



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STUDIUM VLIVU PLAZMATEM AKTIVOVANÉ VODY NA PŮDNÍ MIKROORGANISMUSY

STUDY OF PLASMA ACTIVATED WATER INFLUENCE ON SOIL MICROORGANISMS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Marianna Poláková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. František Krčma, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1662/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Marianna Poláková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. RNDr. František Krčma, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Studium vlivu plazmatem aktivované vody na půdní mikroorganismy

Zadání bakalářské práce:

Cílem práce je studium vlivu aplikace plazmatem aktivované vody na vybrané půdní mikroorganismy. Dílčí úkoly práce jsou následující:

1. Seznamte se s vlastnostmi půd s důrazem na půdní mikroorganismy
2. Seznamte se s metodami přípravy plazmatem aktivované vody
3. Aplikujte plazmatem aktivovanou vodu na vybrané půdní mikroorganismy
4. Aplikujte plazmatem aktivovanou vodu na vybrané půdní vzorky
5. Sledujte vliv aplikace plazmatem aktivované vody na životaschopnost půdních mikroorganismů a složení půdních mikroorganismů

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Marianna Poláková
student(ka)

prof. RNDr. František Krčma, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Bakalárska práca je zameraná na vplyv plazmou aktivovanej vody na pôdne mikroorganizmy. V plazmou aktivovanej vode sú prítomné reaktívne druhy kyslíka a dusíka, ktoré sú zodpovedné za jej biologické a chemické vlastnosti. Vďaka svojim unikátnym vlastnostiam sa využíva k terapeutickým účelom či v poľnohospodárstve.

Teoretická časť je zameraná na všeobecné informácie o pôde, jej vlastnostiach a mikroorganizmoch sa v nej nachádzajúcich. Ďalej sa zaoberá základnými informáciami o plazme a zdrojoch používaných na jej generovanie. Posledná časť je zameraná na plazmou aktivovanú vodu a jej špecifické vlastnosti.

Experimentálna časť sa zaoberá aplikáciou destilovanej vody, plazmou aktivovanej vody a zmesou destilovanej a plazmou aktivovanej vody na pôdu. V jednom prípade išlo o aplikáciu priamo na pôdu, v druhom o aplikáciu na pôdny výluh. Baktérie boli zaočkované na kultivačné médium v koncentráciách 10^{-2} , 10^{-4} a 10^{-6} . Pozorovaný bol počet narastených kolónií a následne prebehla identifikácia niektorých mikroorganizmov.

Na základe výsledkov môžeme tvrdiť, že plazmou aktivovaná voda mala pozitívny vplyv na rast kolónií mikroorganizmov. Avšak predmetom ďalšej práce je určenie či ide o patogénne mikroorganizmy alebo nie.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Plazmou aktivovaná voda, pôdne mikroorganizmy, dielektrický bariérový výboj

ABSTRACT

Bachelor thesis is focused on the impact of plasma activated water on soil microorganisms. Reactive species of oxygen and nitrogen are present in plasma activated water, which are responsible for its biological and chemical properties. Thanks to its unique features, plasma activated water is used for therapeutic purpose or in agriculture.

The theoretical part is concentrated on general information about soil, its properties and microorganisms found in it. Furthermore, it deals with basic information about plasma and sources used for its production. The last part presents the plasma activated water and its specific characteristics.

Experimental part deals with the application of distilled water, plasma activated water and a mixture of distilled and plasma activated water on soil. In the first set of experiments, it was an application directly on the soil, the application to the soil extract was in the second set. Bacteria were inoculated on culture medium in concentrations 10^{-2} , 10^{-4} and 10^{-6} . The number of formed colonies was observed and then some microorganisms has been identified.

Based on the results, it can be stated that plasma activated water had a positive effect on the microorganism colonies growth. However, the subject of further work will be to determine whether it is positive for pathogenic microorganisms or not.

KEY WORDS

Plasma activated water, soil microorganisms, dielectric barrier discharge

POLÁKOVÁ, Marianna. *Studium vlivu plazmatem aktivované vody na půdní mikroorganismy*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131370>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce František Krčma.

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť použitá na komerčné účely len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....
podpis študenta

POĎAKOVANIE

Týmto by som chcela poďakovať vedúcemu mojej bakalárskej práce doc. RNDr. Františkovi Krčmovi, PhD. za odborné vedenie, pozitívny prístup a cenné rady, ktoré mi poskytol pri spracovaní bakalárskej práce. A taktiež Ing. Petre Matouškovéj, PhD. za jej čas a pomoc pri práci v laboratóriu

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČASŤ	9
2.1	Pôda	9
2.1.1	Chemické vlastnosti pôdy	9
2.1.1.1	Zloženie	9
2.1.1.2	Pôdne reakcie	9
2.1.1.3	Sorpčná schopnosť pôdy	10
2.1.2	Fyzikálne vlastnosti	11
2.1.2.1	Zrornosť	11
2.1.2.2	Štruktúra	11
2.1.2.3	Pórovitosť	11
2.1.3	Biologické vlastnosti pôdy	11
2.2	Život v pôde	12
2.2.1	Charakteristika skupín pôdnych mikroorganizmov	12
2.2.2	Pôdna fauna	14
2.2.2.1	Mikrofauna	14
2.2.2.2	Mezofauna	15
2.2.2.3	Makrofauna	16
2.3	Plazma	17
2.3.1	Výboje používané na generáciu nízkoteplotnej plazmy	17
2.4	Plazmou aktivovaná voda	19
2.4.1	Vlastnosti plazmou aktivovanej vody	20
3	EXPERIMENÁLNA ČASŤ	22
3.1	Použité chemikálie a vybavenie	22
3.1.1	Použité chemikálie	22
3.1.2	Použité vybavenie	22
3.2	Príprava PAW	22
3.3	Príprava 24 h výluhu	23
3.4	Príprava hodinového výluhu	24
3.5	Príprava kultivačného média	24
3.6	Príprava vzoriek	24
3.7	Očkovanie a kultivácia mikroorganizmov	25
4	VÝSLEDKY A DISKUSIA	26
4.1	Pozorovanie po 24 hodinách	26

4.2	Pozorovanie po 48 hodinách.....	28
4.3	Pozorovanie po 144 hodinách.....	30
4.4	Mikroskopické pozorovanie.....	33
5	ZÁVER.....	35
6	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	36

1 ÚVOD

Život na Zemi je podmienený existenciou pôdy. Nielenže nám poskytuje materiál a priestor pre naše stavby, ale najmä prostredie na pestovanie plodín. O správne fungovanie procesov prebiehajúcich v pôde sa starajú mikroorganizmy. Tie podmieňujú i chemické, fyzikálne a biologické vlastnosti pôdy. Pôdne mikroorganizmy rozdeľujeme do troch domén, a to *Bacteria*, *Archaea* a *Eukarya*. Najvýznamnejšiu skupinu tvoria baktérie, ktorých hlavný význam je v rozklade organického materiálu. Pôda je súčasne obývaná obrovským množstvom živočíchov, ktoré rozdeľujeme do mikrofauny, mezofauny a makrofauny. Patria sem organizmy ako prvoky, roztoče, dážďovky, ale i krtkovia či myši.

Plazma je ionizovaný plyn, ktorý sa skladá z iónov, elektrónov a neutrálnych častíc. Na generovanie nízko-teplotnej plazmy môže byť ako zdroj plazmy použitý korónový výboj, dielektrický bariérový výboj alebo plazmová tryska. Tieto zdroje sme schopní použiť na plazmovú úpravu vody, čím získavame plazmou aktivovanú vodu. Počas plazmovej úpravy vody vznikajú reaktívne druhy kyslíka a dusíka (RONS), vďaka ktorým má plazmou aktivovaná voda unikátne chemické a biologické vlastnosti. Plazmou aktivovaná voda nachádza svoje využitie ako dezinfekčný prostriedok v biomedicínskych aplikáciách a vďaka svojej biologickej aktivite i v poľnohospodárstve.

Aplikácia plazmou aktivovanej vody môže mať na pôdu a jednotlivé druhy pôdných mikroorganizmov pozitívny i negatívny vplyv. Avšak v súčasnosti nie je jej vplyv známy. Cieľom práce je teda pilotný pokus zameraný na sledovanie vplyvu plazmou aktivovanej vody na pôdu a pôdne mikroorganizmy, aby sme v prípade jej aplikácie vo väčšom množstve zabránili zničeniu pôdy.

V prípade rastlín, ktoré sú tiež významnou súčasťou pôdy, je preukázaný pozitívny efekt aplikácie plazmou aktivovanej vody. Jej aplikácia mala vplyv na rýchlosť klíčenia rastlín. U mikroorganizmov je viacej preskúmaný vplyv na kvasinku *Sacharomyces cerevisiae*, kedy plazmou aktivovaná voda mala deaktivčné účinky.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Pôda

Pôda je pre človeka jednou zo základných súčastí životného prostredia. Patrí medzi zložité systémy, v ktorých prebieha množstvo biologických, chemických a fyzikálno-chemických procesov. Tvorí najvrchnejšiu časť zemského povrchu, ktorá je biologicky aktívna. Predstavuje hlavnú súčasť prostredia pre mnohé organizmy. Predovšetkým však pre vyššie rastliny, ktoré sú základným zdrojom obživy živočíchov a ľudstva. Pôda podmieňuje vývoj života na Zemi tým, že rastlinám poskytuje minerálne látky, vodu, vzduch, oxid uhličitý a teplo. V procese fotosyntézy im umožňuje akumulovať značné množstvo slnečnej energie vo forme organickej hmoty. Odumreté telá živočíchov a rastlín sa dostávajú do pôdy a stávajú sa tak hlavným zdrojom humusu i energie v pôde [1]. Medzi hlavné funkcie pôdy patrí [2]:

- 1) zásobník humusu a živín,
- 2) regulátor vodného režimu,
- 3) regulátor výmeny plynov,
- 4) regulátor klímy.

Zásadnú úlohu hrá v stabilite ekosystémov a v ovplyvňovaní bilancie látok a energie. Pôsobí ako environmentálne pufrčné médium, ktoré okrem iného zadržuje, degraduje a za určitých podmienok i uvoľňuje potenciálne rizikové látky. Z pôdy pochádza mnoho základných zložiek stavebných materiálov a surovín. Súčasne poskytuje priestor pre umiestňovanie stavieb a ďalšie aktivity človeka. Z hľadiska histórie a kultúrneho dedičstva poskytuje prostredie, v ktorom prebieha archeologický a paleontologický výskum [3].

2.1.1 Chemické vlastnosti pôdy

2.1.1.1 Zloženie

Pôda je otvorený heterogénny biogeochemický systém, ktorý pozostávajú z pevnej, kvapalnej a plynnej fázy. Otvorený systém znamená, že je prepojený radou procesov s okolím, teda s atmosférou, hydrosférou, litosférou a biosférou. Prostredníctvom týchto procesov sa realizuje kolobeh látok a energie [4]. Z anorganických látok obsahuje pôda najviac kyslík a kremík. Z ostatných prvkov sa v pôde nachádza predovšetkým hliník, železo, vápnik, sodík, draslík, horčík, vodík a titán. V menšom množstve sa vyskytuje aj chlór, fosfor, síra a mangán. Zo vzduchu sa do pôdy dostáva taktiež dusík. Základnou súčasťou pôdy je i organická hmota vo forme odumretých zvyškov rastlín, zvierat a humusu. Humus je dynamický komplex organických zlúčenín tvoriacich sa pri rozklade a humifikácii organických látok v pôde. Z chemického hľadiska môžeme povedať, že humus je heterogénna zmes, v ktorej sa nachádzajú dve skupiny látok, a to huminové a nehumínové [5].

