)***

Nadálej pokračuje úbytok prístupných živín najmä na orných pôdach, čo poukazuje na deficit hnojenia. Od roku 1993 (začiatok monitorovania pôd na Slovensku) zisťujeme priemerný úbytok prístupného fosforu a draslíka v poľnohospodárskych, najmä orných pôdach v priemere o 10 – 30 %, čo je prejavom nízkych dávok aplikovaných hnojív (pred rokom 1990 priemerná dávka aplikovaných živín 220 – 230 kg. č. ž. NPK. na 1 ha, v súčasnosti priemerne 100 kg. č. ž. NPK na 1 ha). Obsah prijateľného horčíka je stále dobrý až vysoký (s výnimkou veľmi kyslých pôd, ako sú podzoly a rankre podzolové), pohybuje sa v priemernom rozpätí 200 – 600 mg.kg<sup>-1</sup>, čo ukazuje na prirodzene dobrú prirodzenú zásobenosť našich pôd týmto prvkom, pretože ani v minulosti ani v súčasnosti sa horčík do pôdy nedodával (s výnimkou vápenato-horečnatých hmôt – napr. dolomitických vápencov za účelom vápenia kyslých pôd).

Čo sa týka obsahu mikroživín (Cu, Zn, Mn), tento je v súčasnosti stredný, aj keď v poslednom období zaznamenávame ich mierny pokles. Prípadné lokálne deficity prejavované určitými karenčnými poruchami poľných plodín je možné napraviť formou foliárneho postreku príslušnou živinou, ako ekonomicky najpriateľnejší spôsob. Avšak pri zakladaní

špeciálnych kultúr (ovocné sady, vinice...) je potrebné prípadné deficity v obsahu jednotlivých mikroživín odstrániť aplikáciou príslušného hnojiva do pôdy na hodnotu stredného obsahu (Kobza a Gáborík, 2008).

### *Kompakcia pôdy*

Fyzikálny stav sledovaných pôd bol najviac ovplyvnený zrnitostným zložením pôdy (pôdnym druhom). Celkovo hodnoty objemovej hmotnosti (priemer za všetky cykly) mierne klesali v smere od zrnitostne ľahších ku ťažším pôdam. Tento trend sa prejavoval aj v jednotlivých cykloch (s výnimkou ornice ľahkých pôd v prvých dvoch cykloch a hlinitých pôd v piatom cykle v oboch hĺbkach ornice a podornice). V SR je primárne zhutnených asi 200 tis. ha poľnohospodárskych pôd, potenciálne ďalších asi 500 tis. ha poľnohospodárskych pôd.

**Tabuľka 2** Priestorové zastúpenie pôd (% plochy orných pôd) v rámci ornice (10-20 cm) a podornice (30-40 cm) v 6. odberovom cykle Monitoringu pôd Slovenska

Kategoríe rizika zhutnenia pôdy (v %)	% plochy orných pôd	
	ornica	podornica
< 20	76,1	26,4
20 – 40	20,8	14,8
41 – 60	3,1	33,2
61 – 80	–	25,5
> 80	–	0,1

### *Erózia pôdy*

Intenzitu erózie pôdy sledujeme pravidelne v 5- ročných cykloch na 20-tich vybraných transektoch. Recentná erózia, ktorá prebieha na konkrétnych lokalitách v poslednom období, bola vyhodnotená na základe stanovenia priestorovej aktivity rádioaktívneho izotopu <sup>137</sup>Cs v pôdnych profiloch jednotlivých častí záujmového územia. Aktivita izotopu cézia bola v niektorých prípadoch zaznamenaná až do hĺbky 0,50 m, čo potvrdzuje výraznú akumuláciu pôdnych častíc pretransportovaných vplyvom vodnej erózie po svahu. Plošné výmery jednotlivých kategórií erodovanosti boli vygenerované aplikovaním erózneho predikčného modelu Univerzálnej rovnice straty pôdnej hmoty – USLE (Wischmeier, Smith, 1978). Hodnoty potenciálnej vodnej erózie na všetkých sledovaných transektoch významne prekračujú limity straty pôdnej hmoty pre hlboké až veľmi hlboké pôdy (15 – 20 t/ha/rok). Vypočítané hodnoty aktuálnej vodnej erózie boli v porovnaní s potenciálnou eróziou (okrem transektov pri Kežmarku, Plavých Vozokanoch a Smolinskom) podlimitné, čo je výsledkom vysokej protieróznej účinnosti pestovaných poľnohospodárskych plodín, predovšetkým trvalých trávnych porastov, trávnych miešaniiek, a hustosiatych obilnín. Potenciálna vodná erózia predstavuje 52,3% výmery poľnohospodárskych pôd Slovenska (Tabuľka 3).

Recentná erózia prebiehajúca na lokalitách v období s najvyššou intenzitou poľnohospodárskej výroby až po súčasnosť je indikovaná na základe distribúcie rádioaktívneho izotopu cézia (<sup>137</sup>Cs) v pôdnych profiloch jednotlivých častiach erózných transektov. Získané hodnoty priemernej ročnej straty pôdy sú na všetkých záujmových lokalitách výrazne vyš-



šie ako hodnoty aktuálnej straty pôdy. Aktuálna vodná erózia sa prejavuje na 12,3 % výmery poľnohospodárskych pôd Slovenska (Tabuľka 3).

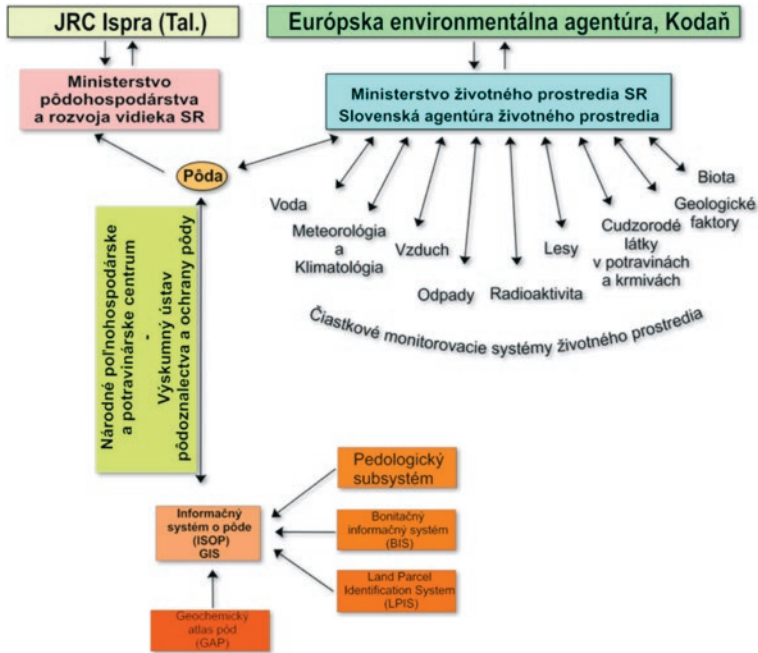
**Tabuľka 3** Výmery kategórií potenciálnej a aktuálnej vodnej erózie

Pôda evidovaná v registri GSAA (2023)	Potenciálna erózia		Aktuálna erózia	
	Výmera (ha)	% z PP	Výmera (ha)	% z PP
Žiadna, alebo nízka (0 – 4 t/ha/rok)	853 809	47,7	1 571 531	87,7
Stredná (4 – 10 t/ha/rok)	173 843	9,7	124 146	6,9
Vysoká (10 – 30 t/ha/rok)	248 779	13,9	77 226	4,4
Extrémna (viac ako 30 t/ha/rok)	514 819	28,7	18 347	1,0
Spolu	1 791 250	100,0	1 791 250	100,0

### Monitoring pôd SR v kontexte s iniciatívami EÚ

Po vstupe SR do EÚ (1.5.2004) pracovisko aktívne participuje na tvorbe a zdokonaľovaní európskeho informačného systému o pôdach, najmä v oblasti monitoringu pôd (aj prostredníctvom Ministerstva životného prostredia – Slovenskej agentúry životného prostredia a Európskej Environmentálnej Agentúry - EEA) a súčasne sa spoluriešiteľsky podieľa na vytváraní a sprístupňovaní vybraných súborov priestorových informácií o pôde (tiež vo vzťahu k JRC – Európske centrum pre pôdu). Ide o participáciu pri tvorbe údajov pre potreby ochrany pôdy a území v prostredí geografického informačného systému (GIS). Z ďalších iniciatív treba spomenúť aktivity so SAŽP a vydanie publikácie Globálne megatrendy v životnom prostredí (Považan a kol., 2023), kde je zahrnutá aj pôda, najmä problém jej znečisťovania. Publikácia vznikla na základe iniciatív EEA (Európska environmentálna agentúra) so sídlom v Kodani. Počas dlhodobého riešenia monitoringu pôd na Slovensku sme sa v minulosti zapojili aj do riešenia medzinárodného projektu ENVASSO (Environmental Assessment of Soil for Monitoring), (Morvan *et al.*, 2007). V súčasnom období ide o harmonizáciu národných monitoringov pôdy s LUCAS-om (Land Use and Land Cover Survey), ktorý je v podstate európskym centrálnym riadeným monitoringom pôdy a pôdnej pokrývky pri zohľadnení EUSO (Európske observatórium pre pôdu), kde jedným z dôležitých aktivít je práve vytvorenie harmonizovaného rámca pre monitorovanie pôdy v Európe. Taktiež treba spomenúť spoluprácu s JRC (Joint Research Centre) so sídlom v Ispre (Taliansko) a najmä s EEA v Kodani (Dánsko) pri spracovaní viacerých výstupov z monitoringu pôd SR, ako napr. spoluúčasť na príprave materiálu Soil monitoring in Europe, projekt wiki, práca v EK v súvislosti s monitoringom pôdy a najmä jej kontamináciou. Taktiež možno spomenúť spoluprácu na projekte ISLANDR (Information-Based Strategies for Land Remediation) v rámci Horizon Europe, a to v oblasti difúznej kontaminácie pôd najmä formou dotazníkov. V neposlednom rade možno spomenúť aj spoluprácu v rámci IMPEL-u (European Union Network for the Implementation and Enforcement of Environmental Law – implementácia environmentálnej legislatívy EU v rámci medzinárodnej spolupráce). Z najnovších aktivít možno spomenúť účasť na projekte EJP SOIL\_D6.5 Guidelines for accounting and monitoring agricultural soil carbon, fertility and degradation changes at different scales (Andrenalli *et al.*, 2024). Zaväzujúcim

materiálom tiež bude Smernica Európskeho parlamentu a Rady o monitorovaní a odolnosti pôdy (Smernica o monitorovaní pôdy) (EK, 2023).



Obrázok 3 Implementácia ČMS-Pôda v rámci čiastkových monitorovacích systémov a tok informácií medzi EEA a SR

## ZÁVER

Na základe nami doteraz zistených poznatkov najvýraznejšie zmeny sme zistili pri zhoršovaní fyzikálneho stavu pôd a najmä erózie pôd najmä na intenzívne obhospodávaných poľnohospodárskych pôdach, tiež výrazný úbytok prístupných živín (hlavne fosforu a draslíka) najmä na orných pôdach. V poslednej dobe zisťujeme určitú stabilizáciu pôdnej organickej hmoty na niektorých lokalitách a pôdach. V kontaminácii pôd sme od začiatku monitorovania pôd zatiaľ nezistili štatisticky preukazné zmeny, čo však znamená, že lokality ktoré boli už v minulosti kontaminované si tento nepriaznivý stav udržiavajú aj v súčasnosti.

Jednou z dôležitých iniciatív Európskej stratégie monitoringu pôd je stimulácia národných stratégií ochrany pôdy a ich hodnotenia. Snahou EK je priblíženie takého monitorovacieho procesu, ktorý by bol nápomocný pre riadenie všetkých aktivít na pôde vrátane ochrany pôdy a jej funkcií transparentným spôsobom vo všetkých krajinách EÚ. V súlade s koncepciou Európskej stratégie, v monitorovacom systéme pôd Slovenska je zahrnuté sledovanie dôležitých vlastností pôd podľa konkrétnych ohrození (kontaminácia pôd, acidifikácia, salinizácia a sodifikácia pôd, úbytok pôdnej organickej hmoty a makro- a mik-

roživín, kompakcia a erózia pôd). Monitoring pôd tak má osobitné postavenie pri stratégii ochrany, ako aj ďalšieho využívania pôdy. Táto koncepcia bola plne chápaná a aj uplatnená v európskej stratégii pôd, osobitne pre výkon monitoringu pôd v EU.

## POĎAKOVANIE

*Riešiteľský kolektív pri tejto príležitosti ďakuje vedeniu NPPC – Výskumnému ústavu pôdoznavectva a ochrany pôdy, ako aj rezortu Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR za vytvorenie podmienok a finančného zabezpečenia potrebného pre realizáciu celoplošného monitorovania pôd na Slovensku v rámci kontraktu No 720/2023/MPRV SR.- 930.*

## Kontaktná adresa

prof. Ing. Jozef Kobza, CSc., NPPC – Výskumný ústav pôdoznavectva a ochrany pôdy, RP Banská Bystrica, Mládežnícka 36, 974 04 Banská Bystrica, e-mail: jozef.kobza@nppc.sk

## LITERATÚRA

- Andrenelli, M. C., Armolaitis, K., Aponte, C., Arrouays, D., Assenato, F., Z. Bakacsi, Z., Barbetti, R., Basile, A., Bevivino, A., Bispo, A., Blombäck, K., Borůvka, L., Buttafuoco, G., Cagnarini, C., Calzolari, C., Callewaert, S., Cockx, K., Cousin, I., D'Avino, L., Deproost, P., Faber, J., Fantappiè, M., Feiza, V., Feizienė, D., Froger, C., Hessel, R., Jacomini, C., Kadziulienė, Z., Karcauskiene, D., Klimkowicz-Pawlas, A., Kobza, J., Koganti, T., Lacoste, M., Lozano-Fondón, C., Lumini, E., Madenoglu, S., Marinosci, I., Mocali, S., Molnár, S., Munafò, M., Murugan, R., Napoli, R., Oorts, K., Pásztor, L., Pellegrini, S., Piccini, C., Poeplau, C., Riitano, N., Sagova-Mareckova, M., Salomez, J., Stenberg, B., Swerts, M., Tagliaferri, E., Takács, K., Trinchera, A., Ungaro, F., Vaudour, E., Vignozzi, N., Vinci, I., Wetterlind, J. 2024. *EJP SOIL Towards climate – smart sustainable management of agricultural soils D 6.5 Guidelines for accounting and monitoring agricultural soil carbon, fertility and degradation changes at different scale*. EJP Project COFUND, INRAE Orleáns, France, 236 p. [www.ejpsoil.eu](http://www.ejpsoil.eu)
- Barančíková, G., Halas, J., Fazekašová, D., Litavec, T., Kobza, J. 2018. *Aktuálny stav vybraných rašelinísk Slovenska*. NPPC – VÚPOP Bratislava, 107 s. ISBN 978-80-8163-025-5.
- EK (Európska komisia), 2023. *Smernica Európskeho parlamentu a Rady o monitorovaní a odolnosti pôdy (Smernica o monitorovaní pôdy)* COM (2023) 4/6 final, 2023/0232 (COD).
- Hraško, J. 1962. *Rozbory pôd*. SVPL Bratislava, 33 s.
- Huber, S., Seyed, B., Freudenschuss, A., Ernsten, V. and Loveland, P., 2001. *Proposal for an European soil monitoring and assessment framework*. Technical report, EEA, May 2001, Copenhagen, 58 pp.
- Kobza, J., Barančíková, G., Čepková, V., Došeková, A., Fulajtár, E., sen., Houšková, B., Makovníková, J., Matúšková, L., Medveď, M., Pavlenda, P., Schlosserová, J., Styk, J., Vojtáš, J. 2002. *Monitoring pôd Slovenskej republiky. Výsledky ČMS-Pôda ako súčasť Monitoringu životného prostredia Slovenskej republiky za obdobie 1997–2001*. VÚPOP Bratislava, 180 s. ISBN 80-89128-04-1.
- Kobza, J., Gáborík, Š. 2008. *Súčasný stav a vývoj obsahu makro- a mikroelementov v poľnohospodárskych pôdach Slovenska*. VÚPOP Bratislava 58 s. ISBN 978-80-89128-47-1.
- Kobza, J., Barančíková, G., Čumová, L., Dodok, R., Hrivňáková, K., Makovníková, J., Ná-

- činiaková–Bezáková, Z., Pálka, B., Pavlenda, P., Schlosserová, J., Styk, J., Širáň, M., Tóthová, G. 2009. *Monitoring pôd Slovenskej republiky. Výsledky ČMS-Pôda ako súčasť Monitoringu životného prostredia Slovenskej republiky za obdobie 2002 – 2006*. VÚPOP Bratislava, 200 s. ISBN 978-80-89128-54-9.
- Kobza, J., Barančíková, G., Dodok, R., Hrivňáková, K., Makovníková, J., Pálka, B., Pavlenda, P., Schlosserová, J., Styk, J., Širáň, M., 2014. *Monitoring pôd Slovenskej republiky. Výsledky ČMS-Pôda ako súčasť Monitoringu životného prostredia Slovenskej republiky za obdobie 2007 – 2012*. VÚPOP Bratislava, 252 s. ISBN 978-80-8163-004-0.
- Kobza, J., Barančíková, G., Dodok, R., Makovníková, J., Pálka, B., Styk, J., Širáň, M. 2019. *Monitoring pôd SR. Súčasný stav a vývoj monitorovaných vlastností pôd ako podklad k ich ochrane a ďalšiemu využívaniu (2013 – 2017)*. NPPC – VÚPOP Bratislava, 254 s. ISBN 978-80-8163-033-0.
- Kobza, J., Barančíková, G., Dodok, R., Makovníková, J., Pálka, B., Styk, J., Širáň, M. 2024. *Monitoring pôd SR. Súčasný stav a vývoj monitorovaných vlastností pôd ako podklad k ich ochrane a ďalšiemu využívaniu (2018 – 2022)*. NPPC – VÚPOP Bratislava, 253 s. ISBN 978-80-8163-050-7.
- Kolektív, 2011. *Jednotné pracovné postupy rozborov pôd*. VÚPOP Bratislava, 2011, 136 s. ISBN 978-80-89128-89-1.
- Linkeš, V., Kobza, J., Švec, M., Ilka, P., Pavlenda, P., Barančíková, G., Matúšková, L., Brečková, V., Búlik, D., Došeková, A., Chomaničová, A., Kanianska, R., Makovníková, J., 1997. *Monitoring pôd Slovenskej republiky. Výsledky ČMS-Pôda ako súčasť Monitoringu životného prostredia Slovenskej republiky za obdobie 1992 – 1996*. VÚP Bratislava, 128 s.
- Morvan, X., Arrouays, D., Saby, N., Le Bas, Ch., Jones, B., Bellamy, P., Uveges, J. B., Camilleri, S., Kobza, J., Kolev, N. 2007. *ENVIASSO (Environmental Assessment of Soil for Monitoring)*, project contract No. 022713. D.3 Inventory and Monitoring report. INRAE Orleáns, France, 124 p.
- MPSR, 2004. Zákon č. 220/2004 Z.z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy z 10. marca 2004. In: *Zbierka zákonov SR*, čiastka 96 z 28.4. 2004, MP SR Bratislava, s. 2278-2315.
- MPRV SR, 2013. *Vyhláška MPRV SR č. 59/2013, ktorou sa mení a dopĺňa vyhláška MPSR č. 508/2004 Z.z., ktorou sa vykonáva § 27 zákona č. 220/2004 Z.z. v znení neskorších predpisov*.
- Považan, R., Blaško, R., Lipták, B., Filčák, R., Kobza, J., Lieskovská, Z., Jurík, L., Makovníková, J. 2023. *Globálne megatrendy v životnom prostredí. Aktualizácia environmentálnych globálnych megatrendov a ich implikácie pre Slovensko*. SAŽP Banská Bystrica, Odbor výskumu a medzinárodnej spolupráce, 130 s. ISBN 978-80-8213-120-1.
- Sotáková, S. 1988. *Návody na cvičenia z geológie a pôdoznanectva*. Príroda Bratislava.
- Valla, M., Kozák, J., Drbal, J. 1983. *Cvičení z půdoznanství II*. SPN Praha.
- Van-Camp, L., Bujarrabal, B., Gentile, A-R., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazabal, C. and Selvaradjou, S-K., 2004. *Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection*. EUR 21 319 EN/5, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Wischmeier, W.H., Smith, D.D. 1978. Predicting rainfall erosion losses – Guide to conservation planning, *Agricultural Handbook* 537, USDA, 1978, 58 p.

## Rozdiely v základných chemických vlastnostiach pôd obrábaných minimalizačne a konvenčne

### Differences in the basic chemical properties of minimally and conventionally cultivated soils

Nora POLLÁKOVÁ, Martin JURIGA, Peter KOVÁČIK, Juraj CHLPÍK

*Slovenská poľnohospodárska univerzita, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov,  
Ústav agronomických vied, Tr. A Hlinku 2, 949 76 Nitra; nora.pollakova@uniag.sk*

#### Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of conventional (KT) and minimized (MT) tillage on the basic chemical properties of Mollic Fluvisol, Chernozem, and Haplic Luvisol. The differences in soil properties between KT and MT were investigated at fifteen sites to a depth of 0.4 m. The results revealed that the concentration and distribution of total and labile carbon in the profile, as well as  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  and hydrolytic acidity values corresponded with the depth of tillage. The change in tillage from conventional to minimized tillage resulted in a statistically significant decrease in the concentration of labile carbon ( $C_L$ ) and a decrease in humus quality ( $C_{\text{HK}}/C_{\text{FK}}$  – carbon of humic acids and fulvic acids) in Chernozem and Haplic Luvisol, while in Mollic Fluvisol there was a statistically significant increase in hydrolytic acidity (H). Therefore,  $C_L$ ,  $C_{\text{HK}}/C_{\text{FK}}$  and H can be considered as suitable indicators of changes in the chemical properties of soils whose tillage technology has been transformed from conventional to minimized tillage.