2.1.1.2 Pôdne reakcie

Pôdne reakcie majú vplyv na procesy prebiehajúce v pôde, a to ako pri vzniku pôd tak aj po ich vytvorení [6]. Zasahujú do všetkých procesov, ktoré v pôde prebiehajú ako je napríklad adsorpcia a desorpcia katiónov alebo rozpustnosť látok v pôde. Dôležitou vlastnosťou pôdy je jej hodnota pH, ktorá môže byť v rozmedzí veľmi kyslé (< 3,5) až veľmi silne alkalické (>9,0) [7]. Okyslenie pôd sa často spája s antropogénnym znečistením atmosféry a následne pôsobením kyslých spadov, predovšetkým síranov. Taktiež rozklad pozberových zvyškov v pôde, odpadu rastlinného materiálu, koreňov, ale aj aplikovaných hnojív vedie k tvorbe množstva medziproduktov, ktoré majú okysľujúci efekt. K poklesu pH pôdy dochádza i rozkladom organickej hmoty, kedy vzniká oxid uhličitý, ktorý následne reaguje a vytvára

kyselinu uhličitú. Disociáciou tejto kyseliny dochádza k uvoľňovaniu katiónu vodíka, ktorý je zodpovedný za pokles pH. Kyslé pH spôsobuje i nitrifikácia, kedy v pôde dochádza k premene amónneho dusíku na nitrátový [6]. V silne kyslých pôdach sa nedarí niektorým užitočným pôdnym baktériám, ktoré sú zodpovedné za správny priebeh biochemických reakcií v pôde ako sú *Rhizobia* alebo *Azotobacter chroococum*. V takýchto pôdach vznikajú priaznivé podmienky pre činnosť plesní a húb. Alkalické pH pôd môže byť spôsobené vysokým obsahom uhličitanu vápenatého alebo sodíkových iónov, ktoré sú súčasťou niektorých hnojív. Zvýšená alkalita pôdy spôsobuje peptizáciu pôdných koloidov a obmedzuje príjem niektorých živín (zinok, meď, železo a väčšiny ťažkých kovov) [8].

2.1.1.3 Sorpčná schopnosť pôdy

Sorpčná schopnosť je schopnosť pôdy sorbovať ióny alebo celé molekuly rôznych zlúčenín z pôdneho roztoku do jej pevnej fázy. Podľa druhu a intenzity sorpcie sú pútané živiny chránené proti vyplaveniu a vytvárajú rezervoár ľahko prijateľných živín pre rastliny. Ten umožňuje postupný príjem živín počas vegetácie a podstatne obmedzuje nežiaduce zvýšenie koncentrácie soli v pôdnom roztoku [9]. Živiny nachádzajúce sa v pôde môžu byť v pôdnom roztoku pútané minerálnymi a organickými časticami buď výmenne, fixovane alebo pevne. Pre výživu rastlín majú však význam len tie živiny, ktoré sú obsiahnuté v pôdnom roztoku v iónovej forme a živiny viazané na tuhú fázu pôdy, pretože môžu postupne prechádzať do pôdneho roztoku. Dôležitým ukazovateľom úrodnosti pôdy, pokiaľ ide o schopnosť viazať dostatok živín pre rastliny, je nielen hodnota celkovej sorpčnej kapacity pôdy (T), ale najmä hodnota charakterizujúca stupeň nasýtenia koloidov bázami (V) a momentálny obsah výmenných báz (S) [9]. Celková sorpčná kapacita pôdy (T) vyjadruje množstvo katiónov v milimoloch, ktoré môže pútať jeden kilogram zeminy. Množstvo výmenných báz (S) informuje o množstve bazických katiónov v jednom kilograme zeminy. Nasýtenosť sorpčného komplexu (V) je daná podielom výmenných bazických katiónov v % z celkovej sorpčnej kapacity [10]:

$$V = \frac{S \cdot 100}{T} \quad (1)$$

Každá pôda vykazuje niekoľko druhov sorpcie živín. Na základe spôsobu zadržiavania látok v pôde rozlišujeme 5 typov sorpcie živín, a to mechanickú, fyzikálnu, chemickú, fyzikálne-chemickú a biologickú. Mechanická sorpcia spočíva v mechanickom zadržiavaní disperzných častíc, veľkých agregátov koloidných častíc alebo zrazením v povrchových, zúžených alebo v končiacich póroch. Má obmedzený význam pre výživu rastlín [9]. Fyzikálna sorpcia súvisí s povrchovými javmi na fázovom rozhraní koloidnej sústavy. Je podmienená voľnou povrchovou energiou, ktorá vzniká na rozhraní pevných častí pôdy a pôdneho roztoku. Prejavuje sa zväčšovaním (pozitívna sorpcia) alebo zmenšovaním (negatívna sorpcia) koncentrácie molekúl na povrchu pevnej fázy [7]. Pri negatívnej sorpcii dochádza ku kontaminácii podzemných vôd [9]. Pri chemickej sorpcii dochádza k zadržiavaniu iónov v pôde, ktoré za určitých podmienok vytvárajú málo rozpustné resp. nerozpustné zlúčeniny. Tie sú následne mechanicky zadržiavané pevnou fázou pôdy a tvoria jej súčasť. Fyzikálne-chemická sorpcia sa považuje za najdôležitejšiu. Ide o výmenu iónov medzi pôdnym koloidným komplexom a pôdnym roztokom, uskutočňujúcu sa v ekvivalentných pomeroch. Biologická sorpcia spočíva v prijímaní biogénnych prvkov rastlinami a mikroorganizmami z pôdneho koloidného komplexu. Patrí medzi selektívne sorpcie, pretože organizmy prijímajú len tie prvky, ktoré potrebujú k svojmu životu [7].

2.1.2 Fyzikálne vlastnosti

Medzi fyzikálne vlastnosti sa radia tie, ktoré možno ohodnotiť vizuálne alebo ohmatom a určiť pomocou škál a stupníc tvar, silu a intenzitu [5]. Každá pôda je charakteristická viacerými fyzikálnymi vlastnosťami. Tie sú podmienené disperziou pôdnych častíc, ich priestorovým usporiadaním a vzájomnými vzťahmi medzi pevnými časticami, kvapalnou fázou a vzduchom. Z toho vyplýva, že pôda je pórovité teleso [1].

2.1.2.1 Zrinitosť

Zrinitosť patrí medzi dôležité fyzikálne charakteristiky pôdy, ktorá ovplyvňuje pohyb vody v pôde [1]. Zrinitosť pôdy súvisí i s jej nárokmi na obrábanie. V tom prípade sa pôda delí na ľahkú – piesočnatú, stredne ťažkú – hlinitú a ťažkú – ílovitú [7]. Voda v pôde nie je tak ľahko dostupná pre organizmy a korene rastlín. V pôde je zadržovaná v póroch kapilárnymi silami a adsorpciou, pričom sila väzby rastie so znižujúcou sa veľkosťou pórov a pôdnych častíc. Jemnozrnné pôdy zadržujú viac vody ako hrubozrnné. Schopnosť pôdy zadržiavať vodu závisí na obsahu organickej hmoty. Čím je obsah organickej hmoty väčší, tým lepšia je schopnosť pôdy vodu zadržiavať. V suchých podmienkach sú schopné dodať viac vody jemnozrnné pôdy ako piesok, kvôli väčšiemu obsahu kapilárnych pórov [11].

2.1.2.2 Štruktúra

Pôda je zložená z pôdnych častíc, ktoré sa nazývajú agregáty. Agregáty vznikli zlepením viacerých drobných zrn, na ktoré sa časom prilepili rôzne sacharidy, humusové látky a uhličitany. V pôde dochádza k neustálej tvorbe a rozkladu štruktúry. Na kvalitu štruktúry má vplyv vodoodolnosť, veľkosť a tvar pôdnych častíc. Najvhodnejší tvar pôdnych častíc je zaoblený. Nízka vodoodolnosť pôdnych častíc spôsobuje tvorbu prísušku na povrchu pôdy. Ten znemožňuje rastlinám príjem vody, živín a podporuje vodnú eróziu. Ku zlepšeniu štruktúry pôdy môže dôjsť častejším okopávaním, hnojením alebo vápnením [7].

2.1.2.3 Pórovitosť

Pórovitosť je sumárny objem všetkých pórov a medzier nachádzajúcich sa medzi pevnými časticami. Spolu so štruktúrou pôdy je hlavným ukazovateľom priestorového usporiadania pôdneho telesa. Dochádza k formovaniu voľných priestorov (pórov) medzi pevnými časticami a zhlukmi, ako i vo vnútri zhlukov. Tieto voľné priestory umožňujú zakoreňovanie a upevňovanie rastlín, existenciu pôdnych organizmov, príjem, uvoľňovanie i cirkuláciu vody a vzduchu. Taktiež všetky fyzikálne, chemické, fyzikálno-chemické a biologické procesy dôležité pre život a vývoj pôdy sa odohrávajú v póroch. Pórovitosť súvisí so zmenou objemovej hmotnosti pôdy čo znamená, že to nie je konštantná hodnota [1]. Objemová hmotnosť pôdy vyjadruje hmotnosť nielen pevných častíc, ale i kvapalnej a plynnej fázy pôdy, ktorá vyplňuje pôdne póry [7].

2.1.3 Biologické vlastnosti pôdy

Medzi biologické vlastnosti pôdy patrí mineralizácia uhlíka, dusíka a nitrifikácia. Mineralizácia uhlíka je aktivita mikroorganizmov meraná množstvom uvoľneného oxidu uhličitého z pôdy. Prirodzeným uvoľňovaním oxidu uhličitého sa zabezpečuje nevyhnutný obeh uhlíka v prírode. Mineralizácia dusíka je proces uvoľňovania minerálnych foriem dusíka z pôdnej organickej hmoty a nitrifikáciou sa označuje biologická oxidácia minerálneho dusíka [7].

2.2 Život v pôde

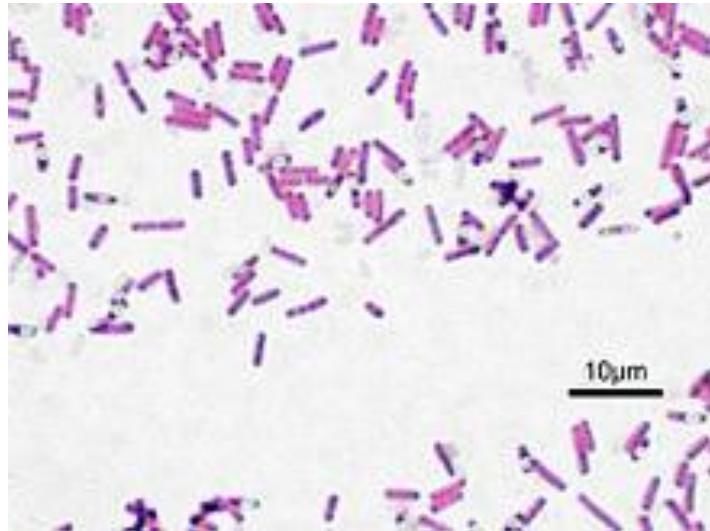
Život v pôde najviac ovplyvňuje vlhkosť, dostatočné prevzdušnenie, nedostatkom svetla, teplota a dostupnosť živín. Organizmy v pôde nie sú rozmiestnené rovnomerne. Rozmiestnenie závisí na obsahu pôdnej organickej hmoty a možnosti pohybu organizmov v pôdnom prostredí. Každá zložka pôdy ovplyvňuje či obmedzuje život v pôde. Anorganické látky a produkty ich zvetrávania sú pre organizmy zdrojom minerálnych látok. Veľkosť minerálnych látok určuje priestorové usporiadanie pôdy. Jemnozrnné pôdy sú menej prevzdušnené, pevnejšie viažu vodu, živiny a vytvárajú stabilnejšie prostredie pre organizmy. Piesočnaté pôdy naopak rýchlejšie vysychajú, obsahujú menej živín a vytvárajú premenlivé prostredie na život mikroorganizmov. Medzi základné faktory limitujúce život v pôde patrí voda, ktorá je transportným médiom a rozpúšťadlom živín. Vďaka jej vysokej tepelnej kapacite zmierňuje výkyvy teplôt. Množstvo vody v pôde určuje vlastnosti pôdneho roztoku ako je jeho pH, koncentrácia živín a difúzia plynov. Pôdne organizmy musia byť prispôsobené na určité výkyvy vlhkosti pôdy. Rastliny sú prispôsobené na to, aby tieto výkyvy zvládali. Sú schopné regulovať príjem vody architektúrou a rastom ich koreňového systému, prípadne symbiózou s mykorhiznými hubami. Živočíchy sa pred výkyvmi vlhkosti pôdy chránia presunom do vhodnejšieho prostredia či tvorbou pokojových štádií. Ďalším limitujúcim faktorom života v pôde je vzduch, pre pôdne organizmy je dôležitý hlavne kyslík. Vzduch sa do pôdy dostáva pórmi väčšími než 0,3 mm. Prostredie bez kyslíka môže nastať prevlhčením, vysokou spotrebou kyslíka živými organizmami a jeho nedostatočnou difúziou do pôdneho prostredia. Teplota je tiež faktor, ktorý ovplyvňuje život organizmov v pôde. Väčšina pôdnych organizmov patrí do skupiny s optimálnych fungovaním okolo 25 °C. So životom v pôde súvisí i oxidačne-redukčný potenciál. Všetky organizmy získavajú energiu oxidáciou, kedy dochádza k transformácii cukrov na CO₂ za uvoľnenia energie, vodíku a elektrónov, ktoré sa musia ďalej viazať [12].

2.2.1 Charakteristika skupín pôdnych mikroorganizmov

Pôdne mikroorganizmy môžeme rozdeliť do troch fylogenetických domén: *Bacteria*, *Archaea* a *Eukarya*. Najvýznamnejšiu skupinu predstavujú baktérie a huby, ktoré plnia v pôdnom prostredí nezastupiteľné funkcie a spoločne sa podieľajú na správnom fungovaní pôdneho prostredia [13].

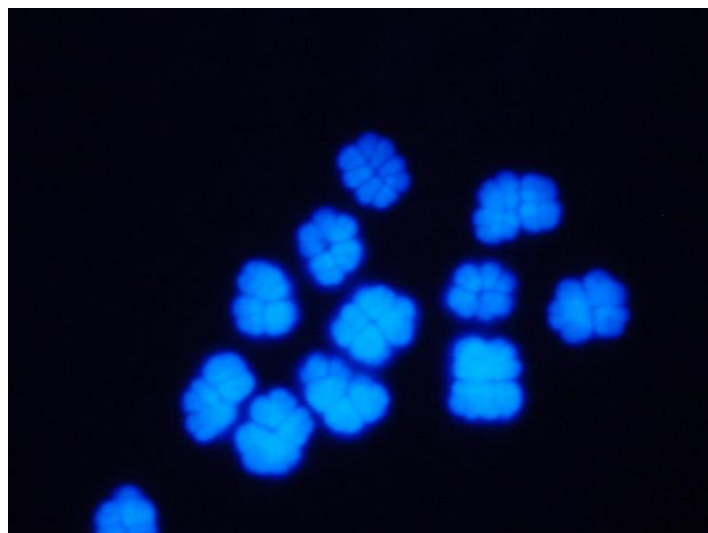
Baktérie sú jednobunkové organizmy s prokaryotickou organizáciou buniek. Nukleotid je tvorený jednou makromolekulou kružnicovej DNA, ktorá nie je ohraničená jadrovou membránou. V bunke nie sú prítomné mitochondrie ani plastidy. Rozmnožujú sa nepohlavne, delením alebo pučením. Najčastejšie majú tvar tyčínok, ktoré môžu byť rovné, zakrivené alebo vytvárajú špirálovitý tvar. Veľkosť bunky baktérie súvisí s tým, či je baktéria rastúca alebo nerastúca. Rastúce baktérie majú väčšie bunky ako tie nerastúce [2]. V pôde sa nachádza obrovské množstvo baktérii, avšak najčastejšie sa vyskytuje nasledujúcich 6 skupín: *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Firmicutes* a *Planctomycetes*. Hlavný význam baktérii v pôde je dekompozícia organického materiálu a fixácia vzdušného dusíka. Podieľajú sa i na tvorbe pôdnej štruktúry vďaka tomu, že polysacharidové obaly ich bunčných stien stmelujú pôdne častice. Taktiež sú dôležitým zdrojom potravy pre väčšie organizmy [12]. Významnou schopnosťou pôdnych baktérii je produkcia bioaktívnych látok, predovšetkým látok využívaných ako antibiotické liečivá. K najznámejším producentom antibiotík patrí rod *Streptomyces* [2]. Aktinobaktérie sú charakteristické schopnosťou ich buniek sa vetviť, tvoriť jednobunčné mycélia a podieľať

sa na rozklade komplexných látok (chitin). Významnú skupinu tvoria i nitrifikačné baktérie, ktoré získavajú energiu aeróbnou oxidáciou amónnych solí na dusitany, či dusitanov na dusičnany. Medzi najznámejšie rody z tejto skupiny patria *Nitrosomonas* a *Nitrobacter*. Ďalšou významnou skupinou sú baktérie oxidujúce zlúčeniny síry, napríklad *Thiobacillus*. Najznámejšími baktériami, ktoré pútajú vzdušný dusík sú *Rhizobium* alebo *Azotobacter* [12].



Obrázok 1: Baktérie rodu *Bacillus* [13]

Archaea podobne ako baktérie patrí medzi prokaryota [12]. Morfológicky i spôsobom rozmnožovania pripomínajú baktérie, líšia sa však stavbou cytoplazmatickej membrány a bunečnej steny. Ich jedinečnou vlastnosťou je metanogenéza, čo je schopnosť redukovať mnohé organické zlúčeniny a produkovať metán [2]. Úloha archaeí v pôde nie je ešte jednoznačne určená, ale napríklad štúdie Leiningera et al. (2006) odhalili ich významný podiel na nitrifikácii [13]. Archaea je tiež významnou zložkou mikrobiomu zažívacích traktov pôdnych živočíchov [2].



Obrázok 2: Metanogénna Archea – *Methanosarcina barkeri* [14]

Eukaryota predstavuje heterogénnu skupinu organizmov, pretože sem patria jednobunkové organizmy, častokrát veľmi malých rozmerov, ale i huby, rastliny a živočíchy. Hlavný rozdiel medzi prokaryotnými a eukaryotnými organizmami je ten, že eukaryotná bunka má jadro

i organely oddelené od cytoplazmy jadrovým obalom. Okrem toho obsahuje i ďalšie organely ako peroxisomy alebo Golgiho aparát [2].

Pôdne huby patria vedľa baktérii k najhojnejším pôdnym organizmom [2]. Rastú väčšinou vo forme mycélia, čo im umožňuje kolonizovať veľké objemy pôdy [13]. V pôde bolo identifikovaných cez 690 druhov húb [12]. Vyskytujú sa predovšetkým v lesných pôdach s nižším pH, kde ich aktivita je sústredená vo vrchných 10 cm pôdy [12]. Hrajú dominantnú rolu pri rozklade zložitých vysokomolekulárnych látok ako je celulóza, lignín alebo pektín. Do prostredia vylučujú enzýmy, ktoré extracelulárne štiepia tieto, pre väčšinu iných organizmov nedostupné, polyméry [2]. Vylučovaním extracelulárnych enzýmov taktiež sprístupňujú rastlinám fosfor a ďalšie živiny. Obrovský význam majú mykorhízne huby, teda huby žijúce v symbióze s rastlinami. Tieto huby sú napojené na koreňový systém rastlín a využívajú im prúdiacich asimilátov. Zároveň zväčšujú efektívny povrch koreňov a tým umožňujú rastline lepšie využiť pôdny roztok pre vlastnú výživu. Taktiež chránia rastliny proti patogénom [12].

2.2.2 Pôdna fauna

Pôda je obývaná obrovským množstvom živočíchov, ktoré možno klasifikovať podľa efektívnej šírky ich tela do troch základných skupín mikrofauna, mezofauna a makrofauna [2].

2.2.2.1 Mikrofauna

Z hľadiska početnosti a roli v pôde sú najvýznamnejšie prvoky a hlísty. Menšiu skupinu tvoria vírniky, ktorých význam v pôde je doposiaľ málo prebádaný. Ešte menej je známy význam pôdnych pomaliek. Pomalky sú živočichy, ktoré sa vyznačujú schopnosťou prechádzať do anabiózy, pokojových štádií, v ktorých sú schopné prečkať aj tie najextrémnejšie podmienky [2].

Prvoky žijú prevažne v povrchovej vrstve pôdy s dostatočnou vlhkosťou [12]. Živia sa prevažne baktériami, prípadne i mikroskopickým hubami, riasami, inými prvokmi alebo čiastočkami organickej hmoty. Ich počet v pôde je závislý na dostupnosti potravy, teda početnosti všetkých mikroorganizmov. Ako predátori baktérií stimulujú dynamiku bakteriálneho rastu a aktivity. Hrajú významnú rolu v cykloch živín v pôde a výžive rastlín, nakoľko pri predácii uvoľňujú ľahko prístupné druhy dusíka. Slúžia ako potrava pre ďalšie organizmy [2].

K najpočetnejšej skupine pôdnej fauny patria spolu s prvokmi i hlísty. Hlísty sú voľne i paraziticky žijúce živočichy nachádzajúce sa takmer vo všetkých pôdach, kde obývajú prevažne vrchné vrstvy [2]. Živia sa rozkladajúcou sa organickou hmotou, riasami či prvokmi [12]. Podľa potravinových návykov rozlišujeme šesť základných skupín: fytofágne, bakteriofágne, mykofágne, fyto-mykofágne, dravé a všežravé. Hlísty sú v niektorých systémoch zapojené do kolobehu látok a energie, kde priamo i nepriamo ovplyvňujú dekompozíciu opadu a mineralizáciu organických látok [2].



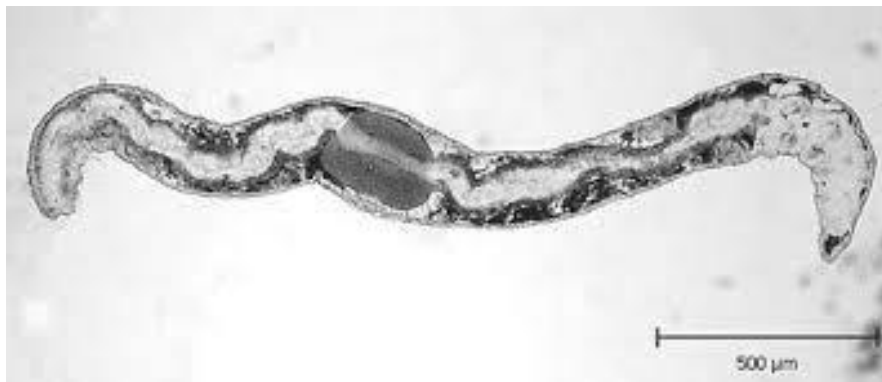
Obrázok 3: Celé telo pôdnej hľísty *Clarkus popillatus* [2]

Vírniky sa tiež bežne vyskytujú v povrchových vrstvách pôdy, kde vytvárajú kolónie. Živia sa drobnými živočíchmi, riasami a baktériami. Ich význam v pôde je známy len málo, spočíva v tvorbe biomasy a tým vplyvom na kolobeh uhlíka. Tiež slúžia ako potrava pre ďalšie živočíchy [2].

2.2.2.2 Mezofauna

Najvýznamnejšie z mezofauny sú rupice, roztoče a chvostoskoky. Ďalej sem patria i zástupcovia špirálovcov, článkonožcov, drobných lariev múch a chrobákov.