**Keywords:** conventional tillage, hydrolytic acidity, minimized tillage, organic carbon, pH

#### ÚVOD

Novšie poznatky o vzťahoch medzi pestovanými plodinami a pôdno-klimatickými podmienkami, výživou a ochranou rastlín naznačili, že konvenčné obrábanie pôdy, ktorého základom je orba, možno efektívne nahradiť inými napr. minimalizačnými technológiami (Kotorová *et al.*, 2018).

Dlhodobé používanie konvenčnej technológie vedie k poklesu obsahu pôdnej organickej hmoty urýchlením jej mineralizácie spôsobenej zvýšenou aeráciou pôdy (Sithole *et al.*, 2019). Dochádza k rozpadu pôdnej štruktúry spojenou s nárastom objemovej hmotnosti pôdy, poklesom makropórovitosti, v dôsledku čoho sa znižuje dostupnosť vody aj živín, čo sa v konečnom dôsledku prejaví poklesom úrod (Qin *et al.*, 2004).

Na zníženie strát pôdy a zachovanie jej vlhkosti sa postupne zavádza konzervačné obrábanie (bez obrábania – no-till, minimalizačné obrábanie, mulčovacie obrábanie), ktoré vedie k poklesu erózie a degradácie pôdy. Konverzia konvenčného na minimalizačné obrábanie môže podporiť nárast obsahu organického uhlíka a dusíka v povrchovej vrstve pôdy (Jacobs, 2009), spôsobiť zmeny v dostupnosti živín (najmä fosforu), kationovej výmennej kapacity a pH, ktoré ovplyvňujú dostupnosť makro – a mikroprvkov účinkom na chemické reakcie za vzniku nerozpustných zlúčenín (Watts *et al.*, 2010; Busari a Salako, 2013).

Cieľom práce bolo prezentovať zásadné rozdiely v základných chemických vlastnostiach černoze, hnedozemí a čiernic obrábaných konvenčnou a minimalizačnou techno-

lógiou. Rozdiely boli skúmané na pätnástich pokusných lokalitách, kde pôdne vzorky boli odobraté zo susedných parcel, z ktorých jedna bola ošetrovaná minimalizačne a vedľajšia konvenčne.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

### *Lokality odberu pôdnych vzoriek a ich charakteristika*

Výskum sa realizoval v siedmich poľnohospodárskych podnikoch, kde sa dlhodobo (6–22 rokov) pôda obrába minimalizačne, buď na celej výmere alebo len na určitých parcelách. Na každom z pätnástich stanovišť sa na rovnakej BPEJ (Bonitovanej pôdno-ekologickej jednotke) kontrolná pôda obrábaná konvenčnou technológiou (KT) nachádzala v bezprostrednom susedstve s pôdou obrábanou minimalizačnou technológiou (MT) (Polláková *et al.*, 2018).

Geomorfologicky sú lokality Selice a Dolná Streda situované v Podunajskej nížine na oboch brehoch rieky Váh v nadmorskej výške 113–130 m. Priemerná ročná teplota v rokoch 1970–2007 bola 9,9 °C a priemerné zrážky 538 mm. Lokality Močenok, Prašice, Dolná Malanta, Dolné Dubové a Krakovany sa nachádzajú v Podunajskej pahorkatine (Nitrianska, Žitavská, Trnavská) v nadmorskej výške 160–280 m. Priemerná ročná teplota v rokoch 1970–2007 bola 9,9 °C a priemerné zrážky za rovnaké obdobie boli 561,5 mm.

Osevný postup vo všetkých záujmových lokalitách je veľmi podobný. Poľnohospodári pestujú len ekonomicky zaujímavé plodiny, ktoré stále rotujú, preto bolo možné na porovnanie pôdnych vlastností použiť parcely spravované nielen jedným podnikom.

V záujmových lokalitách konvenčná technológia obrábania pôdy (KT) zahŕňa orbu s obrátením do hĺbky 25–30 cm a následné operácie spojené s prípravou osivového lôžka. Pôda s minimalizačnou technológiou (MT) je obrábaná povrchovo, do hĺbky 10–12 cm bez obrátenia. V závislosti od aktuálneho fyzikálneho stavu pôdy sa používa hĺbkové kyprenie do 40 cm (bez obracania).

**Tabuľka 1.** Lokalizácia odberových miest, používaná technológia obrábania, pôdny typ, pestované plodiny v čase odberu pôdnej vzorky

Lokalita	Technológia	Pôdny typ	Pestovaná plodina v čase odberu vzorky
Močenok Jarok	MT (15) KT	Černozem Černozem Černozem Čiernica	MT repka olejná, KT pšenica ozimná MT jačmeň jarný, KT slnečnica ročná MT pšenica ozimná, KT pšenica ozimná MT pšenica ozimná, KT pšenica ozimná
Krakovany Piešťany	MT (6) KT	Černozem Čiernica	MT sója fazuľová, KT slnečnica ročná MT kukurica siata, KT kukurica siata
Dolná Streda	MT (9) KT	Čiernica Čiernica	MT pšenica tvrdá, KT pšenica tvrdá MT pšenica ozimná, KT repka olejná
Selice	MT (22) KT	Čiernica	MT –, KT –
Dolné Dubové Radošovce	MT (10) KT	Černozem Hnedozem Hnedozem	MT pšenica ozimná, KT pšenica ozimná MT pšenica ozimná, KT pšenica ozimná MT repa cukrová, KT repa cukrová

Pokračovanie Tabuľky 1			
Lokalita	Technológia	Pôdny typ	Pestovaná plodina v čase odberu vzorky
Prašice Paulen	MT (15)	Hnedozem	MT repka olejná, KT pšenica ozimná
	KT	Hnedozem	MT pšenica ozimná, KT pšenica tvrdá
Dolná Malanta	MT (21)	Hnedozem	MT kukurica siata, KT kukurica siata
	KT		
MT – minimalizačné obrábanie, KT – konvenčné obrábanie, počet rokov minimalizačného obrábania pôdy je uvedený v zátvorke			

### Odber pôdnych vzoriek

Rozdiely vo vlastnostiach pôd obrábaných konvenčnou a minimalizačnou technológiou boli zisťované na pätnástich stanovištiach, z černozeme (5 stanovišť), hnedozeme (5 stanovišť), a čierne (5 stanovišť), ktoré boli zrnitostne stredné. Na každom z pätnástich stanovišť pôdy obrábanej minimalizačne boli vykopané tri sondy a taktiež tri sondy boli vykopané v ten istý deň na susednej parcele obrábanej konvenčne. Odbery vzoriek a analýzy boli urobené na jar 2015 a 2016 do hĺbky 0,4 m po 0,1 m vrstvách.

Na stanovenie chemických vlastností boli vzorky laboratóriu vysušené. Z čiastkových vzoriek troch sond každej parcely boli urobené zložené vzorky po 0,1 m vrstvách. Takto z každej parcely vznikli zložené vzorky pôdy z vrstiev 0,0–0,1 m; 0,1–0,2 m; 0,2–0,3 m; 0,3–0,4 m. Každá zložená pôdna vzorka bola rozomletá a preosiatá cez sito s priemerom ôk 2 mm. Vo vzorkách boli stanovené nasledovné chemické vlastnosti:

- obsah celkového organického uhlíka ( $C_{ox}$ ) – oxidimetricky metódou Ťurina (Orlov a Grišina, 1981),
- obsah labilného uhlíka ( $C_i$ ) oxidovateľného  $5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ KMnO}_4$  v kyslom prostredí  $2,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$  (Loginow *et al.*, 1993),
- obsah celkového dusíka ( $N_i$ ) – metódou Kjeldahla (Hrivňáková *et al.*, 2011),
- frakčné zloženie humusu skrátenou frakcionáciou Kononovej a Belčikovej (1961)
- pôdna reakcia – potenciometricky v  $\text{H}_2\text{O}$  (Hrivňáková *et al.*, 2011),
- hydrolytická kyslosť (H) – metódou Kappena (Hanes, 1999),
- kationová sorpčná kapacita (T) – metódou Pfeffera v modifikácii Molodcova a Ignatovej (Hanes, 1999).

Analýzy organického uhlíka boli robené v troch opakovaniach, ostatné analýzy v dvoch opakovaniach. Získané výsledky boli spracované štatisticky pomocou analýzy rozptylu ANOVA (Statgraphics Centurion XVI, Vers. 16.0.08).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Organická hmota v pôdnych profiloch

Obsah organickej hmoty v pôde je regulovaný bilanciou medzi biotickými vstupmi a stratami a abiotickými podmienkami, medzi ktoré možno zaradiť aj spôsoby obrábania pôdy. V profiloch hodnotených spôsobov obrábania vidno značné rozdiely v obsahoch aj v distribúcii organickej hmoty (tab. 2). V pôde obrábanej minimalizačne (MT) je zrejmy vyšší obsah celkového organického uhlíka ( $C_{ox}$ ) v povrchovej (0–0,1 m) vrstve (v čiernici dokonca preukazne) v porovnaní s pôdou konvenčného systému (KT). Ostrý pokles  $C_{ox}$  v MT systéme nastal už vo vrstve 0,1–0,2 m, kým v pôde obrábanej konvenčne až vo

vrstve 0,3–0,4 m. Prerozdelenie uhlíka v profiloch úzko súvisí s hĺbkou obrábania a zprávanía pozberových zvyškov a organických hnojív do pôdy, ktoré je v MT do hĺbky 0,10–0,15 m, kým orba sa vykonáva až do hĺbky 0,3 m. V pôde obrábanej konvenčne bol obsah  $C_{ox}$  vo vrstve 0,0–0,3 m viac-menej vyrovnaný. Podobnú distribúciu uhlíka v MT verus KT zistili aj Jacobs *et al.* (2010), Jakab *et al.* (2023).

**Tabuľka 2.** Obsah organického uhlíka a dusíka, ich pomerné zastúpenie a kvalita humusu – priemery z parciel černozezí, hnedozezí a čiernic konvenčného a minimalizačného obrábania pôdy

Hĺbka [m]	$C_{ox}$		$C_L$		$C_{ox}/N_t$		$C_{HK}/C_{FK}$	
	[g.kg <sup>-1</sup> ]				KT	MT	KT	MT
	KT	MT	KT	MT				
<b>Černozeť</b>								
0,0–0,1	16,1 a	18,1 a	2,3 a	2,3 a	10,2 a	10,2 a	1,34 a	1,12 b
0,1–0,2	15,6 a	14,1 a	2,1 a	1,6 b	10,6 a	10,4 a	1,41 a	1,15 b
0,2–0,3	14,8 a	12,8 a	1,9 a	1,3 b	10,5 a	9,9 a	1,47 a	1,26 b
0,3–0,4	9,9 a	9,3 a	1,3 a	1,0 a	9,5 a	9,2 a	1,42 a	1,31 a
(0,0–0,4)	14,1 a	13,6 a	1,9 a	1,6 b	10,2 a	9,9 a	1,41 a	1,21 b
<b>Hnedozeť</b>								
0,0–0,1	11,2 a	12,6 a	1,7 a	1,7 a	9,9 a	10,1 a	0,88 a	0,93 a
0,1–0,2	11,1 a	11,0 a	1,6 a	1,5 a	10,2 a	10,7 a	0,97 a	0,94 a
0,2–0,3	10,3 a	8,1 b	1,5 a	1,1 b	10,5 a	10,0 a	1,05 a	0,85 b
0,3–0,4	6,7 a	5,8 a	0,9 a	0,6 b	8,5 a	9,2 a	1,18 a	0,86 b
(0,0–0,4)	9,8 a	9,4 a	1,4 a	1,2 b	9,8 a	10,0 a	1,02 a	0,89 b
<b>Čierna</b>								
0,0–0,1	22,3 a	25,1 b	2,3 a	2,8 a	10,8 a	11,4 b	1,26 a	1,28 a
0,1–0,2	23,0 a	21,0 a	2,7 a	2,4 a	10,4 a	10,9 a	1,32 a	1,39 a
0,2–0,3	21,0 a	18,3 a	2,2 a	1,8 a	10,2 a	10,4 a	1,48 a	1,33 a
0,3–0,4	15,8 a	15,7 a	1,5 a	1,4 a	10,1 a	9,9 a	1,30 a	1,38 a
(0,0–0,4)	20,5 a	20,0 a	2,2 a	2,1 a	10,4 a	10,7 a	1,34 a	1,35 a
Vysvetlivky: $C_{ox}$ – celkový organický uhlík, $C_L$ – labilný organický uhlík, $N_t$ – celkový organický dusík, $C_{ox}/N_t$ – pomer $C_{ox}/N_t$ , $C_{HK}/C_{FK}$ – zastúpenie uhlíka humínových kyselín a fulvokyselín, KT – konvenčné obrábanie pôdy, MT – bezorbové minimalizačné obrábanie pôdy. Rozdielne písmená (a-b) označujú, že vlastnosti pôdy medzi konvenčným a minimalizačným obrábaním sa štatisticky významne líšia pri ( $P < 0,05$ ) podľa Tukeyho testu.								

Spolu s poklesom celkového obsahu organického uhlíka s hĺbkou nastal rovnomerný pokles labilného uhlíka ( $C_L$ ), ktorý bol mierne vyšší v 0,0–0,1 m vrstve pôdy obrábanej minimalizačne, avšak vo vrstve 0,1–0,4 m mala MT menšiu koncentráciu labilného uhlíka než pôda obrábaná konvenčne. Výsledky nepotvrdili predpoklad, že  $C_L$  bude výrazne,



preukazne vyšší v povrchovej vrstve 0,0–0,1(0,2) m pôdy obrábanej minimalizačne, i keď je známe, že obsah labilnej formy organickej hmoty sa dá rýchlo zvýšiť pridaním čerstvých rastlinných a živočíšnych zvyškov, no tiež sa veľmi rýchlo stráca, najmä v dôsledku poklesu dodávok čerstvých zvyškov alebo zintenzívnenia obrábania pôdy Brady a Weil (1999). Celkovo, v sumárnej vrstve 0,0–0,4 m všetkých skúmaných pôd bol  $C_L$  viac obsiahnutý v pôde konvenčného systému v porovnaní s minimalizačným, v černoze a hnedozemi dokonca štatisticky preukazne (tab. 2). Preto možno  $C_L$  považovať za vhodný indikátor zmien chemických vlastností pôdy, ktorej technológia obrábania bola transformovaná z konvenčnej na minimalizačnú. Všeobecne, labilné formy organického uhlíka sú výborným ukazovateľom kvality pôdy, a oveľa citlivejšie reagujú na zmeny v hospodárení v porovnaní s celkovým obsahom organického uhlíka (Haynes, 2005).

Rovnako ako organický uhlík, aj koncentrácia celkového dusíka ( $N_t$ ) klesala s hĺbkou (tab. 2). Organický dusík je súčasťou pôdnej organickej hmoty, najmä humusu, v ktorom tvorí jeden zo základných stavebných prvkov. Všeobecne platí, že so zvyšovaním stupňa humifikácie sa zvyšuje aj zastúpenie dusíka v humuse, často hodnotené ako pomer  $C:N$ . Výsledky ukázali rovnomerné zužovanie pomeru  $C_{ox}:N_t$  s hĺbkou, čo svedčí o vyššom stupni rozkladu, mineralizácie, humifikácie a/alebo stabilizácii pôdnej organickej hmoty s hĺbkou. Medzi pôdou obrábanou MT a KT neboli zaznamenané preukazné rozdiely v pomerech  $C_{ox}:N_t$ .

Nárast miery humifikácie so stúpajúcou hĺbkou bol potvrdený zvyšujúcou sa kvalitou humusu, ktorá bola hodnotená ako zastúpenie uhlíka humínových kyselín a fulvokyselín ( $C_{HK}/C_{FK}$ ). Takmer v celom profile čiernice bola kvalita humusu nepatrne vyššia v pôde obrábanej minimalizačne než obrábanej konvenčne (tab. 2). Na druhej strane, hodnoty  $C_{HK}/C_{FK}$  ukázali vyššiu kvalitu humusu v černoze a hnedozemi obrábanej konvenčne čo naznačuje, že transformáciou obrábania z KT na MT došlo v uvedených pôdnych typoch k poklesu kvality humusu. Vo vrstve 0,0–0,3 m černoze a vo vrstve 0,2–0,4 m hnedozeme boli rozdiely štatisticky preukazné (tab. 2). Vyššia kvalita humusu v černoze a hnedozemi obrábanej konvenčne bola pravdepodobne spôsobená intenzívnejším vstupom vzduchu a najmä kyslíka, ktorý urýchlil procesy premeny zaprávanej organickej hmoty aj v hlbších vrstvách. Naopak, Tobiašová a Šimanský (2009) zistili odlišný trend v hnedozemi v lokalite Dolná Malanta a konštatujú, že v 0,0–0,3 m vrstve boli obsah a kvalita humusu nepreukazne vyššie v pôde obrábanej minimalizačne.

### **Sorpčné vlastnosti a pH pôdnych profilov**

Výsledky stanovení ukázali nárast hodnôt pôdnej reakcie s hĺbkou v pôdach obrábaných oboma technológiami (tab. 3). Spolu s nárastom  $pH_{H_2O}$ , takmer rovnomerne klesala hydrolytická kyslosť (H) a stúpal stupeň nasýtenia sorpčného komplexu bázickými kationmi (V), ktorý bol okrem hnedozemí plne nasýtený. Okyslenie povrchovej vrstvy pôdy (0,0–0,2/0,3 m) pravdepodobne súvisí s rozkladom organickej hmoty (jej najväčšie zastúpenie bolo práve vo vrstve 0,0–0,2/0,3 m) počas ktorého sa do pôdy uvoľňujú organické kyseliny (Huluage, 2005; Polláková *et al.*, 2015), rozpustný organický uhlík a  $CO_2$  ako zdroj kyseliny uhličitej (Fujii *et al.*, 2017). Zvýšená kyslosť taktiež súvisí s výlučkami koreňov (v ktorých sú zastúpené aj organické kyseliny), tiež s vymývaním bázických kationov zrážkovou vodou, ako aj ich odberom úrodami plodín.

**Tabuľka 3.** Pôdna reakcia a charakteristiky sorpčného komplexu – priemery z parciel černoze, hnedoze a čiernic konvenčného a minimalizačného obrábania pôdy

Hĺbka [m]	pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>		H		T		V	
	[%]		[mmol.kg <sup>-1</sup> ]					
	KT	MT	KT	MT	KT	MT	KT	MT
<b>Černoze</b>								
0,0–0,1	7,13 a	6,73 a	12,2 a	16,9 a	125,1 a	141,5 a	90,6 a	88,1 a
0,1–0,2	7,25 a	7,15 a	10,5 a	13,1 a	148,8 a	147,7 a	93,0 a	91,1 a
0,2–0,3	7,32 a	7,05 a	9,9 a	12,0 a	117,0 a	146,7 a	91,5 a	91,8 a
0,3–0,4	7,48 a	7,21 a	7,8 a	7,2 a	159,0 a	153,8 a	95,1 a	95,3 a
(0,0–0,4)	7,30 a	7,04 a	10,1 a	12,3 a	137,5 a	147,4 a	92,6 a	91,6 a
<b>Hnedoze</b>								
0,0–0,1	7,05 a	6,91 a	13,1 a	16,2 a	117,7 a	121,2 a	88,9 a	86,6 a
0,1–0,2	7,06 a	6,98 a	12,8 a	15,3 a	105,2 a	118,0 a	87,8 a	87,0 a
0,2–0,3	7,40 a	6,98 a	9,3 a	14,3 a	106,9 a	122,3 a	91,3 a	88,3 a
0,3–0,4	7,21 a	7,10 a	9,6 a	11,0 a	118,6 a	145,6 a	91,9 a	92,4 a
(0,0–0,4)	7,18 a	6,99 a	11,2 a	14,2 a	112,1 a	126,8 a	90,0 a	88,6 a
<b>Čiernica</b>								
0,0–0,1	7,66 a	7,24 a	7,6 a	15,5 b	223,8 a	213,4 a	96,6 a	92,7 a
0,1–0,2	7,66 a	7,30 a	7,5 a	14,7 b	217,0 a	228,7 a	96,5 a	93,6 a
0,2–0,3	7,74 a	7,52 a	6,1 a	9,5 a	222,8 a	208,8 a	97,3 a	95,5 a
0,3–0,4	7,86 a	7,75 a	5,8 a	7,1 a	232,9 a	206,2 a	97,5 a	96,6 a
(0,0–0,4)	7,73 a	7,45 a	6,8 a	11,7 b	224,1 a	214,3 a	97,0 a	94,6 a
Vysvetlivky: pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub> – aktívna pôdna reakcia, H – hydrolytická kyslosť, T – kationová sorpčná kapacita, V – stupeň nasýtenia sorpčného komplexu bázickými kationmi, KT – konvenčné obrábanie pôdy, MT – bezorbové minimalizačné obrábanie pôdy. Rozdielne písmená (a-b) označujú, že vlastnosti pôdy medzi konvenčným a minimalizačným obrábaním sa štatisticky významne líšia pri ( $P < 0,05$ ) podľa Tukeyho testu.								