Rupice sú blízkymi príbuznými dážďoviek, líšia sa menšou veľkosťou a belavým až žltkavým sfarbením. Nájdeme ich v pôde takmer všetkých ekosystémov. Najväčší význam majú v ihličnatých lesoch a rašelinových pôdach, kde nahrádzajú aktivitu dážďoviek. Podieľajú sa na rozklade odumretej biomasy a spásaním mikroflóry utvárajú pôdnu mikroštruktúru. Predstavujú i významný zdroj potravy pre ďalšie pôdne živočíchy [2].



Obrázok 4: Rupice *Cernosvitoviella minor* [2]

Roztoče sú prispôbené na život vo všetkých typoch pôdy tým, že majú vyvinuté všetky potravinové stratégie. Podieľajú sa na dekompozícii odumretej organickej hmoty, na tvorbe pôdnej mikroštruktúry a na kolobehu živín. Významne prispievajú k šíreniu mikroskopických húb a baktérií v opadu a pôdnom prostredí [2].

Chvostoskoky sú druh citlivý na zmeny prostredia, čo sa využíva pri testoch ekotoxicity [12]. Vyskytujú sa v trávnatých ekosystémoch a smrekových lesoch. Živia sa predovšetkým mikroskopickými hubami, baktériami a riasami [2].

2.2.2.3 Makrofauna

Najvýznamnejšími zástupcami makrofauny sú dážďovky, mravce, mnohonôžky a stonožky.

Dážďovky predstavujú najvýznamnejšiu skupinu pôdnej makrofauny [2]. Ich hlavný význam je nielen v prevzdušňovaní a miešaní pôdy, ale predovšetkým v rozdrobovaní rastlinného organického materiálu za prítomnosti minerálnych zložiek a tvorba takzvaných koprolitov. Koprolity sú organominerálne výlučky dážďoviek, ktoré sa svojím zložením líšia od okolitej pôdy. Ide o vysoko stabilné agregáty zlepšujúce pôdnu štruktúru. Život dážďoviek je podmienený dostatočnou vlhkosťou, teplotou pôdy a dostatkom organickej hmoty [12]. Chodby, ktoré vytvárajú, majú vplyv na vodný a plynný režim pôdy. Pôdy bohaté na dážďovky sa vyznačujú lepšou schopnosťou zadržiavať pôdnu vlahu a zvyšuje sa ich odolnosť proti erózii [2].



Obrázok 5: Dážďovka *Eisenia lucens* [2]

Mravce sa zdržiavajú v kolóniách a sú schopné vytvárať superkolónie. Prítomnosť mravcov výrazne ovplyvňuje mnoho fyzikálnych i chemických zmien v pôde, kolobeh živín a tok energie [2].

Mnohonôžky sa živia odumretým rastlinným materiálom, ktorý rozdrobujú a tým prispievajú k prvej fáze jeho rozkladu. Medzi mnohonôžkami sa nachádza i niekoľko druhov, ktoré patria medzi významných škodcov poľnohospodárskych plodín [2].

Do makrofauny patria i väčšie živočíchy ako sú krtkovia, hady a myši. Tie žijú v pôde čiastočne alebo dočasne, alebo v nej majú vytvorené svoje hniezda. Celkovo však nemajú pre funkcie pôdy veľmi veľký význam, aj napriek tomu, že v mieste svojho výskytu zásadne ovplyvňujú prostredie [2].

2.3 Plazma

Plazmou sa označuje čiastočne alebo plne ionizovaný plyn zložený z iónov, elektrónov a neutrálnych častíc, ktoré vykazujú kolektívne chovanie a kvázineutralitu. Kvázineutralita znamená, že v jednotke objemu plynu sa vyskytuje rovnaké množstvo kladne i záporne nabitých častíc a celkový priestorový náboj je rovný nule. Plazma sa označuje aj ako štvrté skupenstvo hmoty [15,16]. Rozlišujeme dva druhy plazmy, a to vysokoteplotnú a nízokoteplotnú. S vysokoteplotnou plazmou sa stretávame pri experimentoch v astrofyzike a s nízokoteplotnou sa stretáme v zariadeniach ako sú osvetľovacie žiarivky a výbojky [17]. Na rozdiel od vysokoteplotnej plazmy sú v nízokoteplotnej plazme excitované na vysokú energiu iba elektróny a ióny zostávajú na teplote blízkej okoliu. V dôsledku toho má nízokoteplotná plazma niekoľko výhodných vlastností, ktoré sa využívajú najmä pri úprave pevných alebo kvapalných materiálov [15]:

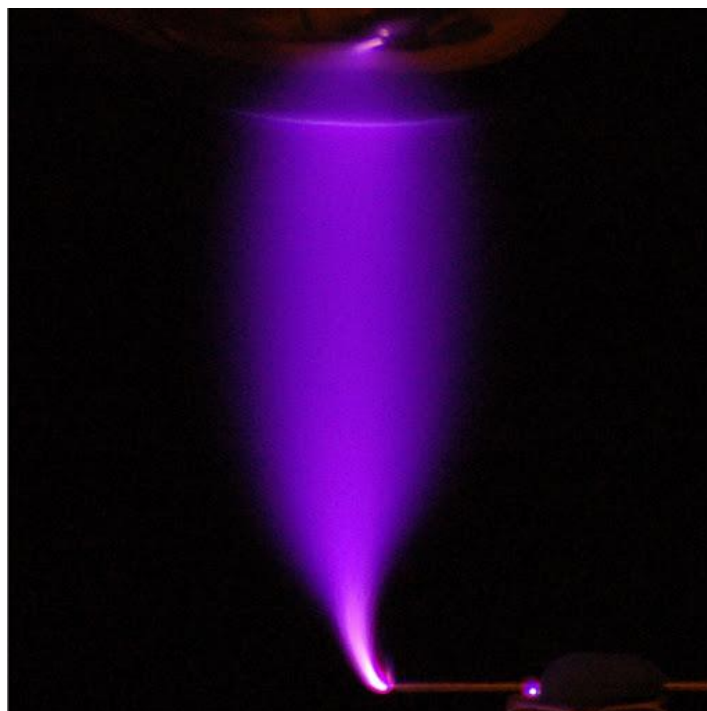
- 1) výrazne nezvyšuje teplotu opracovávaného materiálu,
- 2) prevádzkové náklady sú veľmi nízke,
- 3) pri aplikácii nevznikajú nežiaduce vedľajšie produkty.

V laboratórnych podmienkach vzniká plazma vybudením elektrónov plynu dodaním veľkého množstva energie. Energia býva väčšinou dodaná formou elektrického poľa alebo rádiových vln. V praxi sa preferuje ionizácia elektrickým výbojom. Po dodaní dostatočnej energie sa elektróny odtrhnú z molekuly alebo atómu, dôjde k zrážkam voľných elektrónov s neutrálnymi časticami za vzniku nabitých častíc či ďalších voľných elektrónov [18]. Najčastejšie sa na generovanie plazmy používa korónový výboj, dielektrický bariérový výboj alebo zariadenie nazývané plazmová tryska. Nízokoteplotná plazma je generovaná pôsobením striedavého elektrického poľa v prúde nosného plynu [15].

Najvýznamnejšou fyzikálnou vlastnosťou plazmy je elektrická vodivosť. Elektrická vodivosť plazmy závisí od toho, či je plazma slabo alebo silne ionizovaná. Pri silne ionizovanej plazme elektrická vodivosť nezávisí na koncentrácii nabitých častíc a rastie so strednou kinetickou energiou elektrónov. Vďaka tomu môže mať plazma pri vyšších teplotách lepšiu vodivosť ako kovové vodiče. Pri slabo ionizovanej plazme vodivosť rastie s koncentráciou nabitých častíc. S rastúcou teplotou elektrónov pri konštantnej koncentrácii nabitých častíc elektrická vodivosť klesá [17].

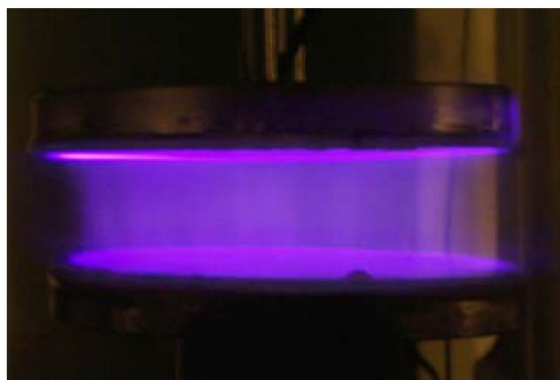
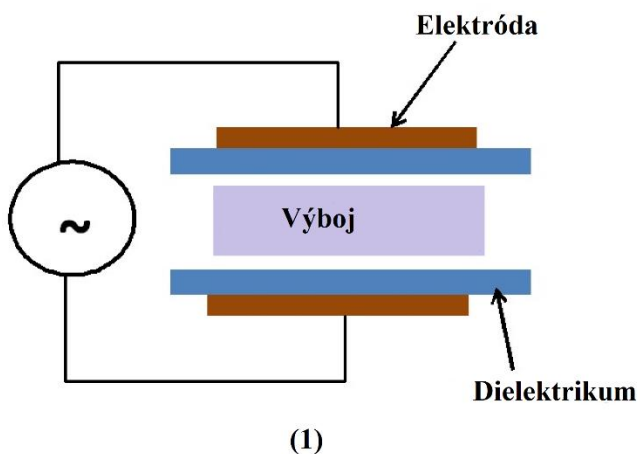
2.3.1 Výboje používané na generáciu nízokoteplotnej plazmy

Korónový výboj môže existovať len v nehomogénnom poli, ktoré vzniká medzi dvomi elektródami. Aspoň jedna musí mať malý polomer krivosti, to znamená, že musí byť špicatá. Takúto elektródu nazývame korónujúca elektróda [15]. V dôsledku malého polomeru krivosti elektródy sa v jej okolí vytvára silné elektrické pole, v ktorom vznikajú elektrónové lavíny. Elektrónové lavíny sa nemôžu rozšíriť do celého priestoru medzi elektródami, a tak je oblasť ionizácie viazaná len na okolie korónujúcej elektródy. Túto oblasť nazývame korónujúca vrstva alebo ionizačná vrstva. Vizuálne je pozorovateľná ako slabo svietiaci obal korónujúcej elektródy. Oblasť, v ktorej nedochádza k ionizácii sa nazýva vonkajšia oblasť [17]. Na základe polarizácie korónujúcej elektródy a druhu pripojenia napätia rozlišujeme niekoľko typov korónových výbojov: koróna jednosmerná pozitívna, jednosmerná negatívna, striedavá a vysokofrekvenčná [15].



Obrázok 6: Korónový výboj z hrotu špendlíka [19]

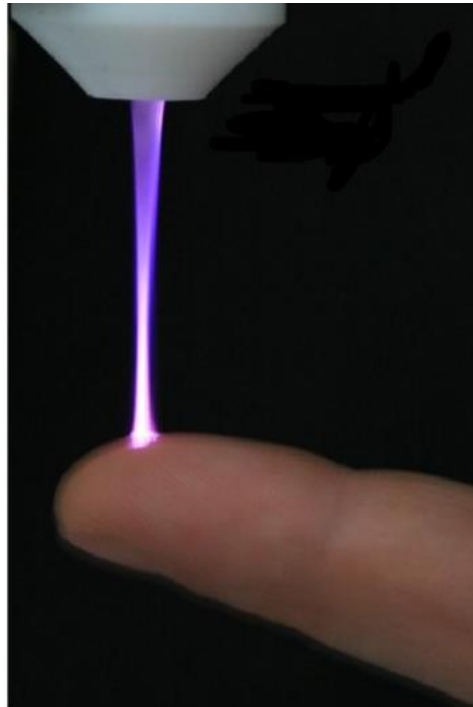
Dielektrický bariérový výboj (DBD) vzniká medzi dvomi elektródami napájanými striedavým napätím. Medzi elektródami sa nachádza dielektrikum, ktoré obmedzuje veľkosť elektrického prúdu prechádzajúceho medzi elektródovým priestorom, a tým pádom sa ionizovaný plyn príliš neohrieva [20]. Dielektrický bariérový výboj sa plazmochemickými reakciami a hustotou nabitých častíc podobá korónovému výboju. Avšak na rozdiel od malej aktívnej oblasti korónového výboja sa dielektrický bariérový výboj dá aplikovať na väčších plochách, vďaka čomu je častejšie využívaný [15].



Obrázok 7: Schematické znázornenie dielektrického bariérového výboja (1) a dielektrický bariérový výboj v praxi (2) [21]

Plazmová tryska sa skladá z dvoch proti sebe postavených elektród, medzi ktorými vzniká elektrický výboj podobný dielektrickému bariérovému výboju. Prúdiaci plyn tu však strháva

častice plazmy do priestoru, čo vytvára dojem plameňa [15]. Svoje využitie nachádza predovšetkým v medicínskych aplikáciách, kde sa používa pri liečení kožných chorôb [22].



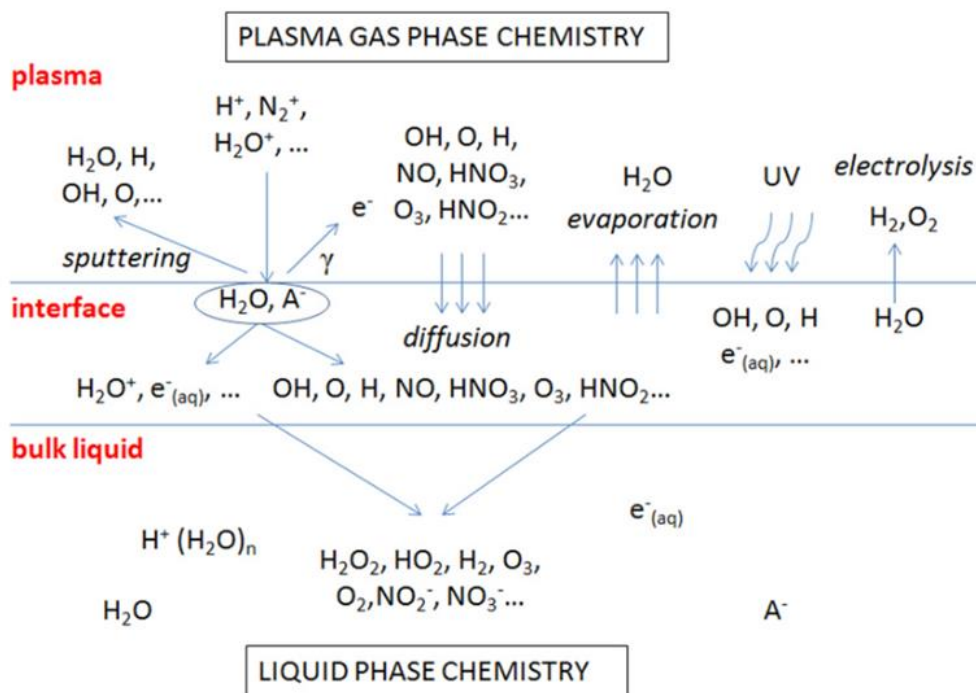
Obrázok 3: Plazmová tryska [22]

2.4 Plazmou aktivovaná voda

Plazmou aktivovaná voda (PAW) sa generuje plazmovou úpravou vody s plazmovým zdrojom nad alebo pod povrchom vody [23]. Ako plazmový zdroj môže byť použitý korónový výboj, dielektrický bariérový výboj alebo plazmová tryska. Plazmová úprava vody môže prebiehať niekoľkými spôsobmi [16]:

- 1) ošetrením vody plazmou generovanou v plynnej fáze priamo, ošetrená voda je zároveň elektróda alebo je v priamom kontakte s generovanou plazmou,
- 2) ošetrením vody plazmou generovanou priamo vo vode,
- 3) ošetrením vody nepriamo produktami výboja.

Počas generovania PAW sú energetické častice v plazmatickej fáze zachytené v kvapalinách a na rozhraní plyn-kvapalina je zahájená séria reakcií, ktoré vedú k rozpusteniu rôznych primárnych a sekundárnych reaktívnych látok v kvapaline [23]. Tieto reaktívne látky zahŕňajú okrem reaktívnych druhov kyslíka a dusíka (RONS) i druhy s dlhou životnosťou a druhy s krátkou životnosťou, ktoré sú zodpovedné za chemické a biologické účinky PAW. Dlhú životnosť majú dusičnany, dusitany, peroxid vodíka, ozón a krátku životnosť majú hydroxylové radikály, oxid dusnatý, superoxid, peroxytriat a peroxytrity [24,25].



Obrázok 8: Série reakcií prebiehajúcich na rozhraní plyn-kvapalina počas generovania plazmou aktivovanej vody [26]

Plazmou aktivovaná voda sa využíva k dezinfekcii kože, lekárskeho nástrojov, povrchov a taktiež pitnej a úžitkovej vody. Je ekologickejšia v porovnaní s niektorými tradičnými chemickými dezinfekčnými prostriedkami, ktoré v posledných rokoch vyvolávajú obavy o životné prostredie i verejné zdravie [23]. Vyznačuje sa i vynikajúcimi biologickými aktivitami v poľnohospodárskych a biomedicínskych aplikáciách. Pokiaľ ide o poľnohospodárske aplikácie, vďaka svojej biochemickej aktivite sa PAW využíva k zvýšeniu rýchlosti klíčenia semien a následného rastu sadeníc, na deaktiváciu patogénnych organizmov súvisiacich s rastlinami a na liečenie rastlín infikovaných plesňami [24]. V biomedicíne sa PAW uplatňuje pri hojení rán, deaktivácii baktérii, vírusov a pri terapii rakoviny [24].

2.4.1 Vlastnosti plazmou aktivovanej vody

Plazmou aktivovaná voda je charakteristická kyslým pH, ktoré je následkom tvorby reaktívnych častíc a iónov. Rôzne RONS majú acidobázické vlastnosti vďaka tomu, že sú schopné do vodného roztoku uvoľňovať vodíkové ióny. Plazmou upravená voda je okysľovaná absorpciou plazmaticky generovaných NO³⁻ a NO²⁻ a ich následnou produkciou v kvapalnej fáze. Niektorí autori pozorovali znižovanie pH so zvyšujúcim sa časom pôsobenia plazmového zdroja na vodu. Po určitej dobe však pH dosiahne konštantnej hodnoty. Pokles pH a tvorba RONS závisí od zdroja a napájacieho plynu použitého na generovanie plazmy [23]. Najnižšia hodnota pH plazmou aktivovanej vody bola dosiahnutá použitím ozonizovaného vzduchu (2,9±0,1) a vzduchu (3±0,2). Ozonizovaný vzduch je plyn, ktorý vzniká pri priechode vzduchu generátorom ozónu, kedy sa časť kyslíka z veľkého množstva kyslíka prítomného vo vzduchu premieňa na ozón. Kyslé vlastnosti týchto plynov sú dôsledkom vysokoenergetických reakcií prebiehajúcich vo vnútri plazmy. Najvyššiu hodnotu pH plazmou aktivovanej vody je možné dosiahnuť pri použití plynného dusíka [27].

Oxidačne-redukčný potenciál (ORP) patrí medzi ďalšie vlastnosti plazmou aktivovanej vody. ORP určuje schopnosť roztokov oxidovať alebo redukovať látku. PAW sa vyznačuje

pozitívnu hodnotu oxidačne-redukčného potenciálu, vďaka čomu funguje ako oxidačné činidlo [27]. I schopnosť inaktivácie súvisí s oxidačne-redukčným potenciálom. Vysoká hodnota ORP je zodpovedná za zničenie membránovej integrity mikrobov a ovplyvnenie vnútorných a vonkajších bunkových membrán [23]. Najvyššia hodnota ORP bola pozorovaná pri príprave PAW pomocou ozonizovaného vzduchu, vzduchu alebo dusíka [27]. Za oxidačne-redukčný potenciál PAW je zodpovedný peroxid vodíka, pretože sa môže správať ako oxidant aj ako redukčné činidlo. Hodnota ORP závisí na spôsobe a dobe generovania PAW [23].

Vodivosť je miera schopnosti vody viesť elektrický prúd a je závislá na prítomnosti cudzích iónov. Všeobecne sa meria v jednotkách mikrosiemens na centimeter, pričom vodivosť destilovanej vody sa pohybuje medzi 0,5 a 3 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Počas plazmatickej aktivácie vody vznikajú RONS, ktoré sa ľahko rozpúšťajú vo vode, a tým prispievajú k zvýšenej vodivosti PAW. Po 20 minútach aktivácie plazmy pomocou plynného plazmového prúdu Ar/O_2 bola nameraná vodivosť 450 $\mu\text{S}/\text{cm}$ [28]. Pri aktivácii plazmy pomocou plazmovej mikrotrysky po rovnako dlhú dobu, bola nameraná vodivosť 18,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Rozdiely medzi nameranými hodnotami vodivosti boli spôsobené nízkym napätím (0,40-0,42 V) pri použití plazmovej mikrotrysky. Vplyv na vodivosť PAW má i spôsob jej generovania, vyššia vodivosť je pri generovaní priamo vo vode v porovnaní s generovaním nad vodnou hladinou [28].

Peroxid vodíka je jednou z reaktívnych foriem kyslíka (ROS), ktorý má v redoxných signálových dráhach viac funkcií. Z hľadiska medicíny hrá dôležitú úlohu pri fungovaní imunitného systému, v poľnohospodárstve má vplyv na zníženie virulencie patogénov a na pozitívny rast a vývoj rastlín [24]. V PAW je peroxid vodíka zodpovedný za jej antimikrobiálne vlastnosti a spolu so superoxidovým aniónom i za oxidačné vlastnosti. Bolo preukázané, že pri tvorbe peroxidu vodíka v PAW ide hlavne o kombináciu OH radikálov produkovaných z elektricky disociovaných molekúl vody. Počas štúdia produkcie peroxidu vodíka z výboja vo vode sa zistilo, že doba výboja a aplikované napätie lineárne zvyšujú jeho produkciu [28]. Dusitanové a dusičnanové ióny patria medzi reaktívne druhy dusíka (RNS). Sú tvorené ako sekundárne produkty a považujú sa za látky so silnou baktericídou schopnosťou v kyslom prostredí. Najmä NO^{2-} sa pri nízkom pH ľahko protonuje a degraduje na H_2O , NO a NO_2 , ktoré sú pre bunky intenzívne toxické. V modernom poľnohospodárstve hrajú RNS dve hlavné úlohy [24]:

- 1) sú absorbované rastlinnými enzýmami (nitrátreduktáza) ako živina,
- 2) môžu riadiť aspekty metabolizmu a vývoja rastlín ako signálna molekula.