Porovnanie chemických vlastností pôdy obrábanej minimalizačne s pôdou obrábanou konvenčne poukázalo na vyššie pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub> a logicky nižšie hodnoty H najmä v 0,0–0,3 m vrstve pôdy obrábanej konvenčne (tab. 3). Dôvodom je pravidelné obracanie ornice, a tak vynášanie preplavených bázických kationov do povrchovej vrstvy pôdy, kým v pôde obrábanej minimalizačne zostávajú tieto látky v nižších vrstvách. Premiestnenie preplavených bázických kationov zo spodnej do povrchovej vrstvy pôdy, hlbšie zaprávanie pozberových zvyškov a hnojív sa prejavilo aj rovnomernejším obsahom bázických kationov, kationovej sorpčnej kapacity a vyšším nasýtením bázickými kationmi pôdy obrábanej konvenčne v porovnaní s obrábanou minimalizačne (najmä vo vrstve 0,0–0,3 m).

Pôda obrábaná konvenčne mala nepreukazne vyššie hodnoty pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub> než obrábaná mi-

nimalizačne (najmä vo vrstve 0,0 – 0,2/0,3 m). Rozdiely  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  síce neboli preukazné, avšak boli podobné tým, aké uviedli Büchi *et al.* (2017) aj Mloza-Banda *et al.* (2016).

Z výsledkov uvedených v tabuľke 3 je zrejmé, že okrem H, žiadna zo skúmaných sorpčných vlastností a  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  sa preukazne nelíšila medzi porovnávanými systémami obrábania. Preto hydrolytickú kyslosť možno považovať za lepší ukazovateľ okyslenia pôdy v porovnaní s ostatnými sledovanými parametrami. Uvedené konštatovanie boli potvrdené aj výsledkami uvádzanými Li a Johnson (2016).

## ZÁVERY

Výsledky ukázali, že koncentrácia a rozmiestnenie uhlíka v profile korešpondovala s hĺbkou obrábania. V povrchovej (0,0 – 0,1 m) vrstve pôdy obrábanej minimalizačne bol vyšší obsah celkového (v čiernici štatisticky preukazne) aj labilného organického uhlíka, kým vo vrstve 0,1 – 0,4 m boli vyššie obsahy oboch foriem uhlíka v pôde obrábanej konvenčne.

Premiestnenie preplavených bázičných katiónov orbou zo spodnej do povrchovej vrstvy pôdy, hlbšie zaprávanie pozberových zvyškov a hnojív sa prejavilo vyšším  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  a nižšou hydrolytickou kyslosťou najmä v 0,0 – 0,3 m vrstve pôdy obrábanej konvenčne než minimalizačne.

Transformáciou obrábania z konvenčného na minimalizačné došlo v černoze a hneдозemi k štatisticky preukaznému poklesu koncentrácie labilného uhlíka ( $C_L$ ) a k poklesu kvality humusu ( $C_{\text{HK}}/C_{\text{FK}}$  – zastúpenia uhlíka humínových kyselín a fulvokyselín), kým v čiernici došlo k štatisticky preukaznému nárastu hydrolytickej kyslosti (H). Preto možno  $C_L$ ,  $C_{\text{HK}}/C_{\text{FK}}$  a H považovať za vhodné indikátory zmien chemických vlastností pôdy, ktorej technológia obrábania bola transformovaná z konvenčnej na minimalizačnú.

## POĎAKOVANIE

*Práca vznikla s podporou projektu VEGA 1/0532/24 MŠVVŠ SR.*

## Kontaktná adresa

Nora Polláková, Martin Juriga, Peter Kováčik, Juraj Chlpík  
Ústav agronomických vied, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Tr. A Hlinku 2, 949 76 Nitra;  
nora.pollakova@uniag.sk  
martin.juriga@uniag.sk  
peter.kovacik@uniag.sk  
juraj.chlpik@uniag.sk

## LITERATÚRA

- Brady, N. G., Weil, R. R. 1999. *The Nature and Properties of Soils*. 12<sup>ed</sup>. New Jersey: Prentice Hall, Inc. Simons & Schuster A Viacon Comp., 881 p.
- Busari, M. A., Salako, F. K. 2013. Effect of tillage, poultry manure and NPK fertilizer on soil chemical properties and maize yield on an Alfisol at Abeokuta, south-western Nigeria. In *Nig. J. Soil Sci.*, 23: 206-218.
- Büchi, L., Wendling, M., Amossé, C., Jeangros, B., Sinaj, S., Charles, R. 2017. Long and short term changes in crop yield and soil properties induced by the reduction of soil

- tillage in a long term experiment in Switzerland. In *Soil Till Res.*, 174: 120-129. Dostupné na: doi: 10.1016/j.still.2017.07.002.
- Fujii, K., Hayakawa, C., Panitkasate, T., Maskhao, I., Funakaw, S., Kosaki, T., Nawata, E. 2017. Acidification and buffering mechanisms of tropical sandy soil in northeast Thailand. In *Soil Till Res.*, 165: 80-87. Dostupné na: doi: 10.1016/j.still.2016.07.008.
- Hanes, J. 1999. *Analýza sorpčných vlastností pôd*. Bratislava: Výskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy. 138 s.
- Haynes, R. J. 2005. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview. In *Adv. in Agronomy*, vol. 85, 2005, p. 221-268.
- Hrivňáková, K., Makovníková, J., Barančíková, G., Bezák, P., Bezáková, Z., Dodok, R., Grečo, V., Chlpík, J., Kobza, J., Lištjak, M., Mališ, J., Piš, V., Schlosserová, J., Slávik, O., Styk, J., Širáň, M. 2011. *Jednotné pracovné postupy rozborov pôd*. Bratislava: VÚPOP, 2011. 136 s.
- Hulugalle N. R., Weaver T. B. 2005. Short-term variations in chemical properties of Vertisols as affected by amounts, carbon/nitrogen ratio, and nutrient concentration of crop residues. In *Comm Soil Sci Plant Analysis.*, 36: 1449-1464. Dostupné na: doi: 10.1081/CSS-200058489.
- Jakab, G., Madárasz, B., Masoudi, M., Karlik, M., Király, C., Zacháry, D., Filep, T., Deke-mati, I., Centeri, C., Al-Graiti, T., Szalai, Z. 2023. Soil organic matter gain by reduced tillage intensity: Storage, pools, and chemical composition. In *Soil and Tillage Research*, 226, 105584. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105584>
- Jacobs A., Rauber R., Ludwig B. 2009. Impact of reduced tillage on carbon and nitrogen storage of two Haplic Luvisols after 40 years. In *Soil Till Res.*, 102: 158-164.
- Jacobs, A., Helfrich, M., Hanisch, S., Quendt, U., Rauber, R., Ludwig, B. 2010. Effect of conventional and minimum tillage on physical and biochemical stabilization of soil organic mater. In *Biol. Fertil. Soils.*, vol. 46, pp. 671–680.
- Kotorová, D., Kováč, L., Jakubová, J. & Balla, P. 2018. The long-term different tillage and its effect on physical properties of heavy soils. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, 21(3), 100–107. Dostupné na: <http://www.acta.fapz.uniag.sk>
- Kononova, M., Beľčíkova, N.P. 1961. Uskorennyje metody opredelenija sostava gumusa. In *Počvovedenie*, pp.125–129.
- Li W., Johnson Ch. E. 2016. Relationships among pH, aluminum solubility and aluminum complexation with organic matter in acid forest soils of the Northeastern United States. In *Geoderma*, 271: 234-242.
- Loginow, W., Wiśniewski, W., Gonet, S.S., Cieścińska, B. 1993. The method for determining susceptibility of soil organic matter to oxidation. In *Zsesyty problemowe podstepów nauk rolniczych*, z. 411. Bydgoszcz: ATR, pp. 207–212.
- Orlov, D.S., Grišina, L.A. 1981. *Praktikum po chimiji gumusa*. Moskva: Izdatelstvo Moskovskovo universiteta. 124 s.
- Polláková, N., Halmo, S., Šimanský, V. 2018. *Vplyv konvenčných a bezorbových minimalizačných technológií obrábania na vybrané fyzikálne, chemické a biologické vlastnosti pôdy vo zvolených lokalitách Nitrianskeho a Trnavského kraja*. Vedecká monografia. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 2018. 132 s.
- Polláková, N., Šimanský, V., Majzlík, J., Kováčik, P. 2015. The impact of introduced and indigenous woody plants on change of selected soil chemical properties in the Arbotretum Mlyňany. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 18, 2015, no. 2, p. 44–48. Dostupné na: doi: <http://dx.doi.org/10.15414/afz.2015.18.02.44-48>

- Qin, R., Stamp, P., Richner, W. 2004. Impact of tillage on root systems of winter wheat. In *Agron J.*, 96: 1523-1530.
- Sithole, N. J., Magwaza, L. S., & Thibaud, G.R. 2019. Long-term impact of no-till conservation agriculture and N-fertilizer on soil aggregate stability, infiltration and distribution of C in different size fractions. In *Soil and Tillage Research*, 190, 147–156. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.03.004>
- Tobiašová, E., Šimanský, V. 2009. *Kvantifikácia pôdnych vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 114 s.
- Watts, D. B., Torbert, H. A., Prior, S. A. 2010. Long-term tillage and poultry litter impacts soil carbon and nitrogen mineralization and fertility. In *Soil Fertility & Plant Nutr.*, 74: 1239-1247.



# Lúkarsko-pasienkárska sekcia



## **Druhovú diverzitu trávneho porastu ovplyvnená minerálnym hnojením aplikovaným rôznymi spôsobmi: pravidelne, prerušovane a cyklicky**

**Plant species diversity of semi-natural grassland influenced by mineral fertilization applied by various approaches: permanently, interrupted, and cyclically**

Norbert BRITANÁK, Lubomír HANZES

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby – Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica norbert.britanak@nppc.sk*

### **Abstract**

The aim of study was to evaluate effects of mineral fertilizer application on botanical composition of semi-natural grassland. In four-year period, nitrogen and phosphorus were applied as a single element or their combination at doses as follows: permanently ( $4 \times 30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ N}$  and/or  $4 \times 6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ P}$  once a year); interrupted (biyearly  $2 \times 60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  and/or  $2 \times 12 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ P}$ ) and cyclically (once a four year:  $120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  and/or  $24 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \text{ P}$  every second year). The highest (120N/24P) and middle (60N/12P) doses were applied as a rotation of macrobiogenic elements, as well. These treatments were compared with non-fertilized control and a set of fertilized controls. Effect on botanical composition of semi-natural grassland of these applications was investigated. Control treatments had the lowest level of plant species diversity. Nitrogen, phosphorus and their combination had idiosyncratic results, with lowest level of biodiversity in comparison to applied interrupted. However, the highest and middle doses mineral nutrients applied as rotation over four-year period provided, on average, better results. After the first cycle of applied nutrient on a rotation principle, it seems that such an approach to stabilize plant species richness.

**Keywords:** nitrogen, phosphorus, fertilization, plant species

### **ÚVOD**

Antropogénne aktivity úplne zmenili suchozemský povrch, oceány i atmosféru a preozdelili život na Zemi (Lewis, Malsin, 2015). Preto Paul Crutzen navrhol, dobu, v ktorej žijeme, pomenovať Antropocénu (Cruzten, Stoemer, 2000; Crutzen, 2002). Na základe týchto informácií rôzni autori (Rockström *et al.* 2009a,b; Steffen *et al.*, 2011, 2015) vytvorili koncept deviatich planetárnych limitov, ktoré, ak chce ľudstvo prežiť, by nemali byť prekročené. Jedným z týchto limitov je biogeochemický cyklus dusíka a fosforu. Autori kvantifikovali maximálne množstvo aplikovaného dusíka na jednu štvrtinu až jednu tretinu súčasnej úrovne. Pri fosfore horná hranica je stanovená na desať násobok rýchlosti zvetrávania/uvoľňovania tejto živiny do pôdneho prostredia. Keďže uvedené hranice sú prchavé, stanovili sme dávku dusíka na  $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  ako štvrtinovú dávku zo súčasných úrovní a  $6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  fosforu ako hornú hranicu zvetrávania materských hornín a jeho uvoľňovania do prostredia. Ďalšou planetárnou hranicou bola stanovená aj diverzita. Preto



v predložennom príspevku hodnotíme rôzne prístupy aplikovaného dusíka a fosforu (samostatne, alebo v kombinácii) na druhovú pestrosť poloprirodného trávneho porastu.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

V roku 2020 bol v Liptovskej Tepličke na trvalom trávnom poraste, ktorého pôdny typ je rendzina (pH neutrálna – 6,90; veľmi dobrá koncentrácia –  $C_{ox}$  43,20 g.kg<sup>-1</sup>; nízka koncentrácia P – 5,99 mg.kg<sup>-1</sup>; vyhovujúca koncentrácia K – 115,14 mg.kg<sup>-1</sup>; a veľmi vysoká koncentrácia Mg – 1131,45 mg.kg<sup>-1</sup>), založený pokus s aplikovaním minerálnych priemyselných hnojív. Aplikovali sa dusíkaté a fosforečné hnojivá: cyklicky (raz za štyri roky: N 60 alebo 120 kg.ha<sup>-1</sup>, P 12 alebo 24 kg.ha<sup>-1</sup> a ich kombinácia), prerušovane (každý druhý rok: N 30 alebo 60 kg.ha<sup>-1</sup>, P 6 alebo 24 kg.ha<sup>-1</sup>, a ich kombinácia), alebo každoročne (N 30, P 6 kg.ha<sup>-1</sup> a ich kombinácia). Ich vplyvy sa porovnávali s nehnojenu kontrolou, každoročne hnojeným variantom N120 a P24, ako aj rovnakým variantom, ale obohateným o draslík (K) (N120, P24, K48 – údaje za chemickou značkou prvku je množstvo kg.ha<sup>-1</sup>). Zároveň na ôsmich variantoch došlo v čase i priestore k zmene aplikovaných živín. Zámerom bolo aplikovať hnojivá takým spôsobom, aby za štyri roky v trvaní jedného cyklu, boli parcely trávneho porastu hnojené 120 kg.ha<sup>-1</sup>N, 24 kg.ha<sup>-1</sup> P a ich kombinácia. Uvedené sa netýka hnojených kontrol. Aplikáciu živín v jednotlivých rokoch zobrazuje tabuľka 1.

Priemyselné fosforečné a dusíkaté hnojivá (dávky N30 a N60) boli aplikované na jar. Dávka dusíka N120 bola delená na dve (rovnaké), pričom prvá dávka bola rozhodená na jar a druhá po prvej kosbe. Porasty sa využívali extenzívnym spôsobom, t.j. dvakrát počas vegetačného obdobia: v čase maximálne naakumulovanej fytohmoty (júl) a potom ku koncu vegetácie (koniec septembra, prípadne začiatok októbra).

Pred prvou kosbou sa vykonalo botanické hodnotenie na stanovenie prítomnosti vyšších rastlín. Zaznamenané rastliny sa zapísali do xls súboru, v ktorom boli zoradené podľa opakovaní, ako aj za celý variant. V predložennom príspevku hodnotíme počet druhov rastlín v priemere za opakovanie, ako aj druhy prítomné na variante.

Rozmery parcely boli 1 × 1 m. Každý zo sledovaných 20 variantov mal 4 opakovania. Parcely boli od seba navzájom oddelené 0,5 m chodníkom.

**Tabuľka 1** Schéma dávok živín aplikovaných na jednotlivé varianty

Variant	2020	2021	2022	2023
1	N120	0	P24	0
2	0	N120	0	P24
3	P24	0	N120	0
4	0	P24	0	N120
5 Permanentne	P6	P6	P6	P6
6 Prerušovane	P12	0	P12	0
7 Cyklicky	P24	0	0	0
8 Permanentne	N30	N30	N30	N30
9 Prerušovane	N60	0	N60	0
10 Cyklicky	N120	0	0	0
11 Permanentne	N30 P6	N30 P6	N30 P6	N30 P6
12 Prerušovane	N60 P12	0	N60 P12	0
13 Cyklicky	N120 P24	0	0	0

Pokračovanie Tabuľky 1				
Variant	2020	2021	2022	2023
14 Permanentne	N120 P24	N120 P24	N120 P24	N120 P24
15 Kontrola	0	0	0	0
16	N60	0	P12	0
17	0	N60	0	P12
18	P12	0	N60	0
19	0	P12	0	N60
20 Permanentne	N120 P24 K48	N120 P24 K48	N120 P24 K48	N120 P24 K48

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe variantov 1 – 4 a 16 – 19 (rotačná aplikácia živín) možno hovoriť, že predložené výsledky predstavujú súbor výstupov jedného cyklu. Tabuľka 3 zobrazuje výstupy štatistického šetrenia, pomocou dvojcestnej analýzy variancie, kde roky, varianty aj ich interakcia poukazujú na štatisticky vysoko preukazné rozdiely medzi variantmi v prítomnosti rastlinných druhov (merané na základe jednotlivých opakovaní).

Z tabuľky 2 vyplýva, že najmenšia diverzita rastlinných druhov, či už v priemer za variant, alebo po opakovaní, sa nachádza v variantoch buď bez aplikácie živín (kontrola, variant 15), alebo aplikácia živín v „plnej“ dávke a pravidelným každoročným spôsobom (varianty 14 a 20). Ak sa strieda aplikácia dusíka a fosforu, raz za štyri roky (varianty 1 až 4 a 16 až 19) takýto prístup má stabilizujúci efekt na druhovú diverzitu. Pritom polovičné množstvo N aj P (varianty 16 – 19) sa prezentujú mierne vyššou diverzitou, za variant (38,06 rastliny) i po opakovaní (27,78), než varianty s plnou úrovňou výživy (varianty 1 až 4 – variant: 37,87; opakovanie: 27,66).

Hnojenie fosforom sa prezentuje nižšou druhovou pestrosťou, než hnojenie dusíkom. Kombinovaná aplikácia spôsobuje väčšiu redukciu. Výnimkou je hodnotenie na základe opakovania. Tieto výsledky sú rôznosmerné, ale (za variant) prerušovaná aplikácia, t.j. striedanie hnojenia a nehnojenia, redukuje druhovú pestrosť. Pri vyhodnocovaní za opakovania fosfor a dusík majú úplne opačné pôsobenie ak sa živiny aplikujú permanentne, prerušovane, alebo cyklicky (tabuľka 2). Kombinácia oboch živín pozvoľna znižuje diverzitu smerom od permanentného k cyklickému aplikovaniu priemyselných hnojív. Rôznosmernosť dodávaných živín podľa Suding *et al.* (2005) potvrdzujú tým, že dusík nepriamo, prostredníctvom zatienenia vyšších a rýchlejšie rastúcich druhov, redukuje druhovú diverzitu, najmä nižších a pomaly rastúcich živín. Autori ďalej poukazujú na to, že fosfor priamym spôsobom ovplyvňuje diverzitu a to tým, že po aplikácii fosforečných hnojív z porastu ustupujú tie druhy, ktoré majú nákladné mechanizmy osvojovania si tejto živiny. Naproti tomu Hautier *et al.* (2009) hovoria o tom, že (experimentálne) dodania svetla ne-

guje negatívne pôsobenie aplikovaných živín.

**Tabuľka 2** Priemerné štvorročné výsledky zastúpenia rastlín na jednotlivých variantoch (ks.m<sup>-2</sup>)

Variant	Počet druhov – variant n=4	Počet druhov – opakovanie n=16
1	36,75 <sup>ab</sup>	27,31 <sup>bcd</sup>
2	38,25 <sup>ab</sup>	27,62 <sup>cde</sup>
3	37,75 <sup>ab</sup>	28,75 <sup>e</sup>
4	38,75 <sup>b</sup>	26,94 <sup>abcd</sup>
5 Permanentne	37,25 <sup>ab</sup>	28,44 <sup>de</sup>
6 Prerušovane	37,00 <sup>ab</sup>	25,94 <sup>abcd</sup>
7 Cyklicky	39,00 <sup>b</sup>	28,06 <sup>cde</sup>
8 Permanentne	39,25 <sup>b</sup>	26,19 <sup>abcd</sup>
9 Prerušovane	38,25 <sup>ab</sup>	26,50 <sup>abcde</sup>
10 Cyklicky	39,00 <sup>b</sup>	25,81 <sup>abc</sup>
11 Permanentne	37,25 <sup>ab</sup>	26,94 <sup>abcd</sup>
12 Prerušovane	34,50 <sup>ab</sup>	26,88 <sup>abcde</sup>
13 Cyklicky	36,25 <sup>ab</sup>	26,31 <sup>abcde</sup>
14 Permanentne	34,25 <sup>ab</sup>	24,75 <sup>a</sup>
15 Kontrola	35,00 <sup>ab</sup>	25,87 <sup>abc</sup>
16	38,00 <sup>ab</sup>	26,63 <sup>abcde</sup>
17	37,50 <sup>ab</sup>	28,12 <sup>cde</sup>
18	39,00 <sup>b</sup>	28,13 <sup>cde</sup>
19	37,75 <sup>ab</sup>	28,25 <sup>cde</sup>
20 Permanentne	33,50 <sup>a</sup>	25,06 <sup>ab</sup>

Poznámka: rovnaké písmená uvedené v hornom indexe znamenajú, že medzi porovnávanými variantmi neexistujú štatistické preukazné rozdiely ( $P= 0,05$ )

**Tabuľka 3** Výsledky štatistického šetrenia (celý experiment)

	Suma štvorcov	Df	Priemerný štvorec	F-hodnota	P
Grand Mean	231985	319	727,22		
Roky	1164,47	3	388,16	87,18	< 0,0000
Varianty	398,325	19	20,96	46,53	0,000 7
Varianty ×	7963,4	57	13,39	2,51	< 0,0000
Roky	2002	240	8,34	1,61	0,007 8
Chyba					

**Tabuľka 4** Priemerné zastúpenie rastlín v jednotlivých rokoch (ks.m<sup>2</sup>)

Rok	Počet druhov – variant n=20	Počet druhov – opakovanie n=80
2020	36,75 <sup>a</sup>	27,90 <sup>c</sup>
2021	40,80 <sup>b</sup>	29,46 <sup>d</sup>
2022	35,40 <sup>a</sup>	24,46 <sup>a</sup>
2023	35,90 <sup>a</sup>	25,88 <sup>b</sup>

Poznámka: rovnaké písmená uvedené v hornom indexe znamenajú, že medzi porovnávanými variantmi neexistujú štatistické preukazné rozdiely ( $P=0,05$ )

Z tabuľky 4 vyplýva, že v druhom roku sledovaní bolo zaznamenaných najviac rastlinných druhov, v priemere za variant. Tento rok mal preukazuje najvyššiu diverzitu počas sledovaného obdobia (ANOVA  $F_{3,76} = 15,391$ ;  $P < 0,0001$ ). Hodnotenie diverzity na základe opakovaní poukazuje na to, že každý pestovateľský ročník sa odlišoval od ostatných (ANOVA  $F_{3,316} = 38,770$ ;  $P < 0,0001$ ).