3 EXPERIMENÁLNA ČASŤ

3.1 Použité chemikálie a vybavenie

3.1.1 Použité chemikálie

- Černozem z oblasti Ledce, miestnej časti Bratčíc – zdroj mikroorganizmov
- Tekuté kultivačné médium Nutrient Broth w/ 1 % Peptone (HiMedia)
- Živné médium Agar powder Bacteriological (HiMedia)
- Plazmou aktivovaná voda (PAW)

3.1.2 Použité vybavenie

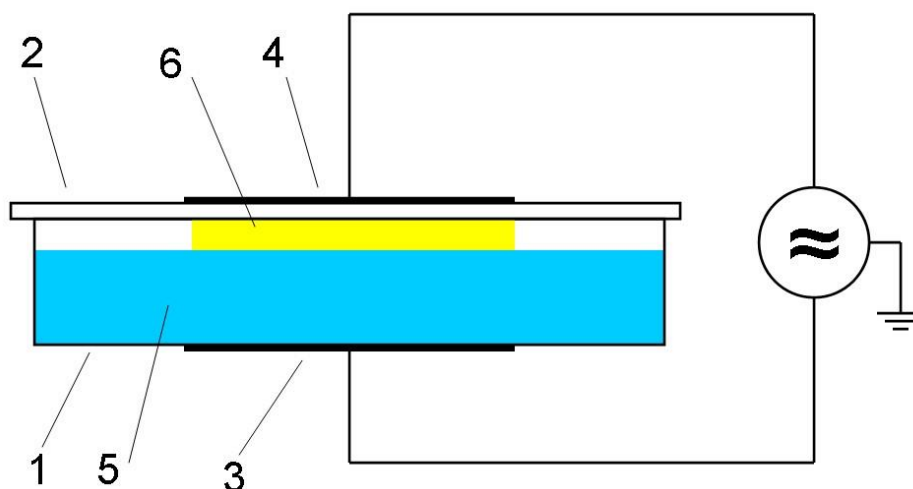
- Analytické váhy (Boeco, Nemecko)
- Predvážky Kern EW 620-3NM (Nemecko)
- Zdroj dielektrického bariérového výboju (DBD)
- Optický mikroskop s fotoaparátom
- Petriho misky s priemerom 50 mm
- Pomôcky pre mikrobiálnu prácu
- Bežné laboratórne sklo

3.2 Príprava PAW

Na prípravu plazmou aktivovanej vody bol použitý zdroj dielektrického bariérového výboja (DBD), kedy výboj horel proti vodnej hladine (viď obrázok 10). V odmernom valci bolo odmeraných 75 ml destilovanej vody, ktoré boli preliate do Petriho misky upevnenej k zdroju DBD. Následne bol na destilovanú vodu aplikovaný výboj v 15 sekundových intervaloch po dobu 2 minút. Postup sme niekoľkokrát opakovali, až do získania dostačujúceho množstva PAW. Získanú PAW z jednotlivých opakovaní sme zmiešali a tým zhomogenizovali, aby na všetky vzorky bola použitá identická PAW.



Obrázok 9: Zdroj dielektrického bariérového výboja



Obrázok 10: Schéma výroby PAW: 1- Petriho miska, 2 – platňa z oxidu hlinitého, 3 – grafitová elektróda, 4- strieborná elektróda, 5 – aktivovaná voda, 6 – plazmová zóna [25]

3.3 Príprava 24 h výluhu

Pred samotnou prípravou výluhu bolo potrebné vysterilizovať reagenčné fľaše. Sterilizácia prebehla pomocou ozónu, ktorý sme aplikovali 1 minútu. Na analytických váhach bola zvážená pôda, ktorú sme nasypali do troch veľkých reagenčných fliaš. Následne bola k pôde pridaná kvapalná zložka podľa tabuľky 1. Vzniknuté suspenzie boli poriadne premiešané a po dobu 24 h nechané lúhovať v tmavej miestnosti pri teplote 25 °C. Na druhý deň boli suspenzie znovu premiešané a ponechané dekantovať. Pre ďalšiu prácu bol použitý číry roztok, ktorý obsahoval uvoľnené mikroorganizmy z pôdy. Na predvážkach bolo do troch menších reagenčných fliašiek odvážených 10 g číreho roztoku, ku ktorým bolo pridaných 100 ml destilovanej vody. Tieto roztoky boli použité pre ďalšiu prácu.

Tabuľka 1: Zloženie suspenzií

Reagenčná fľaša číslo	Hmotnosť pôdy	Objem a typ kvapalnej zložky
1	100,397 g	100 ml destilovanej vody
2	101,081 g	100 ml PAW
3	100,810 g	50 ml destilovanej vody + 50 ml PAW



Obrázok 11: Pripravené roztoky pre ďalšiu mikrobiálnu prácu

3.4 Príprava hodinového výluhu

Bola pripravená suspenzia z 101,99 g pôdy a 100 ml destilovanej vody, ktorá sa lúhovala 1 h v tmavej miestnosti pri teplote 26 °C. Po hodine bola suspenzia premiešaná a nechaná 10 minút dekantovať. Následne bol do troch kadičiek odváženy číry roztok, ku ktorému bola pridaná kvapalná zložka podľa tabuľky 2. Takto pripravené roztoky boli použité pre ďalšiu prácu.

Tabuľka 2: Príprava roztokov z hodinového výluhu

Kadička	Hmotnosť číreho roztoku	Objem a typ kvapalnej zložky
A	10,17 g	100 ml destilovanej vody
B	10,17 g	100 ml PAW
C	10,02 g	50 ml destilovanej vody + 50 ml PAW

3.5 Príprava kultivačného média

Do šiestich Erlenmeyerových baniek bolo pripravené médium na kultiváciu pôdných mikroorganizmov. Podľa návodu bolo na 500 ml destilovanej vody pridané 12,5 g Nutrient Broth w/ 1 % Peptone a 10 g Agar powder Bacteriological. Erlenmeyerové banky sme zazátkovali, zakryli alobalom a jemným krúžením rozpustili pridané zložky. Pripravené médiá boli následne umiestnené do tlakového hrnca, kde pri teplote 120 °C prebehla sterilizácia po dobu 50 minút. Po uplynutí času bolo ešte horúce médium naliate do Petriho misiek a práca ďalej pokračovala až po stuhnutí média.

3.6 Príprava vzoriek

Pri príprave vzoriek sme pracovali v sterilnej miestnosti, ktorá bola vydezinfikovaná pomocou UV žiarenia. Roztoky z 24 h výluhu i 1 h výluhu boli nariedené koncentračne o riad do ependorf skúmaviek. Riedili sme na 1 ml, čo znamenalo 0,1 ml kultúry a 0,9 ml sterilizovanej vody.

3.7 Očkovanie a kultivácia mikroorganizmov

Do Petriho misiek bolo naliatych 10 ml kultivačného média a po zatuhnutí bolo možné uskutočniť očkovanie. Na každú misku bolo použitých 100 μ l pripraveného vzorku. Koncentrácie použité na očkovanie boli 10^{-2} , 10^{-4} a 10^{-6} . Zaočkované boli i nezriedené roztoky, aby sme mali možnosť si overiť, že mikroorganizmy sa v daných vzorkách naozaj nachádzajú vo veľkom počte. Každá vzorka bola zaočkovaná v troch opakovaniach, aby sme znížili vplyv náhodnej chyby. S týmito vzorkami sme ďalej nepracovali. Kultivácia prebiehala v tmavej miestnosti pri teplote 27 °C po dobu 24, 48 a 144 hodín.

4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

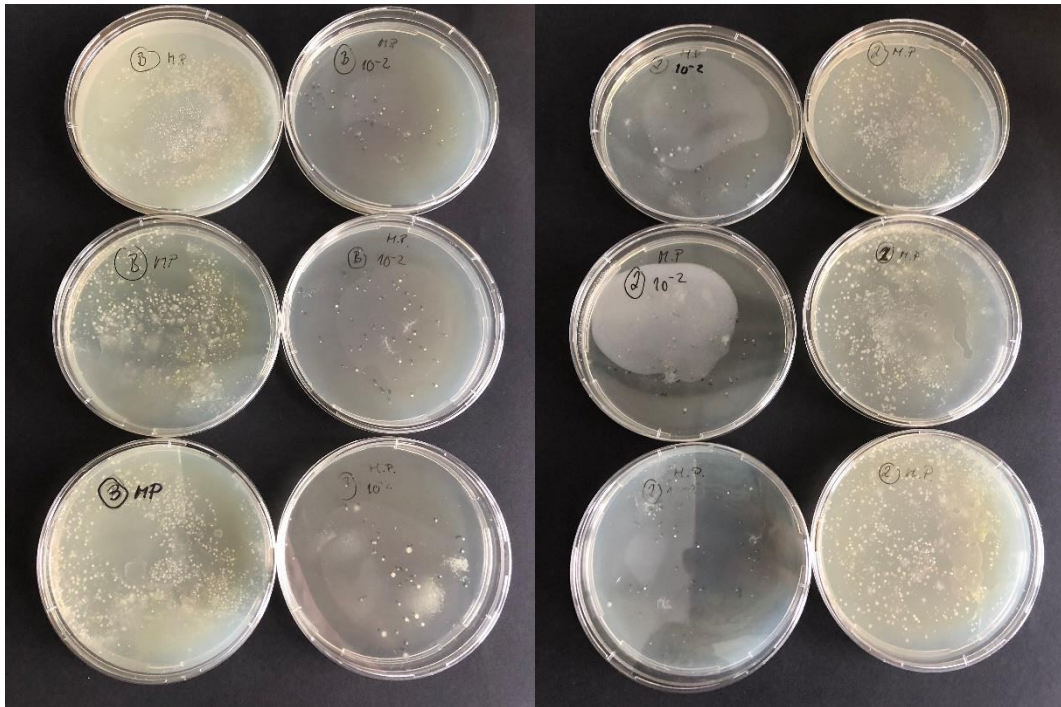
V experimentálnej časti bol pozorovaný vplyv plazmou aktivovanej vody na pôdne mikroorganizmy. Kultivácia mikroorganizmov na Petriho miskách bola sledovaná po dobu 24, 48 a 144 hodín. Bol pozorovaný rast rôznych kolónií a ich následné počítanie bolo uskutočnené pomocou počítačového pera (eCount™ Colony Counter, Heathrow Scientific). Taktiež boli vyhodnocované účinky PAW na pôdne mikroorganizmy. Na záver boli pod mikroskopom identifikované niektoré kolónie.

4.1 Pozorovanie po 24 hodinách

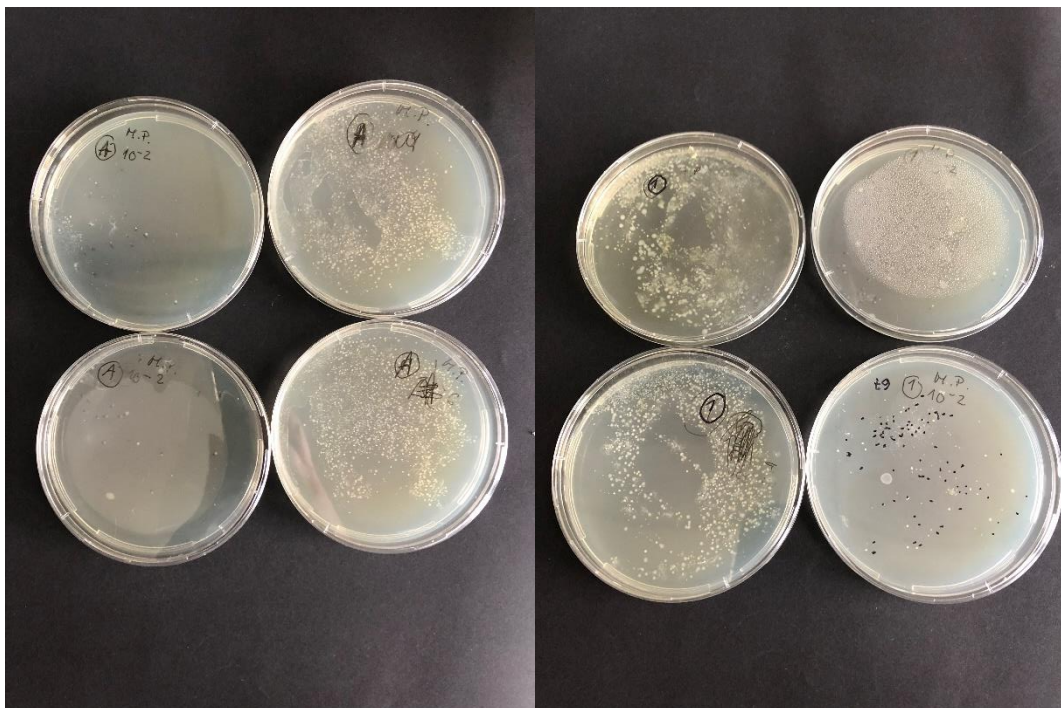
Tabuľka3: Počet kolónií v jednotlivých vzorkách po 24 hodinovej kultivácii

Vzorky	koncentrácia		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
1	67	0	0
	52	0	0
2	58	0	0
	73	0	0
	85	0	0
3	102	0	0
	73	0	0
	85	0	0
A	101	0	0
	57	0	0
B	74	0	0
	89	0	0
	93	0	0
C	65	0	0
	34	0	0

Po 24 hodinovej kultivácii v tmavej miestnosti pri teplote 27 °C bol pozorovaný rast kolónií mikroorganizmov len u koncentrácie 10^{-2} . Zvyšné dve koncentrácie boli príliš zriedenie na to, aby za 24 hodín stihli narásť kolónie. Za tento čas nebolo možné sledovať odlišnosť medzi jednotlivými kolóniami, nakoľko všetky boli malé a sfarbené do biela. Vzorka 1 obsahovala 24 h výluh zmiešaný s destilovanou vodou. U tejto vzorky bolo pozorovaných v priemere 60 narastených kolónií. U vzorky 2, ktorá obsahovala 24 h výluh zmiešaný s PAW, bolo pozorované väčšie množstvo kolónií. Najviac kolónií bolo u vzorky 3, ktorá obsahovala 24 h výluh v kombinácii s destilovanou vodou a PAW. Vzorky A, B a C obsahovali 1 h výluh zmiešaný s kvapalnou zložkou v rovnakom poradí ako je uvedené u vzoriek vyššie. V tomto prípade bolo najviac narastených kolónií mikroorganizmov u vzorky B, ktorá obsahovala PAW. Najmenej kolónií bolo pozorovaných u vzorky C, ktorá obsahovala kombináciu destilovanej vody a PAW. Z výsledkov predpokladáme, že použitie PAW malo priaznivý vplyv na rast väčšieho množstva kolónií. Avšak nebolo identifikované, či kolónie patria patogénnym alebo užitočným baktériám. Ohľad treba brať i na to, že pri očkovaní mohlo byť pipetou namerané rozdielne množstvo mikroorganizmov zo vzorky.



Obrázok 12: Porovnanie vzoriek rozdielnej doby lúhovania pri použití PAW, vľavo vzorka B nezriedená a o koncentrácii 10^{-2} , vpravo vzorka 2 nezriedená a o koncentrácii 10^{-2}



Obrázok 13: Porovnanie vzoriek rozdielnej doby lúhovania pri použití destilovanej vody, vľavo vzorka A o koncentrácii 10^{-2} a nezriedená, vpravo vzorka 1 nezriedená a o koncentrácii 10^{-2}

Na základe porovnania doby lúhovania môžeme povedať, že väčšie množstvo kolónií sa vytvorilo pri vzorkách, ktoré sa lúhovali 24 hodín. Avšak veľký rozdiel medzi týmito hodnotami nebol. Podľa obrázku 12 a obrázku 13 môžeme vidieť, že zaočkované Petriho misky

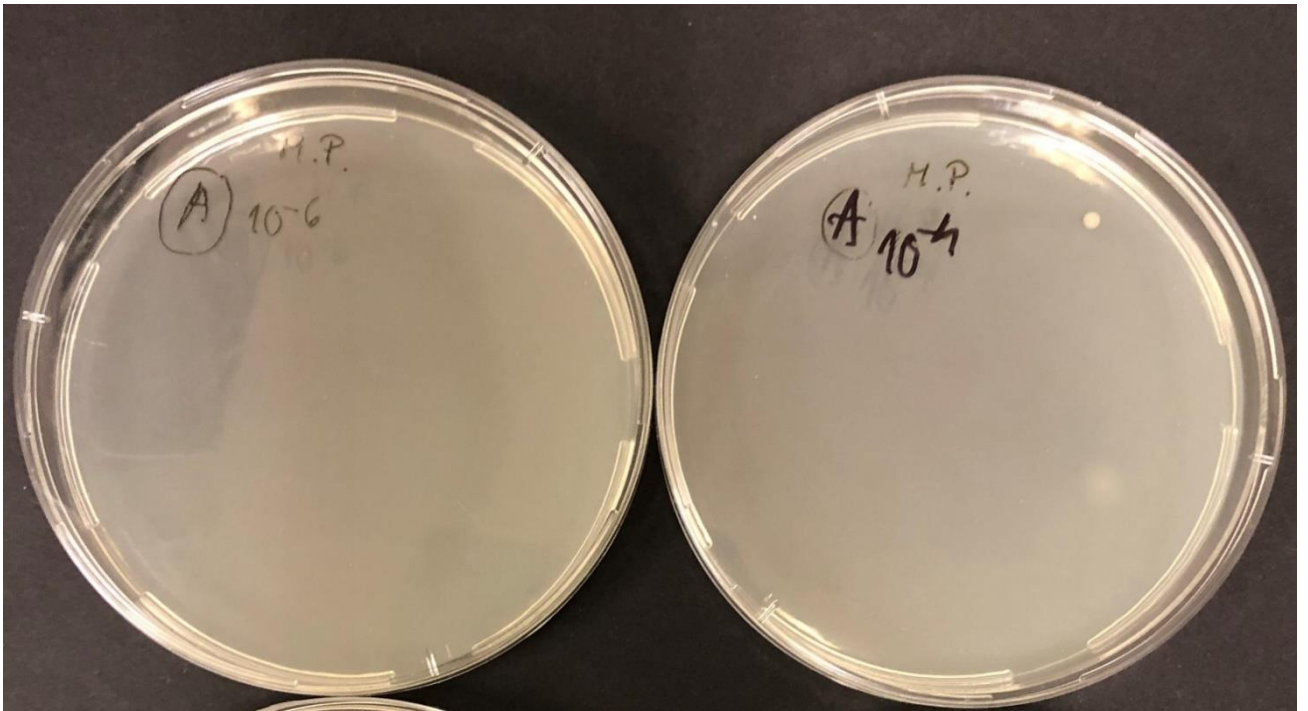
sa od seba veľmi nelíšia. U vzoriek zaočkovaných nezriedenými roztokmi neboli kolónie počítané.

4.2 Pozorovanie po 48 hodinách

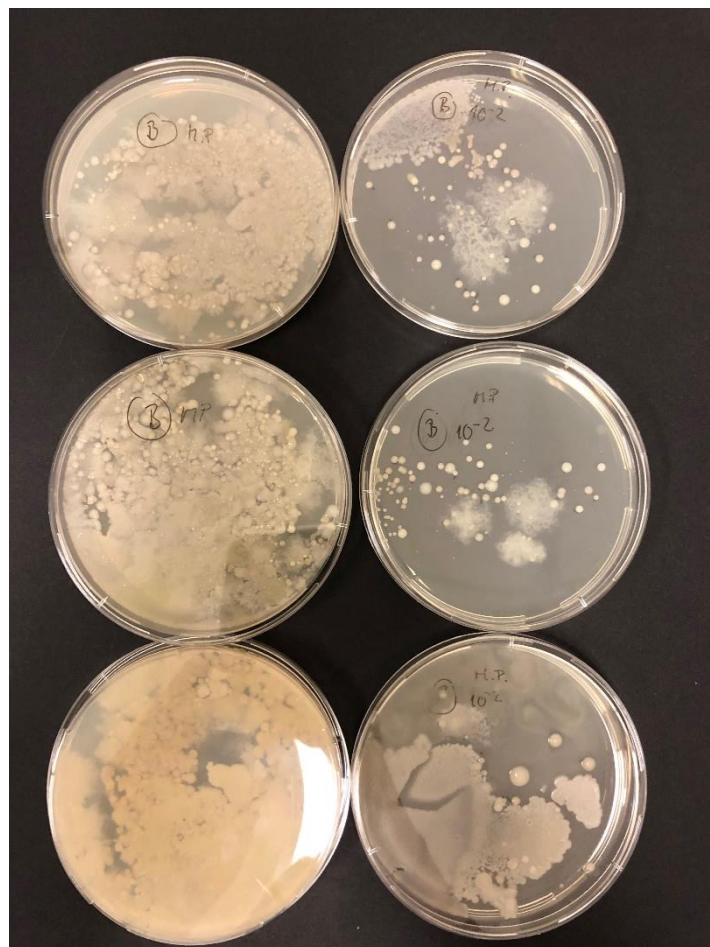
Tabuľka4: Počet kolónii v jednotlivých vzorkách po 48 hodinovej kultivácii

Vzorky	koncentrácia		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
1	256	0	0
	366	0	0
2	410	1	0
	210	1	1
	352	1	0
3	329	1	0
	432	0	0
	232	7	2
A	213	2	0
	210	3	0
B	266	1	1
	345	0	0
	432	0	0
C	279	1	1
	147	2	0

Po 48 hodinovej kultivácii sme pri vzorkách zaočkovaných nezriedenými roztokmi pozorovali prerastenie kultúr. U vzoriek s koncentráciou 10^{-2} sa už predtým vzniknuté kolónie rozšírili. Kolónie sa od seba odlišovali rozličným sfarbením, tvarom a štruktúrou povrchu. U koncentracii 10^{-4} a 10^{-6} začali vznikať kolónie, ktorých bolo menej a nelíšili sa od seba. Najviac kolónii z 24 h výluhu narástlo vo vzorku 3, ktorý obsahoval zmes destilovanej vody a PAW. Najmenej ich z 24 h výluhu bolo pozorovaných vo vzorku 1, ktorý obsahoval destilovanú vodu. Pri 1 h výluhu bolo najviac kolónii vo vzorku B, teda pri použití PAW a najmenej vo vzorku C, kedy bola použitá zmes destilovanej vody a PAW.



Obrázok 14: Porovnanie rastu kolónií vo vzorku A pri koncentrácii 10^{-4} (vpravo) a 10^{-6} (vľavo), kedy sa u 10^{-6} žiadne kolónie ešte nenachádzajú



Obrázok 15: Pozorovanie zmien vo vzorku B po 48 hodinovej kultivácii, vľavo nezriedená vzorka a vpravo vzorka o koncentrácii 10^{-2}

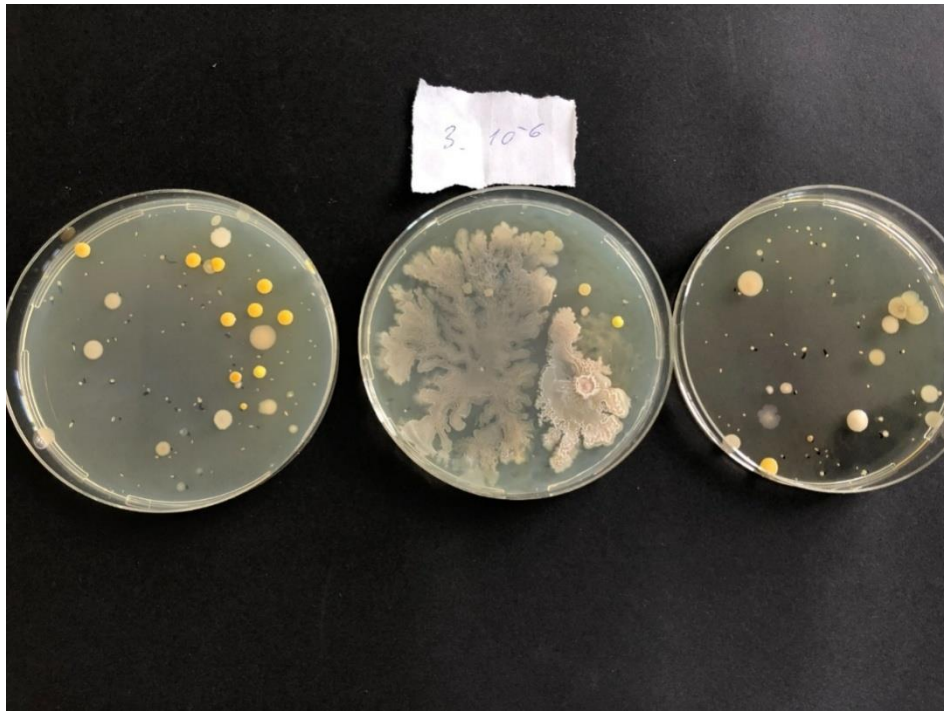
Na obrázku 15 môžeme vidieť, ako sa jednotlivé kolónie rozrástli v porovnaní s obrázkom 12 vľavo. Taktiež pri koncentrácii 10^{-2} pozorujeme rozdiely medzi kolóniami, či už vo farbách alebo v štruktúre povrchu.