## ZÁVER

Hnojenie poloprirodného trávneho porastu dusíkom a fosforom, vždy samostatne, raz za štyri roky, nemá až taký negatívny vplyv ako aplikácia fosforu každoročne, raz za dva roky, či raz za štvorročné obdobie. Uvedené platí pre obe úrovne rotačných aplikácií.

Prerušovaná aplikácia dusíka, fosforu, alebo oboch živín naraz, má negatívne pôsobenie na druhovú pestrosť. Rovnako nepriaznivé pôsobenie majú aj maximálne úrovne aplikovaného dusíka a fosforu (+obohatené o variant s draslíkom) i nehnojená kontrola.

## Kontaktná adresa

Ing. Norbert Britaňák, PhD. – Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby – Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Oddelenie pratotechniky, Regionálne výskumné pracovisko, ul. Dr. Gašperíka 599, 033 80 Liptovský Hrádok

## LITERATÚRA

- CRUTZEN P.J. (2002) Geology of mankind. *Nature* 2002 (415) 6867: 23
- CRUTZEN P., STOERMER (2000) The “Anthropocene”. *Global Change Newsletter* 2000 (41) 5: 17 – 18
- HAUTIER Y., NIKLAUS P.A. HECTOR A. (2009) Competition for light causes plant biodiversity loss after eutrophication. *Science* 2009 (324) 5927: 636 – 638
- LEWIS S.L., MASLIN M.A. (2015) Defining the Anthropocene. *Nature* 2015 (519) 7542: 171 – 180
- ROCKSTRÖM J., STEFFEN W., NOONE K., PERSSON Å., CHAPIN F.S. III, LAMBIN E., LENTON T.M., *et al.* (2009a) Planetary boundaries: Exploring the safe operating space for humanity. *Ecology and Society* 2009 (14) 2: article 32, 33 p.
- ROCKSTRÖM J., STEFFEN W., NOONE K., PERSSON Å., CHAPIN F.S. III, LAMBIN E.F. LENTON T.M., *et al.* (2009b) A safe operating space for humanity. *Nature* 2009 (461) 7263: 472 – 475
- STEFFEN W., PERSSON Å., DEUTSCH, ZALASIEWICZ J., WILLIAMS M., RICHARD-

- SON K., CRUMLEY C., *et al.* (2011) The Anthropocene: from global change to planetary stewardship. *Ambio* 2011 (40) 7: 739 – 761
- STEFFEN W., RICHARDSON K., ROCKSTRÖM J., CORNELL S.E., FETZER I., BENNETT E.M., BIGGS R., *et al.* (2015) Sustainability: Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* 2015 (347) 6223: Summary p 736. Research Article: 1259855,10p.
- SUDING K.N., COLLINS S.L., GOUGH L., CLARK C., CLELLAND E.E., GROSS K.L. MILCHUNAS D.G., PENNING S. (2005) Functional – and abundance-based mechanisms explain diversity loss due to N fertilization. *PNAS* 2005 (102) 12: 4387 – 4392

## Testovanie dávok digestátu na botanické zloženie trávneho porastu

### Testing digestate doses for botanical composition of grassland

Ing. Jozef Čunderlík, PhD.

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby -  
ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva,  
Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, E-mail: jozef.cunderlik@nppc.sk*

#### Abstract

The aim of the research task was to verify the influence of different doses of alternative organic fertilizer (digestate - after the production of biogas) on the botanical composition of grasslands.

On average of three years (2019 and 2021) grass species (*Arrhenatherum elatius*, *Agrostis stolonifera*, *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*) were dominant on fertilized variants. Leguminous species had a higher representation mainly in the second and third mowing (*Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Lotus corniculatus*). They had the highest representation of herbal species (*Tragopogon pratensis*, *Taraxacum officinale*, *Ranunculus acris*). The herbal component had a higher representation than leguminous species in the monitored years.

**Keywords:** grassland, digestate, botanical composition

#### ÚVOD

Pôda je prostredím, do ktorého sa v prípade poľnohospodárskej výroby aplikujú rôzne, najmä organické látky (komposty, biokaly, dnové sedimenty, pesticídy, čistiarenské kaly, atď.) za účelom zvyšovania produkčných vlastností pôdy (Kubica, 2006).

Výrazný pokles výroby organických hospodárskych hnojív posúva do popredia rôzne alternatívne formy využívania hospodárskych odpadov organického pôvodu so zámerom riešiť deficit organickej hmoty v pôde a udržať pôdnu úrodnosť na požadovanej úrovni (Bielek, 2005). Jednou z možností, ktorá zároveň prispieva i k ochrane životného prostredia, je využitie digestátu, odpadu po kontinuálnej fermentácii živočíšnych a rastlinných odpadov, ktorej cieľom je výroba bioplynu (Víglašký, 2007). Bioplyn, ktorý sa vyrába anaeróbnou digestiou, umožňuje produkciu obnoviteľného tepla, elektrickej energie a dopravného paliva, zatiaľ čo cyklus živín sa uzatvára použitím druhého produktu, digestátu, ako organického hnojiva (Gaduš a Pružinský, 2010). Vyhnitý kal z bioplynovej stanice obsahuje značné množstvo živín a za predpokladu že spĺňa stanovené parametre, je možné ho použiť ako hnojivo (Horbaj a Marásová, 2007).

#### MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Cieľom riešenej výskumnej úlohy bolo overiť vplyv rôznych dávok vyhnitého digestátu, ako alternatívneho organického hnojiva na botanické zloženie trávneho porastu v priebehu rokov 2019–2021. Úloha sa riešila na plochách pokusného areálu NPPC - VÚTPPH,

stanovište Radvaň, ktoré sa nachádza v nadmorskej výške 480 m na sklonitom svahu so SV expozíciou a presnou pozíciou podľa GPS – s.š. 48° 71.875' a v.d. 19° 10.378'. Priemerné ročné zrážky sú 853 mm, za vegetačné obdobie 441 mm. Priemerné ročné teploty sú 7,7 °C, za vegetáciu 13,6 °C. Geologický substrát stanovišta tvoria zvetraliny andezitov, pôdny typ – kambizem, pôdny druh – hlinitá. Vyhnitý digestát, ktorý sme aplikovali na trávny porast, je pohotovostným zdrojom dusíka, ktorý je fyziologicky využiteľnejší než z minerálnych hnojív. Jeho zloženie je primárne ovplyvnené množstvom a chemickým zložením vstupných surovín, čo sú v našom prípade kukuričná siláž a trávna senáž (tab. 1). Digestát bola tmavá, nepáchnuca, heterogénna suspenzia pevných a koloidných látok. Vyhnitý digestát mal v roku 2019 pH 7,45, neokysľoval pôdu, a tým zlepšoval využitie fosforu z pôdy. Obsah sušiny bol 67,51 %. Výrazné rozdiely v chemickom zložení digestátu v roku 2020 sme nezistili. Najvyšší obsah sušiny (102,40 %) a fosforu (29,78 g.kg<sup>-1</sup>) bol v roku 2021. Digestát sa aplikoval na povrch porastu na jar v každom sledovanom roku v nasledovnej dávke hnojenia:

V1 – nehnojená kontrola

V2 – N 90 v kg.ha<sup>-1</sup> č.ž. digestát (jednorazová dávka na jar)

V3 – N 120 v kg.ha<sup>-1</sup> č.ž. digestát (jednorazová dávka na jar)

V4 – N 150 v kg.ha<sup>-1</sup> č.ž. digestát (jednorazová dávka na jar)

Na základe chemického rozboru vyhniteho digestátu sa vypočítali dávky digestátu, rovnajúce sa čistým živinám N vo variantoch V2, V3 a V4.

Dávky digestátu sa aplikovali na trávny porast po zazelenaní porastu. Porasty sa v úžitkovom roku využívali 3 × kosbou, pričom 1. kosba sa uskutočnila na začiatku klasenia prevládajúcich druhov tráv, druhá s odstupom 7-8 týždňov po prvej a tretia (podľa stavu porastu) 8-10 týždňov po druhej. Pred každou kosbou sa vykonalo floristické zloženie porastov metódou projektívnej dominancie podľa Regala (1968). Pred založením pokusu v roku 2019 a po skončení pokusu v roku 2021 sme z hĺbky 0–150 mm odobrali pôdne vzorky (tab. 2) na stanovenie základných agrochemických vlastností pôdy: pH (KCl), humus, Cox, N, Ca, P, K, Mg. V jarnom odbere pôdnych vzoriek v roku 2019 sa sledované varianty vyznačujú kyslou pôdnou reakciou, strednou zásobou humusu, vyššou zásobou dusíka a horčíka a vyhovujúcou zásobou draslíka. Obsah fosforu a vápnika je nízky. V jesennom odbere v roku 2021 sa varianty vyznačujú slabo kyslou pôdnou reakciou, obsah humusu bol vyšší (48,64–55,81 g.kg<sup>-1</sup>) ako v jarnom odbere. Zvýšil sa aj obsah fosforu (3,42–3,86 g.kg<sup>-1</sup>), ale celkovo bol nízky. Obsah draslíka bol dobrý. Vysoké obsahy horčíka sme zaznamenali na všetkých variantoch aj v jesennom odbere.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Do bioplynovej stanice (BPS) samozrejme môžu vstupovať i iné, rôznorodé zložky (kaly z ČOV, vedľajšie živočíšne produkty...), ktoré sa odrazia na chemických vlastnostiach digestátu – obsahu sušiny, organických látok, makroživín, mikroživín, rizikových látok a pH. V trávnom poraste sa vyskytujú rôzne druhy a skupiny rastlín s rôznymi nárokmi a schopnosťami osvojovania si živín. Variabilita stanovištných podmienok a druhového zloženia porastov je príčinou širokého rozpätia obsahu živín v sušine, aké nachádzame pri väčšine poľnohospodárskych plodín.

V rokoch 2019–2021 sme hodnotili botanické zloženie trávnych porastov pred kosbami. V roku 2019 (tab. 3) mali najvyššie zastúpenie pred prvou kosbou trávne druhy na hnojených variantoch (65–73 %). Dominantné zastúpenie mali *Arrhenatherum elatius*,

*Agrostis stolonifera*, *Dactylis glomerata* a *Lolium perenne*. Zastúpenie bylinných druhov bolo na úrovni 21 – 24%. Prevládali hlavne *Achillea millefolium*, *Capsella bursa-pastoris*, *Galium odoratum*, *Hypericum perforatum*, *Plantago lanceolata* a *Taraxacum officinale*. Podiel bôbových bol na úrovni 6 – 18%. Z nich mali najvyššie zastúpenie *Trifolium repens*, *Trifolium pratense* a *Lotus corniculatus*. Pred druhou kosbou sme vykonali botanické zloženie trávnych porastov (tab. 3). Trávne druhy aj v druhej kosbe dominovali na všetkých variantoch (60 – 75 %). Mierny pokles bylinných druhov bol na hnojených variantoch (16 – 23 %). Na kontrolnom variante došlo k nárastu bylinnej zložky na úroveň 25 %. Zastúpenie bôbových, v porovnaní s prvou kosbou, bolo vyššie o 4 %. Najnižšie zastúpenie (9 %) bolo na variante hnojenom dávkou digestátu 150 kg N č.ž.ha<sup>-1</sup>. V tretej kosbe (tab. 3) došlo na všetkých variantoch k nárastu bôbových druhov na úroveň 12 – 25 %. Trávne druhy na kontrolnom variante zaznamenali výrazný pokles, na úroveň 55 %. Na variantoch, hnojených dávkou digestátu 90 kg N č.ž. ha<sup>-1</sup>, 120 kg N č.ž.ha<sup>-1</sup> a 150 kg N č.ž.ha<sup>-1</sup>, sme zaznamenali rovnakú úroveň zastúpenia trávnych druhov, ako v druhej kosbe. Bylinné druhy dosiahli najnižšie zastúpenie (13 – 20 %) na všetkých variantoch, v porovnaní s prvou a druhou kosbou. **Varianty vo všetkých troch kosbách mali úplné zapojenie porastu s minimom prázdnych miest.**

V druhom roku, v rámci sledovaných parametrov, došlo k zmenám v botanickom zložení jednotlivých druhov pred kosbami (tab. 4). Najvyššie zastúpenie pred prvou kosbou mali trávne druhy na hnojených variantoch (65 – 75 %). Dominantné zastúpenie mali *Arrhenatherum elatius*, *Agrostis stolonifera*, *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Festuca pratensis* a *Festuca rubra*. **V porovnaní s rokom 2019 došlo k nárastu trávnych druhov v poraste.** Zastúpenie bôbových bolo na úrovni 10 – 15 %. Zvýšené zastúpenie mali *Trifolium pratense* a *Vicia cracca*. Naopak, pokles v zastúpení sme zaznamenali u *Trifolium repens* a *Lotus corniculatus*. Zastúpenie bylinných druhov bolo na úrovni 15 – 20 %. Zvýšené zastúpenie, v porovnaní s rokom 2019, mali *Tragopogon pratensis*, *Taraxacum officinale*, *Veronica chamaedrys* a *Leucanthemum vulgare*. Pokles v zastúpení bol u druhov *Acetosa pratensis*, *Alchemilla vulgaris*, *Capsella bursa-pastoris* a *Galium odoratum*. Trávne druhy dominovali aj v druhej kosbe (tab. 4) na všetkých sledovaných variantoch (62 – 71 %). Na všetkých variantoch došlo k nárastu bôbových druhov na úroveň 14 – 25 %. Zastúpenie bôbových, v porovnaní s prvou kosbou, bolo vyššie o 38 %. Pokles bylinných druhov v druhej kosbe sme zaznamenali na všetkých variantoch (12 – 17 %). V tretej kosbe (tab. 4) došlo k poklesu bôbových druhov na 13 – 20 % v porovnaní s druhou kosbou. Bylinné druhy zaznamenali nárast na 14 – 19 % na všetkých variantoch v porovnaní s druhou kosbou. Trávne druhy zaznamenali zvýšené zastúpenie na variantoch, hnojených dávkou digestátu 120 kg N č.ž.ha<sup>-1</sup> a 150 kg N č.ž.ha<sup>-1</sup>. **Vysoké dávky dusika podporujú vyššie zastúpenie trávnych druhov v porastoch**, ako to uvádzajú (Holúbek, *et al.*, 2007; Krajčovič, *et al.*, 2002; Vertes, *et al.*, 2004). V roku 2021 sme zaznamenali zmeny v botanickom zložení trávneho porastu na všetkých variantoch pokusu (tab. 5). Najvyššie zastúpenie pred prvou kosbou mali trávne druhy na hnojených variantoch (70 – 74 %). Dominantné zastúpenie mali *Arrhenatherum elatius*, *Agrostis stolonifera*, *Lolium perenne*, *Festuca pratensis* a *Poa pratensis*. V porovnaní s rokom 2020 došlo k poklesu v zastúpení trávnych druhov *Phleum pratense* a *Festuca rubra* v poraste. Podiel bôbových bol na úrovni 12 – 18 %. Zvýšené zastúpenie mali *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Lotus corniculatus*. Zastúpenie bylinných druhov bolo na úrovni 12 – 15 %. Zvýšené zastúpenie v porovnaní s rokom 2020 mal len *Ranunculus acris*. Pokles v zastúpení bol u *Alchemilla vulgaris*, *Taraxacum*



*officinale*, *Plantago lanceolata*, *Veronica chamaedrys* a *Leucanthemum vulgare*. Výskyt prázdnych miest (2 %) bol na kontrolnom variante spôsobený poškodením porastu raticovou zverou. Trávne druhy aj v druhej kosbe (tab. 5) dominovali na všetkých variantoch (65–72 %). Na všetkých variantoch došlo k nárastu bôbových druhov na úroveň 18–23 %. Nárast bôbových druhov bol o 26 % v porovnaní s prvou kosbou. Pokles bylinných druhov (10–12 %) bol na všetkých sledovaných variantoch. Zastúpenie bylín, v porovnaní s prvou kosbou, bolo nižšie o 22 %. V tretej kosbe (tab. 5) došlo k nárastu bylinných druhov na úroveň 16–21 % na všetkých variantoch. Bôbovité druhy zaznamenali pokles 12–17 % na všetkých variantoch. Trávne druhy zaznamenali pokles zastúpenia (62–72 %) na všetkých sledovaných variantoch v porovnaní s prvou a druhou kosbou. V roku 2021 bolo vyššie zastúpenie trávnych druhov v prvej kosbe o 2 % v porovnaní s druhou kosbou a o 6 % vyššie, ako v tretej kosbe. Bôbovité druhy mali vyššie zastúpenie v druhej kosbe o 26 % v porovnaní s prvou a treťou kosbou. Celkové zastúpenie bylinných druhov bolo vyššie v tretej kosbe o 25 % ako v prvej a o 41 % ako v druhej kosbe.

Tabuľka 1 Chemické zloženie digestátu

Rok	pH/KCl	Sušina %	N	P	K	Ca	Na	Mg
			g.kg <sup>-1</sup>					
2019	7,45	67,51	47,90	15,11	49,46	25,97	9,95	12,32
2020	7,65	61,27	63,38	16,16	50,79	32,65	4,69	16,55
2021	7,41	102,40	46,29	29,78	36,13	15,62	2,93	25,39

Tabuľka 2 Agrochemické vlastnosti pôdy (0–150 mm) v rokoch 2019–2021

Rok	Variant	pH/KCl	Humus	Cox	N	Ca	P	K	Mg
			g.kg <sup>-1</sup>				mg.kg <sup>-1</sup>		
2019 Jarný odber	Kontrola	5,10	52,06	30,20	2,31	1,13	1,73	115,28	884,83
	Biokal 90 kg.ha <sup>-1</sup>	4,30	46,38	26,90	2,04	1,24	1,69	99,31	646,35
	Biokal 120 kg.ha <sup>-1</sup>	4,66	42,76	24,80	2,31	1,24	1,52	138,74	705,56
	Biokal 150 kg.ha <sup>-1</sup>	4,65	40,69	23,60	2,20	1,29	1,52	157,93	767,26
2021 Jesenný odber	Kontrola	5,81	51,20	29,70	1,97	2,05	3,42	135,78	671,17
	Biokal 90 kg.ha <sup>-1</sup>	5,95	55,81	32,37	2,43	2,07	3,67	168,81	522,35
	Biokal 120 kg.ha <sup>-1</sup>	5,74	54,28	31,48	2,32	2,11	3,86	152,29	613,28
	Biokal 150 kg.ha <sup>-1</sup>	5,24	48,64	28,22	2,14	2,15	3,77	131,65	625,79

**Tabuľka 3** Floristické zloženie porastov (%) v prvej kosbe v roku 2019

1. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	60	65	68	73
BŔBOVITÉ	18	11	9	6
OSTATNÉ BYLINY	22	24	23	21
PRÁZDNE MIESTA	–	–	–	–
<i>Arrhenatherum elatius</i>	9	10	7	13
<i>Agrostis stolonifera</i>	5	6	8	8
<i>Dactylis glomerata</i>	7	9	10	11
<i>Festuca arundinacea</i>	5	4	3	6
<i>Festuca pratensis</i>	8	7	6	5
<i>Festuca rubra</i>	4	6	7	5
<i>Lolium perenne</i>	9	7	6	8
<i>Phleum pratense</i>	4	8	7	6
<i>Poa pratensis</i>	8	6	9	7
<i>Trisetum flavescens</i>	1	2	5	4
<i>Lotus corniculatus</i>	5	2	1	+
<i>Trifolium pratense</i>	4	2	3	2
<i>Trifolium repens</i>	8	7	4	3
<i>Vicia pannonica</i>	1	+	1	1
<i>Achillea millefolium</i>	4	5	3	2
<i>Alchemilla vulgaris</i>	5	4	2	3
<i>Anthriscus sylvestris</i>	1	+	3	2
<i>Campanula rapunculoides</i>	+	–	1	+
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	3	2	3	1
<i>Convolvulus arvensis</i>	–	+	1	1
<i>Crepis biennis</i>	–	+	–	1
<i>Echinochloa crus galli</i>	+	–	1	+
<i>Elytrigia repens</i>	+	–	–	+
<i>Chenopodium album</i>	+	–	1	
<i>Galium odoratum</i>	3	1	1	2
<i>Hypericum perforatum</i>	+	5	2	3
<i>Leucanthemum vulgare (LAM)</i>	+	+	–	+
<i>Meum atharnanticum</i>	1	+	+	–

Pokračovanie tabuľky 3				
1. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
<i>Plantago lanceolata</i>	2	3	1	3
<i>Polygonum arviculare</i>	+	+	+	–
<i>Ranunculus acris</i>	+	–	–	+
<i>Rumex acetosa</i>	+	+	1	+
<i>Stellaria graminea</i>	–	+	+	–
<i>Tragopogon pratensis</i>	+	+	1	1
<i>Taraxacum officinale</i>	2	2	1	1
<i>Veronica chamaedrys</i>	1	2	1	1
2. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	60	65	70	75
BÔBOVITÉ	15	12	10	9
OSTATNÉ BYLINY	25	23	20	16
PRÁZDNE MIESTA	–	–	–	–
3. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	55	65	71	75
BÔBOVITÉ	25	19	14	12
OSTATNÉ BYLINY	20	16	15	13

**Tabuľka 4** Floristické zloženie porastov (%) v prvej kosbe v roku 2020

1. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	65	69	70	75
BÔBOVITÉ	15	13	11	10
OSTATNÉ BYLINY	20	18	19	15
PRÁZDNE MIESTA	–	–	–	–
<i>Arrhenatherum elatius</i>	7	9	8	10
<i>Agrostis stolonifera</i>	8	7	9	8
<i>Dactylis glomerata</i>	6	7	8	9
<i>Festuca arundinacea</i>	7	5	4	8
<i>Festuca pratensis</i>	10	9	8	7
<i>Festuca rubra</i>	8	7	6	5
<i>Lolium perenne</i>	7	6	8	9
<i>Phleum pratense</i>	3	7	6	5

<b>Pokračovanie tabuľky 4</b>				
<b>1. kosba</b>	<b>1. variant</b>	<b>2. variant</b>	<b>3. variant</b>	<b>4. variant</b>
<i>Poa pratensis</i>	7	8	7	9
<i>Trisetum flavescens</i>	2	4	6	5
<i>Lotus corniculatus</i>	2	1	1	1
<i>Trifolium pratense</i>	7	6	5	4
<i>Trifolium repens</i>	5	5	3	2
<i>Vicia cracca</i>	1	1	2	3
<i>Acetosa pratensis</i>	1	2	3	2
<i>Alchemilla vulgaris</i>	2	1	3	1
<i>Anthriscus sylvestris</i>	+	+	1	+
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	1	2	1	1
<i>Chenopodium album</i>	+	+	+	-
<i>Galium odoratum</i>	2	2	1	1
<i>Leucanthemum vulgare (LAM)</i>	3	2	1	2
<i>Meum atharnanticum</i>	+	-	+	-
<i>Plantago lanceolata</i>	2	2	1	2
<i>Rumex acetosa</i>	-	-	1	1
<i>Stellaria graminea</i>	+	-	+	+
<i>Tragopogon pratensis</i>	1	1	2	1
<i>Taraxacum officinale</i>	3	2	1	2
<i>Trollius altissimus</i>	1	1	2	1
<i>Veronica chamaedrys</i>	4	3	2	1
<b>2. kosba</b>	<b>1. variant</b>	<b>2. variant</b>	<b>3. variant</b>	<b>4. variant</b>
TRÁVY	62	63	68	71
BŔBOVITÉ	21	25	19	14
OSTATNÉ BYLINY	17	12	13	15
PRÁZDNE MIESTA	-	-	-	-
<b>3. kosba</b>	<b>1. variant</b>	<b>2. variant</b>	<b>3. variant</b>	<b>4. variant</b>
TRÁVY	61	67	70	73
BŔBOVITÉ	20	18	14	13
OSTATNÉ BYLINY	19	15	16	14
PRÁZDNE MIESTA	-	-	-	-

Tabuľka 5 Floristické zloženie porastov (%) v prvej kosbe v roku 2021

1. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	68	70	72	74
BŮBOVITÉ	18	16	13	12
OSTATNÉ BYLINY	12	14	15	14
PRÁZDNE MIESTA	2	–	–	–
<i>Arrhenatherum elatius</i>	9	10	9	9
<i>Agrostis stolonifera</i>	8	7	8	8
<i>Dactylis glomerata</i>	5	6	9	9
<i>Festuca arundinacea</i>	7	4	5	7
<i>Festuca pratensis</i>	9	9	8	8
<i>Festuca rubra</i>	8	8	6	6
<i>Lolium perenne</i>	9	6	8	7
<i>Phleum pratense</i>	4	8	7	6
<i>Poa pratensis</i>	7	9	6	9
<i>Trisetum flavescens</i>	2	3	6	5
<i>Lotus corniculatus</i>	3	2	1	1
<i>Trifolium pratense</i>	8	7	6	5
<i>Trifolium repens</i>	6	5	4	3
<i>Vicia cracca</i>	1	2	2	3
<i>Acetosa pratensis</i>	1	2	2	1
<i>Alchemilla vulgaris</i>	1	1	1	1
<i>Anthriscus sylvestris</i>	–	+	1	+
<i>Campanula rapunculoides</i>	+	–	+	–
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	1	2	1	1
<i>Convolvulus arvensis</i>	+	+	–	+
<i>Chenopodium album</i>	+	+	+	–
<i>Galium odoratum</i>	1	1	1	1
<i>Leucanthemum vulgare (LAM)</i>	1	1	1	2
<i>Plantago lanceolata</i>	1	2	1	2
<i>Polygonum arviculare</i>	+	–	–	+
<i>Rumex acetosa</i>	–	+	1	1
<i>Ranunculus acris</i>	+	1	2	1
<i>Tragopogon pratensis</i>	1	1	1	1

Pokračovanie tabuľky 5				
1. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
<i>Taraxacum officinale</i>	2	2	1	1
<i>Trollius altissimus</i>	1	1	1	1
<i>Veronica chamaedrys</i>	2	1	1	1
2. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	65	69	71	72
BŔBOVITÉ	23	21	18	18
OSTATNÉ BYLINY	12	10	11	10
PRÁZDNE MIESTA	–	–	–	–
3. kosba	1. variant	2. variant	3. variant	4. variant
TRÁVY	62	65	69	72
BŔBOVITÉ	17	16	14	12
OSTATNÉ BYLINY	21	19	17	16
PRÁZDNE MIESTA	–	–	–	–

## ZÁVER

Trávne druhy v sledovaných rokoch dominovali na všetkých variantoch (55–75 %). Bylinná zložka mala za sledované roky vyššie zastúpenie, ako bŔbovité druhy. Doterajšie výsledky ukazujú, že aplikácia digestátu, okrem zvyšovania množstva živín v pôde, zlepšuje rast rastlín, úrodu a botanické zloženie porastu, pričom môže potláčať výskyt fytopatogénnych druhov (Arthurson, 2008).

## POĎAKOVANIE

Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore ÚOP „Vypracovanie plánov monitoringu vplyvu redukcie odpadovej biomasy a zvyškov z poľnohospodárskej pôdy na zásoby uhlíka v pôde, a plánov manažmentu zachovania kvality pôdy a uhlíka v pôde pre účely plnenia Smernice EÚ č. 2018/2001“, financovanej z kontraktu 1092/2022/MPRV-SR-930.

## Kontaktná adresa

Ing. Jozef Čunderlík, PhD.,

Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, E-mail: jozef.cunderlik@nppc.sk

## LITERATÚRA

- Arthurson, V. 2008. Proper Sanitization of Sewage Sludge: a Critical Issue for a Sustainable Society. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, vol. 74, no.17, pp.5267-5275
- Bielek, P. 2005. Nitrátová direktíva na Slovensku. In *Agrochémia*, roč. 9, č.1, s. 19 – 21, ISSN 1335 – 2415

- Gaduš, J., Pružinský, J. 2010. *Demonštračné zariadenie využitia bioplynu v Nitre*, 2010. [www.biom.cz](http://www.biom.cz) [online].
- Holúbek, R. *et al.* 2007. *Krmovinarstvo – manažment pestovania a využívania krmovín*. SPU: Nitra, 223 s. ISBN 978-80-8069-911-6
- Horbaj, P., Marášová, D. 2007. *Bioplyn a jeho využitie*. Fakulta BERG, Technická univerzita v Košiciach, Pont s.r.o., 2007. 95 s. ISBN 978-80-8073-7771
- Kubica, J. 2006. *Technologický model výroby a spracovania bioplynu*. Diplomová práca. Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta elektrotechniky a informatiky, 2006, 43 s.
- Krajčovič, V. *et al.* 2002. Štruktúra, funkcie a stabilita lúčno-pasienkových ekosystémov pri znížených vstupoch. In: *Ekológia trávneho porastu VI. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie VÚTPHP B. Bystrica*. s. 104-123
- Regal, V. 1968. *Pícninárska a synekologická charakteristika lučných druhů ČSSR*. Kandidátska doktoranska práce, VŠZ, Praha, 1968, 279 s. – 1.díl.
- Víglaský, J. 2007. *Polnohospodárska biomasa a biomasa v lestníctve, dendromasa*. Technická univerzita vo Zvolene, 2007. 26 s. ISBN 978-80-228-1808-7
- Vertès F. *et al.* (2004). Effects of grassland cultivation on nitrogen and carbon cycles and quality dynamics. In: *20<sup>th</sup> meeting EGF 2004 at Luzern - Switzerland* pp. 526-538.

## Produkcia fytomasy trávneho porastu v procese jeho revitalizácie

### Grassland phytomass production in the process of its revitalization

Lubomír HANZES, Norbert BRITAŇÁK

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby,  
Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, pracovisko Liptovský Hrádok,  
Gašperikova 599, 033 80 Liptovský Hrádok, lubomir.hanzes@nppc.sk*

#### Abstract

We often encounter the degradation of grasslands, which is caused by the absence of exploitation. All available pratotechnical and intensification interventions can be used to restore neglected, abandoned phytocenoses. The article is based on a long-term experiment aimed at revitalizing the unused/abandoned grassland. An experiment was carried out in a mountainous region of Slovakia - at Liptovská Teplička site (990 m a. s. l.). An experiment was divided into two four-year experimental phases, in whose we monitored the impact of revitalization interventions on the dry matter production of above-ground phytomass. The first experimental phase consisted of one control variant (original abandoned, untreated grassland) and seven treatment variants, where techniques of mowing, mulching and their combinations were applied. In the second experimental phase, the intensity of use was increased in some grassland plots and at the same time we included the phosphorus, potassium and nitrogen fertilization, at three different levels. During the first research period, control variant has provided the highest amount of above-ground dry matter production (on average 4,89 t ha<sup>-1</sup>), due to biomass accumulation. In the second experimental phase dry matter production correlated with the fertilization. The highest dry matter production was recorded in the grasslands fertilized by N and P (treatment 7 – 5,36 t ha<sup>-1</sup>; treatment 8 – 5,04 t ha<sup>-1</sup>). In this phase, the unused stand (control), together with the unfertilized variants, was one of the least productive ones.

**Keywords:** grassland, revitalization, dry matter production, fertilization, mowing

#### ÚVOD

Obnova degradovaných, pôvodných rastlinných spoločenstiev trávnych porastov a ich produkčnej funkcie je podľa BULLOCKA *et al.* (2011) a WHITEA *et al.* (2018) dôležitá nielen z hľadiska biodiverzity a ekosystémových služieb, ale aj produkcie potravín. Pri revitalizácii lúčno-pasienkových spoločenstiev sú potenciálne prístupné klasické technológie ich obhospodarovania (BLAKESLEY a BUCKLEY, 2016; BLÜTHGEN *et al.*, 2012). Spôsob a intenzita využívania TTP ovplyvňuje súčasne tak druhové zloženie, ako aj produkciu krmu (GRUBER *et al.*, 2002; BLÜTHGEN *et al.*, 2012). Kosenie je neselektívne odstraňovanie fytomasy z porastu, pričom kosbou sa odoberá celá hmota aktívnej asimilačnej plochy a súčasne sa stimuluje rast rastlín. Hnojením sa porast zahusťuje, čo má za následok zvýšenie jeho produkcie a aj kvality (MRKVIČKA a VESELÁ, 2006). Dusík (N), sa všeobecne považuje za jeden z hlavných faktorov zvýšenia produkcie trávnych porastov. Podobne ako dusík, aj fosfor (P) je živina, ktorá bežne ovplyvňuje funkcie (napr.



produkcii fytomasy) suchozemských ekosystémov (TURNER *et al.*, 2018). Pôda má často nedostatok dostupného fosforu pre rastliny a mikroorganizmy kvôli jeho silnej sorpcii, vyplavovaniu zrážkami a nízkej miere zvetrávania materského materiálu vo väčšine suchozemských ekosystémov (ELSER, 2012).

Cieľom príspevku je zhodnotenie produkcie fytomasy trávneho porastu v procese jeho revitalizácie počas dvoch experimentálnych fáz, s rôzne nastavenými pratotechnickými postupmi.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Hodnotené parametre vychádzajú z dlhodobého pokusu, ktorý bol založený v roku 2006 na stanovišti v Liptovskej Tepličke (990 m n. m., GPS: N 48.92543, E 20.14078), na degradovanom - opustenom trávnom poraste. Bol založený metódou dlhých pásov v troch opakovaniach a ôsmich variantoch. Pokus má dlhodobý charakter, pričom v príspevku hodnotíme produkciu sušiny nadzemnej fytomasy počas jeho dvoch experimentálnych fáz. Prvá fáza trvala od roku 2006 do roku 2009, s variantným prevedením, uvedeným v tabuľke 1.

**Tabuľka 1** Variantné prevedenie experimentu počas 1. fázy, v rokoch 2006 – 2009

Varianty	Pratotechnické zásahy
1.	Nevyužívaný porast – kontrolný variant
2.	Jedna kosba za rok
3.	Jedna kosba za rok s ponechaním fytomasy na poraste
4.	Dve využitia (dve kosby za rok)
5.	Mulčovanie raz za rok
6.	Striedavé využívanie (1. rok kosba, 2. rok mulč., 3. rok kosba, 4. rok mulč.)
7.	Dve využitia (mulčovanie a jedna kosba za rok)
8.	1. rok mulčovanie, 2. rok kosba, 3. rok kosba, 4. rok kosba

Druhá experimentálna fáza bola v rokoch 2013 – 2016, s variantným prevedením, uvedeným v tabuľke 2.

**Tabuľka 2** Variantné prevedenie experimentu počas 2. fázy, v rokoch 2013 – 2016

Varianty	Pratotechnické zásahy
1.	Nevyužívaný porast – kontrolný variant
2.	Jedna kosba za rok
3.	Dve kosby za rok (hnojenie PK)
4.	Dve kosby za rok
5.	Mulčovanie raz za rok
6.	Dve kosby za rok (hnojenie PK + N 45)
7.	Dve kosby za rok (hnojenie PK + N 90)
8.	Tri kosby za rok (hnojenie PK + N 90)

Pri P hnojení bola dávka  $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$  a K  $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ . Fosfor a draslík sa aplikovali v jarnom období. Podobne sme na jar hnojili aj dávkou N 45. Dávka N 90 bola rozdelená, pričom polovicu ( $45 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) sme aplikovali v jarnom období a druhú dávku po prvej kosbe. Kosba pri jednokosnom a mulčovanom variante bola vykonaná pri maximálnej akumulácii nadzemnej fytomasy. Pri viackosných variantoch bol termín prvej kosby (resp. mulčovania v 1. fáze) na začiatku klásenia a plného klásenia prevládajúcich druhov tráv v poraste. Pri dvojkosnom využívaní (a dvoch využitíach v 1. exp. fáze) sa druhá kosba realizovala približne 60 až 65 dní po prvej kosbe (resp. mulčovaní). Pri trojkosnom využití nasledovala druhá a tretia kosba v intervaloch cca 40 až 45 dní.

Produkčnú schopnosť porastov sme zisťovali úrodou sušiny ( $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) z troch opakovaní, pri každom využití. Zberová plocha jednej parcely bola  $10,5 \text{ m}^2$  ( $1,5 \times 7 \text{ m}$ ). Produkciu zelenej hmoty z nevyužívaného porastu (kontrolný variant) sme zisťovali z troch odberov, zo zberovej plochy  $1 \text{ m}^2$ , určenej na tento odber. Rovnakým spôsobom (z  $1 \text{ m}^2$ ) sme zisťovali úrodu zelenej hmoty aj na mulčovaných variantoch. Namerané parametre sme vyhodnocovali metódami parametrickej a neparametrickej analýzy variancie. Podrobné floristické zápisy a zároveň priebeh poveternostných ukazovateľov počas predmetného pokusného obdobia sú u autorov príspevku.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### *Produkcia sušiny nadzemnej fytomasy v 1. experimentálnej fáze*

Produkcia nadzemnej fytomasy patrila počas prvých štyroch rokov medzi najvyššie na kontrolnom, nevyužívanom variante, najmä v 2., 3. a 4. experimentálnom roku (tab. 4). V roku 2007 sa tento porast úrodou  $6,33 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  sušiny zaradil medzi najproduktnejšie, a to nielen počas prvej experimentálnej fázy, ale aj v rámci celého hodnoteného obdobia. Diferencie v produkcii sušiny neboli v prvom výskumnom roku medzi variantmi ešte výrazné. V nasledujúcich rokoch sa rozdiely zvyšovali najmä medzi ošetrovanými variantami a kontrolným variantom. Z revitalizovaných porastov patril v ďalších troch rokoch medzi produktnejšie najmä variant 7 (mulčovanie + kosba), dvojkosný porast vo variante 4, ale tiež porast s jednou kosbou počas roka a ponechaním pokosenej hmoty na stanovišti (var. 3). Naopak nižšie úrody trávnej hmoty vykazoval variant 2, s jednou kosbou a následným odobratím hmoty.

V priemere rokov boli štatistickým hodnotením medzi jednotlivými variantmi zaznamenané najvyššie rozdiely medzi kontrolným variantom ( $4,89 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  sušiny) a ostatnými siedmimi využívanými variantmi (tab. 3). Tieto rozdiely boli vo všetkých prípadoch štatisticky vysoko preukazné. Produkcia sušiny pôvodného, nevyužívaného porastu vo variante 1, bola charakteristická vysokým nárastom a kontinuálnym hromadením fytomasy (stariny). Naopak, po dlhej perióde absencie využívania, dochádzalo v ošetrovaných porastoch počas štyroch rokov k zásahom, pri ktorých bola fytomasa odobieraná, a následné dorastanie do ďalšej exploatácie prebiehalo bez dodania živín. Toto mohli byť dôvody, ktoré sa podpísali pod diferenciáciu produkcie medzi nevyužívaným a ošetrovanými variantmi. Štatisticky preukazné rozdiely sme evidovali aj v skupine variantov s prateľnými zásahmi (var. 2 – 8), najmä medzi variantom 7 a ostatnými šiestimi (tab. 1).

**Tabuľka 3** Produkcia sušiny ( $t \cdot ha^{-1}$ ) vo variantoch 1 – 8, v priemere rokov prvej experimentálnej fázy.

Variant	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Priemer rokov 2006 – 2009	4,89e	2,07a	2,86c	2,88c	2,43ab	2,30ab	3,28d	2,59bc
$D\alpha_{0,05} = 0,391$ , $D\alpha_{0,01} = 0,517$								
Vysvetlivky: Rôzne písmená znamenajú, že medzi porovnávanými variantmi sú štatisticky preukazné rozdiely ( $D\alpha_{0,05} = 0,391$ )								

Produkčná schopnosť porastov vo variantoch sa v jednotlivých štyroch rokoch prvej experimentálnej fázy vyvíjala rôzne. Štatisticky preukazné zmeny sme zaznamenali na variantoch 1, 2, 3 a 6 (tab. 4). Na kontrolnom variante bola v 2. a 3. roku produkcia sušiny štatisticky preukázateľne vyššia, v porovnaní s prvým rokom výskumu. Rozdiely boli vysoko signifikantné. Na variante 2 bola tendencia v produkcii sušiny opačná, pričom najvyššia zaznamenaná hodnota produkcie ( $2,827 t \cdot ha^{-1}$ ) bola v prvom roku sledovania. Rozdiely v úrodách medzi prvým rokom a tromi nasledujúcimi, boli v tomto variante štatisticky vysoko preukazné. Vo variante 3 bola zaznamenaná najvyššia produkcia v roku 2008, a to  $3,407 t \cdot ha^{-1}$ . Štatisticky vysoko signifikantné rozdiely boli evidované práve medzi týmto rokom a prvými dvoma. Produkcia sušiny na variante so striedavým využívaním (var. 6) bola so štatistickými rozdielmi medzi rokmi 2008 a 2009 (štatisticky vysoko preukazný rozdiel) a zároveň rokmi 2007 a 2008 (štatisticky preukazný). Signifikantný rozdiel v tomto poraste bol zaznamenaný aj medzi prvým a posledným rokom tejto experimentálnej fázy. Pri hodnotení produkcie vo variante 6 (striedanie kosenia a mulčovania v následnosti rokov) môžeme konštatovať, že vyššia produkcia bola v rokoch s kosným využitím (2006, 2008) a nižšia pri realizácii mulčovania (2007, 2009). Úroda sušiny vo variantoch 7 a 8 bola počas 4 rokov vyrovnaná, bez štatisticky preukazných rozdielov. Podobne sa vyvíjala produkcia aj na mulčovanom poraste (var. 5) a poraste využívanom kosením dva krát za rok (var. 4) (tab. 4).

**Tabuľka 4** Produkcia sušiny ( $t \cdot ha^{-1}$ ) vo variantoch 1 – 8, počas štyroch rokov prvej experimentálnej fázy.

Rok/Variant	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
2006	2,83a	2,83b	2,64a	2,57a	2,83a	2,67bc	3,91a	2,11a
2007	6,33b	1,76a	2,67a	3,45a	2,19a	1,94ab	3,48a	2,21a
2008	5,95b	1,92a	3,41b	2,91a	2,30a	2,98c	3,43a	3,22a
2009	4,48ab	1,79a	2,75a	2,63a	2,43a	1,61a	2,32a	2,81a
$D\alpha_{0,05}$	2,062	0,529	0,457	1,348	1,005	0,837	1,832	1,306
$D\alpha_{0,01}$	3,000	0,769	0,665	1,961	1,462	1,218	2,665	1,900
Vysvetlivky: Rôzne písmená znamenajú, že medzi porovnávanými rokmi sú štatisticky preukazné rozdiely ( $D\alpha_{0,05}$ )								

**Produkcia sušiny nadzemnej fytomasy v 2. experimentálnej fáze**

Úrody sušiny sa v jednotlivých porastoch začali v následnosti rokov diferencovať postupne (tab. 6). V prvom roku druhej experimentálnej fázy (2013) boli celkové úrody ešte relatívne vyrovnané, pričom mierne vyššia produkcia bola zaznamenaná na hnojených porastoch: variant 3 (6,43 t.ha<sup>-1</sup>), variant 6 (6,12 t.ha<sup>-1</sup>) a variant 7 (5,92 t.ha<sup>-1</sup>). Aj v roku 2014 bola najvyššia celková ročná produkcia sušiny nadzemnej fytomasy (6,28 t.ha<sup>-1</sup>) v poraste s PK hnojením (var. 3), s minimálnym rozdielom v porovnaní s prechádzajúcim rokom (tab. 4). Podobne, boli vyššie úrody aj na variantoch s aplikáciou dusíka (var. 7 – 6,16 t.ha<sup>-1</sup>; var. 8 – 5,59 t.ha<sup>-1</sup>), ale aj dvojkosnom poraste bez hnojenia (var. 4 – 5,52 t.ha<sup>-1</sup>). Produkcia sušiny na nevyužívanom poraste (3,88 t.ha<sup>-1</sup>) bola v tomto roku, po prvý krát od začiatku trvania pokusu najnižšia zo všetkých hodnotených variantov. V experimentálnom roku 2015 bol zaznamenaný na všetkých variantoch pokles úrod sušiny (tab. 6). Mohlo to byť aj dôsledkom špecifického priebehu poveternostných ukazovateľov (oproti prechádzajúcim rokom), t.j. deficitom zrážok a zvýšením teplôt. Opäť sa pod výšku produkcie podpísalo hnojenie, a to najmä aplikácia dusíka. Celková ročná produkcia bola najvyššia na variantoch 8 (4,36 t.ha<sup>-1</sup>), 7 (4,20 t.ha<sup>-1</sup>) a 6 (3,82 t.ha<sup>-1</sup>). Aj v poslednom roku bola najvyššia celková produkcia na variantoch s hnojením, a to najmä aplikáciou N (var. 8, 7, 6). Vyššou produkciou bol charakteristický aj variant s aplikáciou PK. Najnižšiu úrodu vykazovali porasty využívané extenzívne, a to mulčovaním (var. 5) a jednu kosbu počas roka (var. 2) (tab. 6).

Z hľadiska úrod, hodnotených v priemere štyroch rokov druhej experimentálnej fázy sme, oproti prvému pokusnému obdobiu, zaznamenali zmeny. Tie sa týkali najmä pomeru produkcie medzi nevyužívaným porastom a skupinou revitalizovaných porastov (tab. 5). Kým v prvej experimentálnej fáze výrazne prevyšovala produkcia opusteného porastu (var. 1) nad porastmi využívanými, v druhom experimentálnom bloku sa pohybovala na spodnej hranici priemerných štvorročných úrod (3,77 t.ha<sup>-1</sup>). Štatisticky preukazné rozdiely boli zaznamenané medzi týmto porastom a porastmi hnojenými dusíkom (var. 7, 8). Rovnako ako pri hodnotení produkcie v rokoch, aj pri ich priemerných úrodách za experimentálnu fázu sa potvrdila korelácia medzi hnojením a výškou úrod. Aplikácia minerálnych hnojív, najmä dusíka, ktorý má najväčší vplyv na tvorbu krmu z trávnych porastov, je v pozitívnej korelácii s rastom úrod. Táto závislosť je známa z prác viacerých autorov (BRITAŇÁK *et al.*, 2010; SIMKIN *et al.*, 2016; ZHANG, 2017; HANZES *et al.*, 2018) a potvrdilo sa to aj v našom experimente. Medzi hnojenými porastmi sme významné rozdiely nezaznamenali. Najvyššia priemerná úroda bola na variante 7 (5,36 t.ha<sup>-1</sup>). Podľa ELSERA *et al.* (2007) obohatenie suchozemských ekosystémov dusíkom a fosforom vytvára silné pozitívne synergické reakcie vo vzťahu k produkcii. Na základe metaanalýzy, na ktorú sa citovaní autori odvolávajú, N alebo P individuálne stimulovali produktivitu trávnych porastov o 20 % a N a P v kombinácii zvýšili produktivitu o 60 %. Najmenej produkčný bol jednkosný porast (var. 2 – 3,33 t.ha<sup>-1</sup>) a porast mulčovaný (var. 5 – 3,33 t.ha<sup>-1</sup>) (tab. 5). Na nižšiu produkciu nadzemnej fytomasy z mulčovaných plôch upozorňujú aj TONN a BRIEMLE (2008), pričom na základe ich zistení boli úrody zelenej hmoty mulčovaných variantov preukazne nižšie, ako úrody hnojených a kosne využívaných variantov s najvyššou frekvenciou využívania.

**Tabuľka 5** Produkcia sušiny (t.ha<sup>-1</sup>) vo variantoch 1 – 8, v priemere rokov druhej experimentálnej fázy.

Variant	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Priemer rokov 2013–2016	3,77ab	3,33a	4,64abc	3,43ab	3,33a	4,84abc	5,36c	5,04bc
D $\alpha_{0,05}$ = 1,650, D $\alpha_{0,01}$ = 2,181								
Vysvetlivky: Rôzne písmená znamenajú, že medzi porovnávanými variantmi sú štatisticky preukazné rozdiely (D $\alpha_{0,05}$ = 1,650)								

Pri hodnotení celkovej ročnej produkcie sušiny porastov počas štyroch rokov druhej experimentálnej fázy boli, na rozdiel od prvého výskumného obdobia, zaznamenané štatistické rozdiely pri všetkých variantoch (tab. 6). Pri nehnojených kosných porastoch (var. 2, 4) sa produkcia v následnosti rokov kontinuálne znižovala, pričom pri niektorých porovnaníach boli štatistické diferencie vysoko preukazné. Podobný trend vykazoval aj nevyužívaný porast (var. 1). Pri hnojených porastoch neboli rozdiely medzi rokmi až také výrazné. Pri aplikácii PK (var. 3 – 6,432 t.ha<sup>-1</sup>) a nižšej dávky N 45 (var. 6 – 6,119 t.ha<sup>-1</sup>), bol produkčný vrchol už v prvom roku tejto experimentálnej fázy, so štatistickými rozdielmi pri porovnaní produkcie v ďalších troch rokoch. Pri aplikácii N 90 (var. 7, 8) boli porasty najproduktívnejšie v roku 2014, pričom rozdiely s ostatnými rokmi neboli až také jednoznačné. Na základe našich výsledkov možno konštatovať, že so stúpajúcou intenzitou hnojenia sa zvyšovala produkcia sušiny a zároveň znižovala jej variabilita medzi rokmi. Aplikácia živín v tomto prípade zabezpečovala stabilitu úrod trávnych porastov, a tiež v rokoch s nepriaznivými poveternostnými podmienkami z časti kompenzovala úbytok hmoty, ktorý sa prejavil na nehnojených porastoch. Podľa HOLÚBEKA (2002) výživa trvalých trávnych porastov do určitej miery eliminuje rozdiely v ekologických podmienkach a pôsobí ako významný regulačný faktor úrod sušiny. Podľa citovaného autora, vyššia intenzita hnojenia čiastočne kompenzuje nepriaznivé vplyvy prostredia.

**Tabuľka 6** Produkcia sušiny (t.ha<sup>-1</sup>) vo variantoch 1 – 8, počas štyroch rokov druhej experimentálnej fázy.

Rok/Variant	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
2013	5,37c	4,77c	6,43b	5,13c	4,24b	6,12c	5,92bc	4,95ab
2014	3,88b	4,13c	6,28a	5,52b	4,42b	5,11b	6,16c	5,59b
2015	3,03ab	2,70b	3,46a	2,65a	3,43ab	3,82a	4,20a	4,36a
2016	2,80a	1,72a	4,07a	2,33a	1,24a	4,30a	5,15b	5,27b
D $\alpha_{0,05}$	0,930	0,675	1,768	0,732	2,209	0,526	0,926	0,770
D $\alpha_{0,01}$	1,353	0,982	2,573	1,062	3,214	0,765	1,347	1,120
Vysvetlivky: Rôzne písmená znamenajú, že medzi porovnávanými variantmi sú štatisticky preukazné rozdiely (D $\alpha_{0,05}$ )								

## ZÁVER

Produkcia sušiny nadzemnej fytomasy, zaznamenaná v procese revitalizácie dlhodo- bo nevyužívaného trávneho porastu sa počas dvoch experimentálnych fáz vyvíjala rôz- ne. Faktormi, ktoré prispeli k diferenciácii úrod boli okrem spôsobu a frekvencie zásahov a poveternostných ukazovateľov aj aplikácia živín. Prvé štyri roky revitalizácie sme výraz- ne rozdiely v produkcii fytomasy využívaných porastov nezaznamenali. V priemere tejto pokusnej periódy bola najvyššia produkcia na nevyužívanom, kontrolnom variante (4,89 t.ha<sup>-1</sup>). Nárast a hromadenie nadzemnej fytomasy (stariny) a naopak, po dlhej dobe absen- cie využívania jej niekoľkoročné odstraňovanie bez saturácie živín, sa podpísali pod túto rozdielnosť v úrodách medzi kontrolným variantom a variantmi obhospodarovanými. Za- radenie aplikácie živín do experimentálneho dizajnu v druhej fáze, výrazne stimulovalo nárast fytomasy. Vyššiu produkciu sme v priemere pokusného obdobia evidovali najmä pri porastoch s aplikáciou N + PK (var. 7 – 5,36 t.ha<sup>-1</sup>; var. 8 – 5,04 t.ha<sup>-1</sup>; var. 6 – 4,84 t.ha<sup>-1</sup>), ale aj pri samotnom PK hnojení (var. 3 – 4,64 t.ha<sup>-1</sup>).

## POĎAKOVANIE

Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore RPPV „Environmentálne prínosy ino- vatívnych stratégií obhospodarovania trávnych porastov a využitia krajiny“, financované- ho z kontraktu 720/2023/MPRVS-930

## Kontaktná adresa

RNDr. Ľubomír Hanzes, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, VÚRV, ÚTPHP, Gašperíková 599, 033 01 Liptovský Hrádok  
lubomir.hanzes@nppc.sk

## LITERATÚRA

- Blakesley, D., Buckley, G. P. 2016. *Grasslands restoration and management*. Pelagic Pub- lishing: Exeter, pp. 277, ISBN 978-1-78427-078-0.
- Blüthgen, N., Dormann, C. F., Prati, D., Klaus, V. H., Kleinebecker, T., Hölzel, N., Alt, F., Boch, S., Gockel, S., Hemp, A., Müller, J., Nieschulze J., Renner, S.C., Schöning, I., Schu- macher, U., Socher, S.A., Wells, K., Birkhofer, K., Buscot, F., Oelmann, Y., Rothenwöhler, C., Scherber, C., Tschernitke, T., Weiner, C. N., Fischer, M., Kalko, E. K. V., Linsenmair, K. E., Schulze, E. D., Weisser, W. E. 2012. A quantitative index of land-use intensity in grasslands: Integrating mowing, grazing and fertilization. In *Basic and Applied Ecology*. vol. 13, no. 3, pp. 207 – 220. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.04.001>
- Britaňák, N., Ilavská, I., Hanzes, Ľ. 2010. Vplyv aplikácie priemyselných hnojív na produk- ciu sušiny a kvalitu krmiva trvalého, prisiateho a dočasného trávneho porastu v oblasti Nízkyh Tatier. In KOHOUTEK, A. (ed.) *Kvalita píce z travních porostů a chov skotou v ménících se ekonomických podmínkách. Sborník z celostátní vědecké konference s me- zinárodní účastí*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha – Výzkumná stanice Jevíčko, 2010, s. 99 – 106, ISBN 978-80-7427-043-7.
- Bullock, J. M., Aronson, J., Newton, A. C., Pywell, R. F., Rey-Benayas, J. M. 2011. Resto- ration of ecosystem services and biodiversity: Conflicts and opportunities. In *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 26, no. 10, pp. 541 – 549, Dostupné na: [doi:10.1016/j. tree.2011.06.011](https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.06.011)

- Elser, J.J., Bracken, M.E.S., Cleland, E.E., Gruner, D.S., Harpole, W.S., Hillebrand, H., Ngai, J.T., Seabloom, E.W., Shurin, J.B., And Smith, J.E. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. In *Ecology Letters*. vol. 12., no. 10, pp. 1135 – 1142, ISSN 1641-0248. Dostupné na: [10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x)
- Elser, J., J. 2012. Phosphorus: a limiting nutrient for humanity? In *Current Opinion in Biotechnology*. vol. 23, no. 6, pp. 833 – 838, ISSN 0958-1669. doi.org/10.1016/j.copbio.2012.03.001.
- Gruber, L., Steinwider, A., Greimel, M. 2002. Vliv obhospodařování travních porostů na výnos, krmnou hodnotu, produkci mléka a koloběh živin. In *Chov a šlechtění skotu pro konkurenceschopnou výrobu a obhospodařování drnového fondu*. Rapotín: VÚCHS, 2002, s. 62 – 68.
- Hanzes, L., Britaňák, N., Ilavská, I. 2018. Vplyv revitalizačných zásahov na floristické zloženie a úrodu trávneho porastu. In Gálik, B. *Recenzovaný zborník vedeckých prác Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV*, SPU Nitra, s. 164 – 174, ISBN 978-80-552-1921-9.
- Holúbek, R. 2002. Produkčný a nutričný potenciál trávnych porastov Strážovskej vrchoviny. In *Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie „Ekológia trávneho porastu VI.“* Banská Bystrica: VÚTPHP, 2002. s. 59-67. ISBN 80-968890-7-9.
- Mrkvíčka, J., Veselá, M. 2006. Vliv fosforečno – draselného hnojení na změny druhového složení lučňního porostu. In *Vše pro trávy a jetelovino trávy*. Olomouc, s. 57 – 59, ISBN 80-903275-5-9.
- Simkin, S. M., Allen, E. B., Bownam, W. D., Clark, C. M., Belnap, J., Brooks, M. L., Cade, B. S., Collins, S. L., Geiser, L. H., Gilliam, F. S., Jovan, S., E., Pardo, L. H., Schulz, B., K., Stevens, C. J., Sudding, K. N., Throop, H. L., Waller, D. M. 2016. Conditional vulnerability of plant diversity to atmospheric nitrogen deposition across the United States. In *Proceedings of the National Academies of the Sciences*. vol. 113, no. 15, pp. 4086 – 4091.
- Tonn, B., Briemle, G. 2008. Long-term effects of mulching on botanical composition, yield and nutrient budget of permanent grassland. In *Biodiversity and Animal Feed Future Challenges for Grassland Production*. EGF vol. 13, Uppsala Sweden. Grassland Science in Europe, pp. 180 – 182. ISBN 978-91-85911-47-9.
- Turner, B. L., Wells, A., Andersen, K. M., & Condrón, L. M. 2018. Consequences of the physical nature of the parent material for pedogenesis, nutrient availability, and succession in temperate rainforests. In *Plant and soil*. vol. 423, pp. 533-548. Dostupné na: [doi.org/10.1007/s11104-017-3514-4](https://doi.org/10.1007/s11104-017-3514-4)
- White, A., Fant, J. B., Havens, K., Skinner, M., Kramer, A. T. 2018. Restoring species diversity: Assessing capacity in the U.S. native plant industry. In *Restoration Ecology*. vol. 26, pp. 605–611. <https://doi.org/10.1111/rec.12705>
- Zhang, X. 2017. Biogeochemistry: A plan for efficient use of nitrogen fertilizers. In *Nature*. vol. 543, issue 7645, pp. 322-323. doi: 10.1038/543322a

## Modelovanie emisií trávnych porastov na experimentálnom stanovišti Velká Lúka

### Modeling of grassland emissions at the Velká Lúka experimental site

Štefan POLLÁK, Vladimíra VARGOVÁ

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby – Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica, Mládežnícka 36, Banská Bystrica, 974 32, e-mail: stefan.pollak@nppc.sk*

#### Abstract

The dynamics of carbon accumulation in grass communities is affected by climate change. There are more frequent changes in the production, quality and species richness of grassland ecosystems. Through the results of a long-term experiment at Velká Lúka, in the below-average rainfall year 2022, we recorded a 33.00% reduction in soil carbon on the non-fertilized variant. Most of this carbon was not mineralized, but largely transformed into CO<sub>2</sub>. Fertilized variants have long-term balanced levels of soil carbon, so we did not record significant losses of soil carbon. The variant with a high dose of fertilizers (200 kg N : 30 kg P : 80 kg K) recorded an increase in soil carbon by 4.00% despite the climatically extreme year.

**Keywords:** carbon sequestration, emissions, soil carbon, grasslands

#### ÚVOD

Dôležitým prvkom ekologickej stability krajiny sú trávne porasty (Novák, 2009). Produkciu, kvalitu aj druhovú bohatosť ekosystémov trávnych porastov ovplyvňuje klimatická zmena (Brookshire a Weaver, 2015; Vargová a kol., 2021). Trávne porasty slúžia ako jeden z dôležitých zásobníkov uhlíka v suchozemských ekosystémoch, kde sa ukladá asi jedna tretina globálneho suchozemského uhlíka (Breymer a Melillo, 1991, Xu *et al.*, 2018). Ekosystém trávnych porastov hrá dôležitú úlohu pri znižovaní koncentrácií skleníkových plynov v atmosfére a zmiernení globálneho otepľovania (O'Mara, 2012, Gang *et al.*, 2016). Zo svojej podstaty je veľmi významný ich koreňový systém. Flexibilne reaguje na rôzne zásahy ako je intenzita hnojenia, kosenie či spásanie, čo sa prejavuje i v zmenách veľkosti podzemnej rastlinnej biomasy a jej distribúcií v pôdnom profile (Vozár a Kovár, 2015). Korene rôznych skupín rastlín preferujú rôzne horizonty pôdy a sú súčasne významným zdrojom organickej hmoty, ktorá zlepšuje štruktúru a úrodnosť pôdy (Dong, 2023).

Význam trvalých trávnych porastov z hľadiska absorpcie emisií je značný. Slovenská republika ako členský štát OSN sa prihlásila k rámcovému dohovoru OSN o zmene klímy (UNFCCC) a zaviazala sa monitorovať a reportovať každoročne emisie skleníkových plynov produkované v rôznych sektoroch v rámci SR. Povinnosť vykazovať emisie z využívania krajiny vyplýva aj z „Rozhodnutia Európskeho parlamentu a Rady EÚ č. 529/2013 o pravidlách započítavania a akčných plánoch pre emisie a absorpcie skleníkových plynov vyplývajúce z činností súvisiacich s využitím pôdy, so zmenami vo využívaní pôdy a lesným hospodárstvom“, na základe ktorého je Slovenská republika povinná evidovať emisie



z poľnohospodárskej výroby. V súčasnosti je platný legislatívny stav na základe Nariadenia EP a Rady (EÚ) 2018/1999 z 11. decembra 2018 o riadení energetickej únie a opatrení v oblasti klímy. Súčasťou agendy UNFCCC je sektor využitia krajiny – LULUCF. Tento sektor zahŕňa všetky skleníkové plyny ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  a  $\text{N}_2\text{O}$ ) a základné znečisťujúce látky z lesných požiarov ( $\text{NO}_x$  a  $\text{CO}$ ). Jednotlivé inventáre kategórií LULUCF sú prepojené so všetkými relevantnými procesmi, ktoré súvisia s piatimi zásobami uhlíka (živá biomasa – nad zemou a pod zemou, mŕtva organická hmota – mŕtve drevo a opad, uhlík v pôde). V sektore LULUCF je inventarizácia založená na definícii reprezentatívnych typov kategórií využitia pôdy – lesná pôda (Forest land, FL), orná pôda (Crop land, CL), trávne porasty (Grass land, GL), mokrade (Wetlands), sídla (Settlements, S) a iná pôda (Other Land, OL). Dôležité sú ich časové zmeny. Prvé tri kategórie majú najväčší význam vzhľadom na ich relatívnu veľkosť pokrytia rozlohy Slovenska, ktoré predstavuje viac ako 90 % celého územia. Procesy spojené s využívaním pôdy a zmenami vo využívaní pôdy väčšinou súvisia s bilanciou  $\text{CO}_2$  (IPCC 2006 GL). Cieľom práce bolo poukázať na teoretické množstvo emisií, ktoré dokážu absorbovať hnojené trávne porasty, lebo v klimaticky extrémnych podmienkach hnojené trávne porasty môžu byť potenciálnych emitentom uhlíka.

## MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Z rastlinných a pôdnych vzoriek odobratých na experimentálnom stanovišti Veľká Lúka boli vyhodnocované základné parametre podľa metodiky 2006 IPCC GL, resp. v čase úlohy platná metodika 2019 IPCC GL. Dlhodobý experiment na stanovišti Veľká Lúka sa nachádza na rovinatej lúke v západnej časti Zvolenskej kotliny v nadmorskej výške 350 m. Variantné riešenie je uvedené v tabuľke. Skoro na jar bola aplikovaná prvá dávka hnojív (65 % N a celá dávka P a K) a po prvej kosbe bola dodaná druhá dávka N (35 %). Porasty sa využívali 3× počas vegetačného obdobia. Pre riešenie úlohy bola určujúca produkcia sušiny v jednotlivých variantoch.

### Varianty riešenia:

Variant	Popis	Pomer živín
1	nehnojená kontrola	–
2	hnojená 22,0 kg P; 41,5 kg K	–
3	50 kg N : 15,0 kg P : 40 kg K	(1 : 0,30 : 0,8)
4	100 kg N : 30,0 kg P : 80 kg K	(1 : 0,30 : 0,8)
5	150 kg N : 45,0 kg P : 120 kg K	(1 : 0,30 : 0,8)
6	200 kg N : 60,0 kg P : 160 kg K	(1 : 0,30 : 0,8)
7	50 kg N : 7,5 kg P : 20 kg K	(1 : 0,15 : 0,4)
8	100 kg N : 15,0 kg P : 40 kg K	(1 : 0,15 : 0,4)
9	150 kg N : 22,5 kg P : 60 kg K	(1 : 0,15 : 0,4)
10	200 kg N : 30,0 kg P : 80 kg K	(1 : 0,15 : 0,4)

Sledované parametre boli viazanie uhlíka v živej a neživej hmote v nadzemnej časti. Prostredníctvom metodiky 2019 IPCC GL sa stanovili záujmové parametre ako sú emisie

resp. záchyty emisií skleníkových plynov. V živej biomase dlhodobých trávnych porastov nenastáva žiadna zmena podľa prístupu úrovne 1. Tento prístup bol použitý pri odhade emisií/záchytov v tejto kategórii. Nedošlo k žiadnym zmenám v type ani intenzite hospodárenia a biomasa je na trávnych porastoch približne v ustálenom stave (akumulácia uhlíka rastom rastlín je vyvážená stratami pasením, rozkladom a požiarom). Emisie CO<sub>2</sub> sa považujú za nevýznamné, pretože sa nepredpokladá žiadna zmena v DOM (mŕtva organická hmota) a zásoby uhlíka v pôde (úroveň 1, IPCC 2006 GL). Toto je konzervatívny predpoklad, ak krajina neočakávala významné zmeny v kategóriách alebo režimoch riadenia počas vykazovaného roka.

Údaje z pokusných stanovišť, ktoré neboli stanovené boli extrapolované. Rovnice podľa metodiky IPCC 2006 Gl boli zjednodušené.

Zásoba organického uhlíka v nadzemnej fytomase:

ZOC (t.ha<sup>-1</sup>) = úroda sušiny (t.ha<sup>-1</sup>) × 0,475 (prepočítavací koeficient, Schlesinger, 1991)

Koeficient pomeru nadzemná/podzemná biomasa – 2,8.

Prevod uhlíka na CO<sub>2</sub> (\*44/12)

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celková výmera trávnatých plôch na Slovensku v roku 2022 predstavovala 848 888 ha. Je to približne 17,3 % z celkovej rozlohy krajiny. Postupnosť zmien v charaktere a využívaní krajiny dlhodobou eviduje Úrad geodézie, kartografie a katastra Slovenskej republiky. Z týchto údajov sa zostavujú základné jedno a dvadsaťročné zostavy využitia krajiny pre potreby LULUCF. Obhospodávané trvalé trávne porasty (TTP) v roku 2022 predstavovali 508 950 ha, ktoré boli hospodársky využívané. V lokalite Veľká Lúka sa uskutočnili 3 odbery rastlinnej hmoty a odber pôdnych vzoriek na jeseň na stanovenie základných agrochemických vlastností pôdy. Na laboratórne analýzy odobraných pôdnych vzoriek sa použila Vyhláška MPRV SR Z. z. č. 151/2016, ktorou sa ustanovujú podrobnosti o agrochemickom skúšaní pôd a o skladovaní a používaní hnojív.

V roku 2021 bola pôdna reakcia extrémne až silne kyslá, pohybovala sa v rozpätí od 4,10 do 4,84 (tab. 1). Obsah humusu bol nameraný od 35,33 g.kg<sup>-1</sup> na variante 10 až 50,69 g.kg<sup>-1</sup> na variante 3. Na nehnobenom variante bol najvyšší obsah humusu 53,19 g.kg<sup>-1</sup> aj Cox 31,19 g.kg<sup>-1</sup>, a najvyšší obsah dusíka (2,59 g.kg<sup>-1</sup>). Vyšší obsah dusíka bol na variantoch 5–7.

**Tabuľka 1** Vybrané agrochemické vlastnosti pôdy v roku 2021 a prevod na C a CO<sub>2</sub> (t.ha<sup>-1</sup>)

Variant	pH/KCl	Cox g.kg <sup>-1</sup>	Humus g.kg <sup>-1</sup>	N g.kg <sup>-1</sup>	C:N	C g.kg <sup>-1</sup>	Prevod na CO <sub>2</sub>
1	4,50	31,19	53,19	2,59	12,04	31,18	114,34
2	4,10	26,40	45,06	2,08	12,69	26,40	96,78
3	4,56	29,40	50,69	2,20	13,36	29,39	107,77
4	4,55	28,51	49,15	2,16	13,20	28,51	104,54
5	4,65	24,35	41,99	2,47	9,86	24,35	89,30
6	4,48	24,35	41,99	2,55	9,55	24,35	89,29

Pokračovanie Tabuľky 1							
Variant	pH/KCl	Cox g.kg <sup>-1</sup>	Humus g.kg <sup>-1</sup>	N g.kg <sup>-1</sup>	C:N	C g.kg <sup>-1</sup>	Prevod na CO <sub>2</sub>
7	4,48	25,54	44,03	2,49	10,26	25,55	93,67
8	4,42	26,43	45,57	2,16	12,24	26,44	96,94
9	4,79	25,25	43,52	2,20	11,48	25,26	92,61
10	4,84	20,49	35,33	2,38	8,61	20,49	75,14

V nasledujúcom roku bola pôdna reakcia extrémne až silne kyslá, pohybovala sa v rozpätí od 4,42 do 4,95 (tab. 2). Obsah humusu osciloval od 34,65 g.kg<sup>-1</sup> na variante 4 a 6 do 41,89 g.kg<sup>-1</sup> na variante 2. Na nehnojenom variante bol vysoký obsah humusu a stredný obsah dusíka (2,22 g.kg<sup>-1</sup>). Vyšší obsah dusíka sme evidovali na variantoch 2 – 3. V zrážkovo podpriemernom roku 2022 sme zaznamenali na nehnojenom variante zníženie pôdneho uhlíka o 33,00 %. Rovnako došlo medziročne k poklesu pH, vo všetkých hnojených variantoch, okrem variantu 7, kde sa zvýšila hodnota pH. Väčšina uhlíka v kontrolnom variante nebola mineralizovaná, ale z veľkej časti transformovaná na CO<sub>2</sub>. Hnojené varianty majú dlhodobovo vyrovnané hladiny pôdneho uhlíka a nezaznamenali sme tak výrazné straty pôdneho uhlíka. Variant 10 s vysokou dávkou hnojív (200 kg N.ha<sup>-1</sup>, 30 kg P.ha<sup>-1</sup>, 80 kg K.ha<sup>-1</sup>) zaznamenal aj napriek klimaticky extrémnemu roku nárast pôdneho uhlíka o 4,00 %.

**Tabuľka 2** Vybrané agrochemické vlastnosti pôdy v roku 2022 a prevod na C a CO<sub>2</sub> (t.ha<sup>-1</sup>)

Variant	pH/ KCl	Cox g.kg <sup>-1</sup>	Humus g.kg <sup>-1</sup>	N g.kg <sup>-1</sup>	C:N	C g.kg <sup>-1</sup>	Prevod na CO <sub>2</sub>	Zmena C 2021/2022	Prevod na CO <sub>2</sub>
1	4,42	20,70	35,69	2,22	9,32	20,69	75,86	-10,49	-38,48
2	4,34	24,30	41,89	2,19	11,10	24,31	89,13	-2,09	-7,65
3	4,63	21,60	37,24	2,27	9,52	21,61	79,24	-7,78	-28,53
4	4,67	20,10	34,65	1,80	11,17	20,11	73,72	-8,41	-30,82
5	4,89	21,00	36,20	1,94	10,82	20,99	76,97	-3,36	-12,33
6	4,60	20,10	34,65	1,97	10,20	20,09	73,68	-4,26	-15,61
7	4,46	24,00	41,38	2,07	11,59	23,99	87,97	-1,56	-5,71
8	4,56	20,70	35,69	1,71	12,11	20,71	75,93	-5,73	-21,01
9	4,90	24,00	41,38	2,18	11,01	24,00	88,01	-1,25	-4,60
10	4,95	21,30	36,72	1,93	11,04	21,31	78,13	0,82	2,99

Na lokalite Veľká Lúka v roku 2021 (tab. 3) bol variant 6 (N 200 kg.ha<sup>-1</sup>, P 60 kg.ha<sup>-1</sup>, K 120 kg.ha<sup>-1</sup>) s najvyššou produkciou sušiny 10,48 t.ha<sup>-1</sup>, čo znamená akumuláciu 4,98 t uhlíka a teoretickú akumuláciu C v podzemnej hmote na úrovni 29,34 t.ha<sup>-1</sup> C. V teoretickom prevedení na CO<sub>2</sub> by to predstavovalo možný záchyt 18,25 t a 51,11 t CO<sub>2</sub>. Tieto odhady sú zaťažené neurčitostou ± 75,00 % a viac (2006 IPCC GL). V roku 2022 (tab.

4) bol variant 10 (200 kg N.ha<sup>-1</sup>, 30 kg P.ha<sup>-1</sup>, 80 kg K.ha<sup>-1</sup>) s najvyššou produkciou sušiny 6,41 t.ha<sup>-1</sup>, čo predstavuje akumuláciu 3,04 t uhlíka a teoretickú akumuláciu uhlíka v podzemnej hmote na úrovni 17,95 t.ha<sup>-1</sup> C. Teoretické prevedenie na CO<sub>2</sub> by to predstavovalo možný záchyt 11,15 t a 31,26 t CO<sub>2</sub>. Tieto odhady sú zaťažené neurčitostou ± 75,00 % až ± 107,98 % z dôvodu extrémneho agroklimatického priebehu roku. Novák uvádza (2009), že dôležitým prvkom ekologickej stability krajiny sú trávne porasty. Ich stabilita a odolnosť voči klimatickým zmenám sa zvýši obhospodarovaním a hnojením (Vozár a Kovár, 2015), čo naše výsledky potvrdili, pretože vyššie dávky hnojív zabezpečili vyššie a rovnomernejšie úrody sušiny aj v klimaticky rozdielnych rokoch.

**Tabuľka 3** Produkcia sušiny v roku 2021 (t.ha<sup>-1</sup>) a prevod na C a CO<sub>2</sub> (t.ha<sup>-1</sup>)

Variant	Produkcia	Obsah C	Prevod na CO <sub>2</sub>	Podzemná biomasa	Obsah C	Prevod na CO <sub>2</sub>
1	4,86	2,31	8,46	13,61	6,46	23,70
2	7,00	3,33	12,19	19,60	9,31	34,14
3	6,80	3,23	11,84	19,04	9,04	33,16
4	7,68	3,65	13,38	21,50	10,21	37,45
5	9,71	4,61	16,91	27,19	12,91	47,35
6	10,48	4,98	18,25	29,34	13,94	51,11
7	6,72	3,19	11,70	18,82	8,94	32,77
8	7,46	3,54	12,99	20,89	9,92	36,38
9	8,69	4,13	15,14	24,33	11,56	42,38
10	8,76	4,16	15,26	24,53	11,65	42,72

**Tabuľka 4** Produkcia sušiny v roku 2022 (t.ha<sup>-1</sup>) a prevod na C a CO<sub>2</sub> (t.ha<sup>-1</sup>)

Variant	Produkcia	Obsah C	Prevod na CO <sub>2</sub>	Podzemná biomasa	Obsah C	Prevod na CO <sub>2</sub>
1	3,17	1,51	5,52	8,88	4,22	15,46
2	2,55	1,21	4,44	7,14	3,39	12,44
3	3,70	1,76	6,44	10,36	4,92	18,04
4	4,57	2,17	7,96	12,80	6,08	22,29
5	5,95	2,83	10,36	16,66	7,91	29,02
6	5,95	2,83	10,36	16,66	7,91	29,02
7	3,17	1,51	5,52	8,88	4,22	15,46
8	4,93	2,34	8,59	13,80	6,56	24,04
9	6,14	2,92	10,69	17,19	8,17	29,94
10	6,41	3,04	11,16	17,95	8,53	31,26

Pasienky sú veľmi dôležitou zásobárňou uhlíka a pokračujú v sekvestracii uhlíka so značným potenciálom na jeho ďalšie zvyšovanie (O'Mara, 2012), čo korešpondujú aj naše výsledky. Rovnako ako O'Mara (2012), ktorý opisoval intenzívne trávne porasty v Írsku, aj naše výsledky z hnojených trávnych porastov potvrdzujú, že adaptácia trávnych porastov na zmenu klímy bude premenlivá, s možným zvýšením alebo znížením produktivity a zvýšením alebo znížením zásob uhlíka v pôde. Kľúčové bude rýchlo a cielene reagovať na zmeny (O'Mara, 2012, Gang *et al.*, 2016). Vysokohorské lúky a alpské stepi, ktoré sú citlivým indikátorom klimatických zmien podľa zistení Dong (2023) ukladanie dusíka a otepľovanie významne neovplyvnili toky skleníkových plynov v alpských pastvinách, ale ich kombinovaný účinok znížil emisie CO<sub>2</sub>. Tvrdenie potvrdzujú aj naše údaje, keď v zrážkovo podpriemernom roku 2022 variant s vysokou dávkou hnojív zaznamenal nárast pôdneho uhlíka o 4 % a nehnojený variant mal zníženie pôdneho uhlíka až o 33 %.

## Záver

Najvyššie záchyty uhlíka sme zaznamenali na oboch variantoch s najvyššími dávkami živín, kde boli najvyššie úrody sušiny, 10,48 t.ha<sup>-1</sup> (2021) resp. 6,41 t.ha<sup>-1</sup> (2022). Znamená to akumuláciu 4,98 t resp. 3,04 t uhlíka a teoretickú akumuláciu uhlíka v podzemnej hmote na úrovni 29,34 t.ha<sup>-1</sup> a 17,95 t.ha<sup>-1</sup> C. To je možný teoretický záchyt 18,25 a 11,15 t a pri podzemnej hmote na úrovni 51,11 a 31,26 t CO<sub>2</sub> pri neurčitosti ± 75,00 % až ± 107,98 %. V zrážkovo podpriemernom roku 2022 sme zaznamenali vyššiu produkciu sušiny na variante s dávkou dusíka 200 kg.ha<sup>-1</sup> a nižšou dávkou fosforu a draslíka a na nehnojenom variante sa znížil pôdny uhlík o 33,00 %. Rovnako sme medziročne evidovali pokles pH na všetkých hnojených variantoch, okrem variantu 7 kde sa zvýšila hodnota pH. Záchyty uhlíka a jeho zdroj vo forme CO<sub>2</sub> predstavujú prínosy a úžitky, ktoré poskytujú trávne porasty pre spoločnosť. Poznatky o kolobehu a možnostiach viazania uhlíka je dôležitý poznatok pre moderného poľnohospodára zohľadňujúceho šetrné a prírodne blízke obhospodarovanie pôdy a krajiny. Pri zohľadnení smerníc EU, ktorá kladie dôraz aj na klimatickú zmenu sú poznatky o kolobehu a podpore zvýšeného viazania CO<sub>2</sub> kľúčové.

## Podakovanie

Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore ÚOP „Plnenie činností v oblasti sledovania a inventarizácie emisií z trvalých trávnych porastov a vzniknutých zmien v tvorbe a absorpcii emisií pri zmene využívania plôch trvalých trávnych porastov na základe požiadaviek MPRV SR“, financovanej z kontraktu 720/2023/MPRVSR-930.

## Kontaktná adresa

RNDr. Štefan Pollák, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby – Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica, Mládežnícka 36, Banská Bystrica, 974 32, e-mail: stefan.pollak@nppc.sk

## LITERATÚRA

- Breymeyer, A., Melillo, J. M. 1991. The effects of climate change on production and decomposition in coniferous forests and grasslands *Ecol. Appl.*: a *Publ. Ecol. Soc. Am.*, 1 (2) (1991), p. 111, 10.2307/1941804
- Brookshire, E., Weaver, T. 2015. Long-term decline in grassland productivity driven by increasing dryness. *Nature Communications* 6, 7148 DOI: 10.1038/ncomms8148.
- Dong, S., Zhang, Y., Shen, H., Li, S., Xu, Y. 2023. *Grasslands on the Third Pole of the World*, Structure, function, process, and resilience of social-ecological systems, 1 vydanie, Cham, Switzerland, Springer Nature Switzerland AG, 2023, 379p., ISBN 978-3-031-39484-3, <https://doi.org/10.1007/978-3-031-39485-0>
- Gang, C., Wang, Z., Zhou, W., Chen, Y., Li, J., Chen, J., ... & Groisman, P. Y. (2016). Assessing the spatiotemporal dynamic of global grassland water use efficiency in response to climate change from 2000 to 2013. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(5), 343-354.
- IPCC 2006: *2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories*, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Eggleston H. S., Buendia I., Miwa K., Ngara T. and Tanabe K. (eds.), Published: IGES, Japan.
- O'Mara, F. P. (2012). The role of grasslands in food security and climate change. *Annals of botany*, 110(6), 1263-1270.
- Schlesinger, W. H. 1991. *Biochemistry: An Analysis of Global Change*. Academic Press, San Diego. 432 p. ISBN 978-0-12-625157-9
- Vozár, L., Kovár, P. 2015. *Kultivácia trávnych porastov – praktické skúsenosti z pokusov na Slovensku*. Dostupné online: [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty/files/19/19-vozar.pdf](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/19/19-vozar.pdf)
- Novák, J. *Trávne porasty po odlesnení a samozalesnení*. 1. vydanie. Brno: Tribun EU s.r.o., 2009, 165 s. ISBN: 978-80-7399-898-1.
- Xu, Z., Li, M. H., Zimmermann, N. E., Li, S. P., Li, H., Ren, H., ... & Jiang, L. (2018). Plant functional diversity modulates global environmental change effects on grassland productivity. *Journal of Ecology*, 106(5), 1941-1951.

## Vplyv hnojenia na medonosné a liečivé druhy rastlín v trávnom poraste

### Effect of fertilization on honey-bearing and medicinal species plants in grassland

Vladimíra Vargová

*Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby –  
Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica, Mládežnícka 36,  
Banská Bystrica 974 23, vladimira.vargova@nppc.sk*

#### Abstract

The aim of the research was to determine the impact of different fertilization on the honey-bearing and medicinal species plants of alluvial meadow. The first field experiment was established in the western part of the Zvolenská kotlina basin at 350 m a.s.l. The experiment consisted of 6 treatments of fertilization: unfertilized grass swards, PK fertilized grass swards and grass swards fertilized 50, 100, 150 and 200 kg N/ha. The monitored periods were 2022 and 2023. Grass swards were cut three times. We evaluated the botanical composition of the stand before each mowing. The lowest value of honey-bearing potential (49.80 %) had control non-fertilized treatment. Fertilized treatments had higher values of honey-bearing potential. The highest honey-bearing potential (64.68 %) was found in the treatment with the rate nitrogen 50 kg/ha, phosphorus 7.5 kg/ha, potassium 20 kg/ha. A significantly ( $P < 0.05$ ) higher number of honey-bearing and medicinal plant species was recorded in the second cut.

**Keywords:** grasslands, botanical composition, fertilization, honey-bearing, medicinal

#### ÚVOD

Trávne porasty primárne zabezpečujú krm, živiny. Ich sekundárna funkcia je biodiverzita rastlín a zvierat, ktorá je dôležitá pre udržanie kolobehu živín, vody, energie a funkčnosť ekosystému (Skládanka, *et al.*, 2014). Porasty majú pomerne vysokú ekologickú stabilitu (Novák, 2008). Sú v nich zastúpené vysokohodnotné, aj liečivé, škodlivé a jedovaté rastliny s dostatkom peľu, nektáru a medovice (Moravec *et al.*, 1994). Z hľadiska ekologickej funkcie sú trávne porasty významnou zložkou životného prostredia a zároveň spájajú jednotlivé prvky v krajine. Hodnotením vegetácie rastlín so zreteľom na výskyt medonosných a liečivých rastlín poukazujeme na ich ekologickú a kultúrnu hodnotu (Novák, 2009b). Zistenie reálneho stavu vegetácie má rozhodujúci význam pre krajinnokoekologické štúdie, ktoré hodnotia krajinu prevažne ako biologický systém. Cieľom príspevku bolo zistiť vplyv diferencovaného hnojenia na počet medonosných a liečivých druhov rastlín v trávnom poraste.

#### MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

V západnej časti Zvolenskej kotliny na stanovišti Veľká Lúka bol založený pokus blokovoou metódou v štyroch opakovaniach s veľkosťou pokusnej parcely 32 m<sup>2</sup> v nadmorskej výške 350 m. V príspevku prezentujeme výsledky za obdobie rokov 2022-2023. Dlhodobý

priemer zrážok za vegetáciu je 428 mm a za rok 757 mm. Priemerná denná teplota vzduchu za rok je 8,2 °C a za vegetáciu 14,7 °C. Geologický substrát sú aluviálne naplaveniny, pôdny typ je fluvizem. Trávny porast bol z fytoecologického hľadiska charakterizovaný ako zväz *Alopecurion pratensis* (dominantné trávne druhy: *Arrhenatherum elatius* L., *Alopecurus pratensis* L., *Poa pratensis* L., *Agrostis stolonifera* L.; dominantné leguminózy: *Trifolium pratense* L. a *Trifolium repens* L. a ostatné lúčne byliny: *Leontodon hispidus* L. a *Taraxacum officinale* auct non. Web.).

Tabuľka 1 Varianty pokusu

Varianty/ dodané živiny (kg.ha <sup>-1</sup> )	1	2	3	4	5	6
N	0	0	50	100	150	200
P	0	22	7,5	15	22,5	30
K	0	41,5	20	40	60	80

Pokus je tvorený šiestimi variantami s diferencovanou výživou (tab. 1). Na začiatku vegetačného obdobia bol v celej dávke aplikovaný fosfor, draslík a 65 % dusíka z celkového množstva. Druhá dávka N bola dodaná po prvej kosbe. Porasty sa využívali tromi kosbami – 1. kosba – začiatok klásenia prevládajúcich druhov tráv, 2. kosba – 6 až 8 týždňov po 1. kosbe, 3. kosba – 8 až 10 týždňov po 2.kosbe. Pred každou kosbou sme hodnotili floristické zloženie porastu. Na základe fytoecologických zápisov sme posudzovali vybrané ekologické vlastnosti, a to medonosnosť a liečivosť (oficinálnosť). Rastlinné druhy boli zaradené do príslušnej kategórie a bola im pridelená hodnota tzv. ekočíslo (Jurko, 1990). Na jeseň sa odobrali pôdne vzorky (0 – 150 mm) na stanovenie pH/KCl, obsah organického uhlíka, fosfor, draslík a horčík. Rozbor pôd sa robil podľa Vyhlášky MPRV SR Zz.č.151/2016.

*Medonosnosť (M)* sa určila na základe počtu rastlinných druhov z celkového počtu zaznamenaných druhov. Prvé číslo znamená hodnoty nektáru, druhé medovice a tretie zahŕňa obsah peľu. Medonosné druhy sa diferencujú na štyri skupiny: 1. slabá, 2. stredná, 3. dobrá a 4. veľmi dobrá. *Medonosný potenciál* (Novák, 2008) sa určil na základe podielu rastlín z celkového počtu rastlín v spoločenstve (%). Stupnica medonosnosti: 1. veľmi nízky (< 5 %), 2. nízky (5 – 10 %), 3. stredný (15 – 30 %), 4. vysoký (30 – 40 %), 5. veľmi vysoký (40 – 50 %) a 6. mimoriadne vysoký (> 60 %).

*Liečivosť (oficinálnosť) (O)* sme posudzovali na základe floristického zloženia a analýzy zásoby liečivých rastlín, následne sa rastliny začlenili do troch kategórií: 1. liečivé rastliny, 2. uznaná a normovaná droga, 3. oficinálne podľa liekopisu. *Terapeutický potenciál* bol hodnotený podľa stupnice: 1. žiadny alebo zanedbateľný (< 1 %), 2. veľmi chudobný (1 – 5 %), 3. chudobný (5 – 10 %), 4. málo bohatý (10 – 20 %), 5. bohatý (20 – 30 %) a 6. veľmi bohatý (> 30 %).

Získané výsledky boli spracované štatistickou metódou analýzy variancie ANOVA prostredníctvom Tukeyovho testu na hladine významnosti 0,05, vykonané použitím programu STATGRAPHIC Centurion XVI.I.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na aluviálnej lúke sme počas rokov 2022 – 2023 vyhodnotili agrochemické vlastnosti pôd a ekologické vlastnosti rastlín ako medonosnosť a oficinálnosť. Pôdna reakcia bola sil-

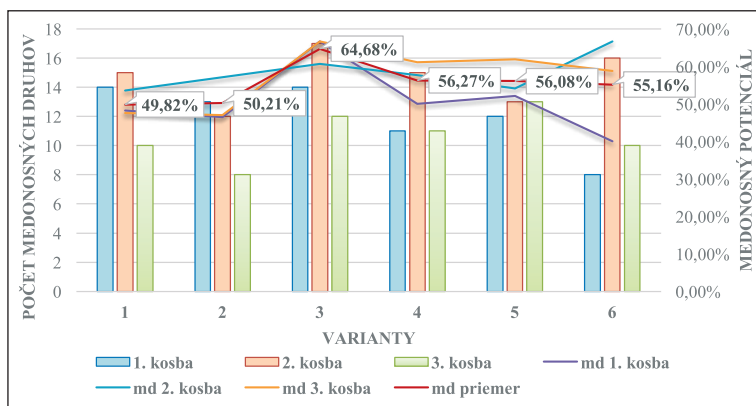


ne kyslá až kyslá, hodnota pH oscilovala od 4,62 na variante 2 do 5,16 na variante 6 (tab. 2). Na nehnajnom variante sme zaznamenali vysoký obsah humusu ( $23,10 \text{ g.kg}^{-1} \text{C}_{\text{ox}}$ ) a dusíka ( $2,35 \text{ g.kg}^{-1}$ ) a nízky obsah draslíka. Vyšší obsah fosforu v pôde bol na variantoch 1 a 2 a hnojené varianty mali vyššiu zásobu horčíka v pôde.

Tabuľka 2 Agrochemické vlastnosti pôd (priemer rokov)

Variant	pH/KCl	Cox g.kg <sup>-1</sup>	Humus g.kg <sup>-1</sup>	N g.kg <sup>-1</sup>	P mg.kg <sup>-1</sup>	K mg.kg <sup>-1</sup>	Mg mg.kg <sup>-1</sup>	C:N
1	4,80	23,10	39,82	2,35	21,54	79,34	170,09	9,83
2	4,62	20,70	35,69	2,01	61,66	103,50	340,96	10,30
3	4,68	17,70	30,51	1,67	7,65	87,12	340,64	10,60
4	4,88	22,50	38,79	2,01	10,18	81,79	358,65	11,19
5	5,08	20,70	35,69	2,00	8,44	104,73	424,63	10,35
6	5,16	21,30	36,72	2,04	8,25	84,25	417,93	10,44

Medonosnosť zahŕňa obsah nektáru, medovice a peľu (Jurko, 1990). Väčšina tráv produkuje len peľ. Dobrý obsah nektáru a peľu má *Trifolium repens* L. a *Trifolium pratense* L. Z bylinných druhov obsahuje veľa nektáru a peľu *Taraxacum officinale* auct.non Web. a *Plantago lanceolata* L. má viac peľu (Novák, 2009b). V trávnom poraste sme evidovali 26 druhov medonosných rastlín (tab. 4). Počet medonosných druhov v prvej kosbe osciloval od 8 (variant 6) do 14 (variant 1 a 3) druhov (graf 1). V druhej kosbe sa počet druhov zvýšil, na 12 – 16 druhov. Najvýraznejší nárast počtu medonosných druhov bol evidovaný na variante 6, až o 8 druhov. Tretia kosba zaznamenala signifikantne ( $P < 0,05$ ) najnižší počet druhov (tab. 3), od 8 druhov na variante s PK hnojením (variant 2) do 13 druhov na variante s dávkou dusíka  $150 \text{ kg.ha}^{-1}$  (variant 5).



Graf 1 Medonosný potenciál (md) a počet medonosných druhov v jednotlivých kosbách

Nehnojený variant (1) mal najviac druhov so slabou medonosnosťou ako *Achillea millefolium* L., *Galium mollugo* L., *Leontodon hispidus* L., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Ranunculus acris* L., *Tragopogon orientalis* L., *Veronica verna* L. (tab. 4), šesť druhov so strednou medonosnosťou (*Lotus corniculatus* L., *Medicago falcata* L., *Vicia tenuifolia* Roth., *Daucus carota* L., *Glechoma hederacea* L., *Senecio vulgaris* L.), štyri druhy s dobrou medonosnosťou (*Trifolium pratense* L., *Jacea pratensis* Lam., *Salvia pratensis* L., *Taraxacum officinale* auct.non Web.) a jeden s veľmi dobrou medonosnosťou, a to *Trifolium repens* L. (tab. 4). Porast dosiahol najnižší medonosný potenciál 47,62 % v tretej kosbe a najvyšší 53,57 % v druhej kosbe (graf 1). Tieto hodnoty predstavujú veľmi vysoký stupeň medonosnosti podľa Nováka (2008, 2009a). Na všetkých variantoch sa vyskytoval druh *Trifolium repens* L. s veľmi vysokou medonosnosťou ( $M = 4$ ). Na variante 2 s PK hnojením bolo zaznamenaných šesť druhov so strednou medonosnosťou ( $M = 2$ ) a štyri druhy s dobrou medonosnosťou ( $M = 3$ ). Najnižší počet medonosných druhov bol evidovaný na variante s najvyššou dávkou hnojenia (variant 6). Kategóriu so strednou medonosnosťou charakterizovali druhy ako *Medicago falcata* L., *Daucus carota* L., *Senecio vulgaris* L. a dobrú hodnotu medonosnosti ( $M = 3$ ) mali druhy *Trifolium pratense* L., *Cirsium arvense* (L.), *Jacea pratensis* Lam., *Taraxacum officinale* auct.non Web. (tab. 4).

Medonosný potenciál podľa Nováka (2008) bol vyhodnotený ako veľmi vysoký (40 – 50 %). Signifikantne ( $P < 0,05$ ) najvyšší bol na hnojených variantoch (56,48 %) pri porovnaní s nehnojenou kontrolou (tab. 3). Hnojené varianty 3 až 6 dosiahli v prvej kosbe medonosný potenciál 40,00 – 66,67 %, v druhej kosbe sa mierne zvýšil o 2,00 až 16,67 % na variantoch 4 – 6. V tretej kosbe mal potenciál hodnotu od 58,82 % na variante 6 do 66,67 % na variante 3. Tento variant (3) sa vyznačoval najvyšším medonosným potenciálom 64,68 % so štatistickou preukaznosťou ( $P < 0,05$ ). Evidovali sme na ňom aj vyšší výskyt druhov so strednou ( $M = 2$ ) a dobrou medonosnosťou ( $M = 3$ ). Boli to druhy *Lotus corniculatus* L., *Medicago falcata* L., *Vicia tenuifolia* Roth., *Daucus carota* L., *Glechoma hederacea* L., *Senecio vulgaris* L., *Trifolium pratense* L., *Jacea pratensis* Lam., *Taraxacum officinale* auct.non Web.

**Tabuľka 3** Vplyv variantov, kosby a hnojenia na počet medonosných, liečivých druhov, na medonosný a terapeutický potenciál

Faktory		Medonosné druhy	Medonosný potenciál	Liečivé druhy	Terapeutický potenciál
Variant	1	13,00 <sup>a</sup>	49,82 <sup>a</sup>	8,00 <sup>a</sup>	31,72 <sup>a</sup>
	2	11,00 <sup>a</sup>	50,21 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>	24,07 <sup>a</sup>
	3	14,33 <sup>a</sup>	64,68 <sup>b</sup>	9,00 <sup>a</sup>	35,71 <sup>a</sup>
	4	12,33 <sup>a</sup>	56,23 <sup>ab</sup>	8,00 <sup>a</sup>	29,97 <sup>a</sup>
	5	12,66 <sup>a</sup>	56,08 <sup>ab</sup>	6,00 <sup>a</sup>	33,18 <sup>a</sup>
	6	11,33 <sup>a</sup>	55,16 <sup>ab</sup>	9,00 <sup>a</sup>	27,17 <sup>a</sup>
	<i>P-value</i>		0,5278	0,0205*	0,2101

Pokračovanie Tabuľky 3					
Faktory		Medonosné druhy	Medonosný potenciál	Liečivé druhy	Terapeutický potenciál
Kosba	1	12,00 <sup>ab</sup>	50,59 <sup>a</sup>	7,17 <sup>ab</sup>	32,57 <sup>ab</sup>
	2	14,66 <sup>b</sup>	58,19 <sup>a</sup>	9,33 <sup>b</sup>	33,33 <sup>b</sup>
	3	10,66 <sup>a</sup>	57,33 <sup>a</sup>	6,50 <sup>a</sup>	25,00 <sup>a</sup>
	<i>P-value</i>	0,0140*	0,1223	0,0129*	0,0474*
Hnojenie	1	13,00 <sup>b</sup>	49,82 <sup>a</sup>	8,00 <sup>a</sup>	31,72 <sup>b</sup>
	2	12,33 <sup>a</sup>	56,48 <sup>b</sup>	7,33 <sup>b</sup>	30,02 <sup>a</sup>
	<i>P-value</i>	0,6894*	0,1876*	0,0129*	0,7118*

Rozdielne indexy znamenajú štatisticky preukazné rozdiely medzi úrovňami faktorov (Tukey t-test,  $P < 0,05$ ), hnojenie: 1 – nehnojený, 2 – hnojené porasty

Z celkového počtu rastlinných druhov sa v poraste nachádzalo 17 liečivých rastlín (tab. 4), z nich štyri patria do liekopisnej skupiny (*Achillea millefolium* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Plantago lanceolata* L., *Taraxacum officinale* auct.non Web.). Počet liečivých druhov rastlín bol významne ( $P < 0,05$ ) najvyšší v druhej kosbe a najnižší v tretej kosbe. Terapeutický potenciál posudzovaný podľa podielu liečivých látok, ktoré pomáhajú liečiť dýchacie a tráviace orgány nielen človeka, ale aj hospodárskych zvierat a lesnej zveri (Novák, 2008), bol maximálny na variante 3 (35,71 %) a označený ako veľmi bohatý. Novák (2009) uvádza, že vo využívaných trávnych porastoch Západných Karpát na Slovensku je až 32 % druhov liečivých a majú pomerne vysoký medicínsky potenciál. Na nehnojenom variante sme evidovali vyšší počet liečivých rastlín ako na variante 2 a 5. Pri štatistickom hodnotení hnojenia ako faktora sme zistili, že hnojenie negatívne ovplyvňovalo počet liečivých druhov rastlín a aj terapeutický potenciál (tab. 3).

## ZÁVER

Príspevok prezentuje vplyv diferencovaného hnojenia na medonosnosť a terapeutický účinok trávneho porastu. Druhá kosba evidovala významne vyšší počet medonosných a liečivých druhov rastlín. Najvyšší medonosný potenciál (64,68 %) sa zaznamenal na variante s dávkou hnojenia 50 kg N.ha<sup>-1</sup>, 7,5 kg P.ha<sup>-1</sup> a 20 kg K.ha<sup>-1</sup>, so silne kyslou pôdnou reakciou, stredným obsahom humusu a dusíka. V poraste sa vyskytovali tri druhy s dobrou medonosnosťou, osem druhov so strednou medonosnosťou, jedenásť druhov so slabou medonosnosťou a jeden druh s veľmi dobrou medonosnosťou (*Trifolium repens* L.). Vyšší medonosný potenciál dosiahli hnojené varianty. Na základe oficiálnosti sme identifikovali 17 liečivých druhov rastlín, z nich štyri sú zaradené do liekopisnej skupiny. Terapeutický potenciál bol hodnotený ako bohatý až veľmi bohatý s maximálnou hodnotou (35,71 %) na variante s dávkou hnojenia 50 kg N.ha<sup>-1</sup>.

**Tabuľka 4** Ekologické hodnoty rastlinných druhov trávneho porastu (2022 – 2023)

Rastlinný druh	M	O	Varianty					
			1	2	3	4	5	6
<i>Lotus corniculatus</i> L.	2 – 1	–	*	*	*			
<i>Medicago falcata</i> L.	2 – 2	–	*	*	*	*		*
<i>Trifolium pratense</i> L.	3 – 3	1	*	*	*	*	*	*
<i>Trifolium repens</i> L.	4 – 3	2	*	*	*	*	*	*
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	2 – 1	–	*	*	*			
<i>Acetosa pratensis</i> Mill.	–2	–	*	*	*	*	*	*
<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	2 – 2	3			*	*	*	
<i>Achillea millefolium</i> L.	1 – 1	3	*	*	*	*	*	*
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	3 – 2	–		*			*	*
<i>Daucus carota</i> L.	2 – 1	1	*	*	*	*	*	*
<i>Galium mollugo</i> L.	1 – 1	–	*	*	*	*	*	*
<i>Glechoma hederacea</i> L.	2 – 1	2	*	*	*		*	
<i>Jacea pratensis</i> Lam.	3 – 2	1	*	*	*	*	*	*
<i>Myosotis arvensis</i> L.	1 – 1	–			*	*	*	*
<i>Leontodon hispidus</i> L.	1 – 1	–	*	*	*	*	*	*
<i>Leucanthemum vulgare</i> Lam.	1 – 1	1	*	*	*	*	*	*
<i>Plantago lanceolata</i> L.	–3	3	*	*	*	*	*	*
<i>Plantago media</i> L.	–2	1	*		*	*		
<i>Prunella vulgaris</i> L.	2 – 2	2			*			
<i>Ranunculus acris</i> L.	1 – 2	1	*	*	*	*	*	*
<i>Salvia pratensis</i> L.	3 – 1	1	*				*	
<i>Sanguisorba officinális</i> L.	1 – 1	2		*				
<i>Senecio vulgaris</i> L.	2 – 2	1	*	*	*	*	*	*
<i>Taraxacum officinale</i> auct.non Web.	3 – 4	3	*	*	*	*	*	*
<i>Tragopogon orientalis</i> L.	1 – 2	–	*	*	*	*	*	*
<i>Veronica verna</i> L.	1 – 1	1	*	*	*	*		

Vysvetlivky: M – medonosnosť, O – liečivosť, \* - výskyt medonosného druhu

**POĎAKOVANIE**

Tento príspevok bol spracovaný z výsledkov riešenia Rezortného projektu výskumu a vývoja (RPVaV) „Environmentálne prínosy inovatívnych stratégií obhospodarovania trávnych porastov a využitia krajiny“, financovaného z kontraktu 1092/2022/MPRV-SR-930.

## Kontaktná adresa

Ing. Vladimíra Vargová, PhD. - Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby – Ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica, Mládežnícka 36, Banská Bystrica 974 23, vladimira.vargova@nppc.sk

## LITERATURA

- Jurko, A. 1990. *Ekologické a socioekonomické hodnotenie vegetácie*. Bratislava: Príroda, 1990, 183 s. ISBN 80-07-00391-6
- Moravec, J. et al. 1994. *Fytocenologie (nauka o vegetaci)* Praha: Academia, 1994, 403 s. ISBN 80-200-0128-X
- Novák, J. 2008. *Pasienky, lúky a trávniky*. Prievidza: Patria I. spol. s r.o., 2008, 708 s. ISBN 978-80-85674-23-1
- Novák, J. 2009a. Hodnotenie využívaných trávnych porastov v CHKO Horná Orava. In *Obhospodarovanie trvalých trávnych porastov v chránených územiach : zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej konferencie*, 29. 8. 2009. Nitra: SPU, 2009, s. 33-44. ISBN 978-80-552-0249-5
- Novák, J. 2009b. *Trávne porasty po odlesnení a samozalesnení*. Brno: Tribun EU s.r.o., 2009, 165 s. ISBN 978-80-7399-898-1
- Skládanka, J. et al. 2014. *Pícninárství*. Brno: MU, 2014, 368 s.

Názov: **Aktuálne trendy v agropotravinárstve**  
Recenzovaný zborník príspevkov z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. Nitra, 10. – 11. 9. 2024

Zostavovateľ: doc. RNDr. Jaroslava Sobocká, CSc.

Recenzenti: doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D. (Univerzita Pardubice, CZ)  
prof. Ing. Branislav Gálik, PhD. (Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, SK)  
prof. Ing. Miroslav Juráček, PhD. (Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, SK)  
doc. Ing. Radoslava Kanianska, CSc. (Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, SK)  
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc. (Emer.)  
prof. Ing. Petr Pipek, CSc. (Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, CZ)  
Dr. Ing. Ján Píry (Plzeňský Prazdroj Slovensko, a. s. – SK)

Technická redakcia: Karol Vég

Vydanie: prvé  
Počet strán: 285  
Forma vydania: online  
Vydavateľ: Garmond Nitra  
Miesto vydania: Nitra  
Rok vydania: 2024



Toto dielo je publikované pod / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International Licence (CC-BY4.0)

ISBN 978-80-8266-073-2

DOI: <https://doi.org/10.15414/2024.atap24>



ISBN 978-80-8266-073-2



9 788082 660732 >