4.3 Pozorovanie po 144 hodinách

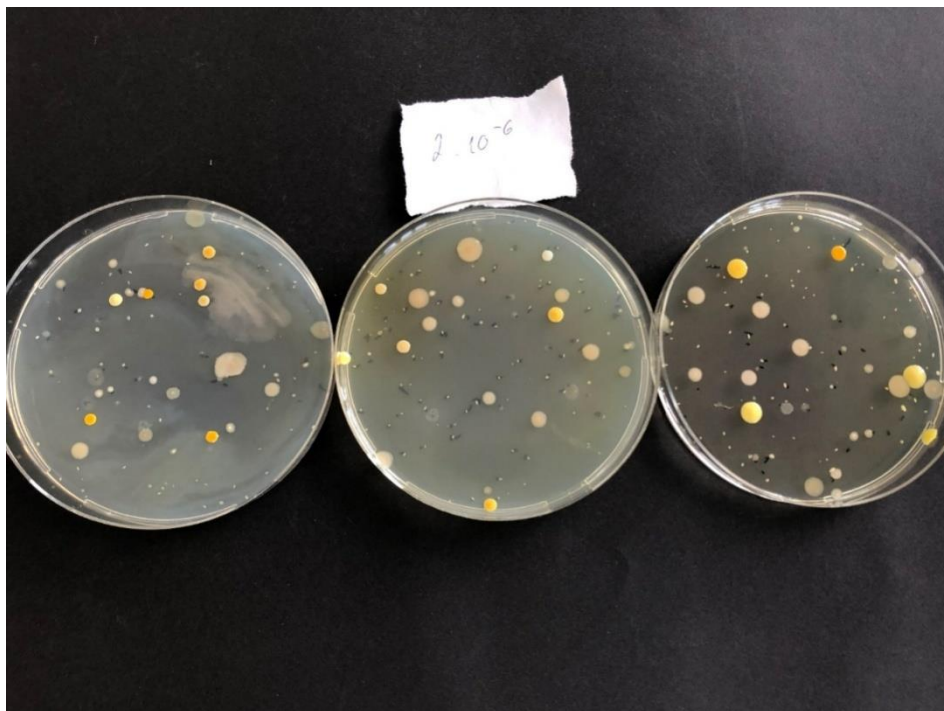
Tabuľka5: Počet kolónií v jednotlivých vzorkách po 144 hodinovej kultivácii

Vzorky	koncentrácia	
	10^{-4}	10^{-6}
1	47	49
	55	36
2	74	46
	80	38
	75	89
3	31	45
	25	96
	45	53
A	56	81
	49	102
B	68	80
	79	84
	58	59
C	30	21
	32	47

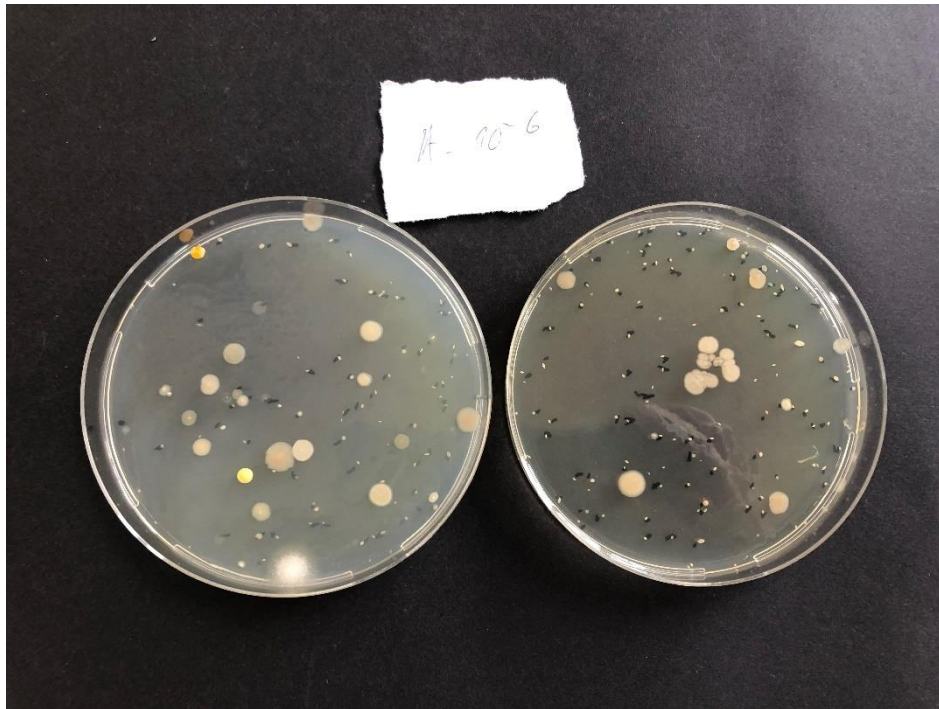
Po 144 hodinách kultivácie boli pozorované kolónie len pri koncentráciách 10^{-4} a 10^{-6} , pretože u koncentrácie 10^{-2} boli kolónie už príliš rozrastené. Rozdiely medzi jednotlivými kolóniami boli v tej chvíli natoľko markantné, že bolo možné istú časť určiť voľným okom. Pri 24 h výluhu sa najviac kolónií nachádzalo vo vzorku 2, ktorý obsahoval PAW. Pri 1 h to bolo vo vzorku B, ktorý takisto obsahoval PAW.



Obrázok 16: Variabilita kolónií vo vzorku 3 o koncentrácii 10^{-6} , ktorý obsahoval 24 h výluh a zmes destilovanej vody a PAW



Obrázok 17: Kolónie vo vzorku 2 o koncentrácii 10^{-6} , ktorý obsahoval 24 h výluh a PAW



Obrázok 18: Kolónie vo vzorku A o koncentrácii 10^{-6} , ktorý obsahoval 1 h výluh a destilovanú vodu

Obrázky vyššie poukazujú na to, že jednotlivé kolónie sa od seba líšili tvarom, farbou, štruktúrou povrchu, ale aj umiestnením v agare. Niektoré kolónie narástli na povrchu kultivačného média, podľa čoho usudzujeme, že dané mikroorganizmy môžu byť aeróbne. Pri kolóniách vyrastených čiastočne v objeme agaru predpokladáme, že pôjde o anaeróbne mikroorganizmy. V okolí niektorých kolónii sme taktiež pozorovali vznik biofilmu, ktorý bol vrásnitého i hladkého charakteru. Na základe porovnania kolónii v jednotlivých vzorkách usudzujeme, že PAW má mykocidné vlastnosti.

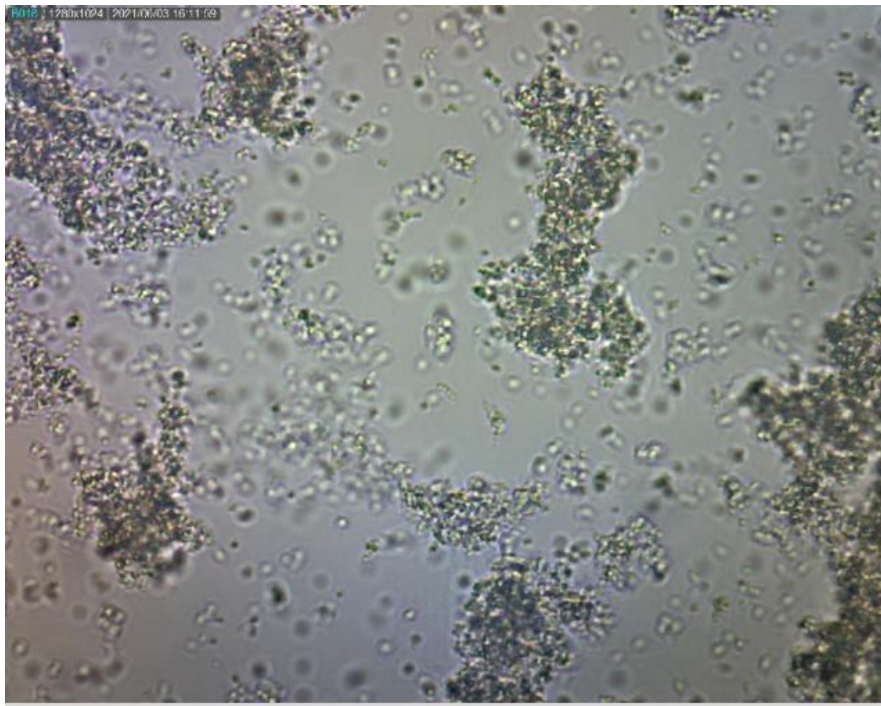
Väčšina kolónii bola bielej farby, čo je typické pre veľké množstvo baktérii. V pôde sa najčastejšie vyskytuje druh *Bacillus subtilis*, ktorý patrí medzi aeróbne, gram-pozitívne baktérie. Môžu byť priamo súčasťou pôdy alebo ich do pôdy vylučujú pôdne organizmy. Vyznačujú sa predovšetkým antifungálnou aktivitou. Biele, jemne vrásnité kolónie vytvára i rod *Streptomyces*, ktorý patrí do triedy *Actinobacteria*. Zástupcovia tejto triedy hrajú v pôde dôležitú rolu najmä pri rozklade organických látok. Patria sem baktérie, ktoré sú gram-pozitívne a aeróbne. Do triedy *Actinobacteria* patrí i druh *Micrococcus luteus*. Ten vytvára hladké, kruhové kolónie sfarbené do žltá, ktoré môžeme pozorovať predovšetkým na obrázku 15. Sú charakteristické zoskupovaním sa do tetradov alebo väčších zhlukov (viď obrázok 19).

Jemno sfarbené ružové kolónie sme predpokladali, že patria rodu *Rhizobium*, ktorý je súčasťou triedy *Rhizobiales*. Patria sem gram-negatívne baktérie, ktoré väčšinou žijú v symbióze s rastlinami. V pôde hrajú významnú rolu kvôli tomu, že fixujú dusík.

Ďalej bol vo vzorkách 3 a A (viď obrázok 16, obrázok 18) pozorovaný výskyt mikroskopických húb (viď obrázok 21, obrázok 22). Aj keď sa môže zdať, že tieto mikroorganizmy sú v pôde nežiadúce, opak je pravdou. Sú ukazovateľom života v pôde. Pomáhajú rastlinám pri sprístupnení a vstrebávaní živín. Pozorovanie pomocou optického mikroskopu poukázalo i na prítomnosť rias vo vzorku 2. Ich výskyt v pôde nie je vôbec neobvyklý. V pôde sú najviac zastúpené riasy z triedy *Chlorophyta*. Prítomnosť rias má priaznivý účinok na pôdu.

4.4 Mikroskopické pozorovanie

Pre bližšie pozorovanie mikroorganizmov bol použitý optický mikroskop s digitálnym fotoaparátom. Pozorované boli len tie kolónie, ktoré nás viac zaujali.



Obrázok 19: Baktérie *Micrococcus luteus* zo vzorku 2, ktorý obsahoval 24 h výluh a PAW



Obrázok 20: Riasy z triedy *Chlorophyta* prítomné vo vzorku 2, ktorý obsahoval 24 h výluh a PAW



Obrázok 21: Mikroskopické huby nachádzajúce sa vo vzorku 3, ktorý obsahoval 24 h výluh a zmes destilovanej vody a PAW



Obrázok 22: Mikroskopické huby nachádzajúce sa vo vzorku C, ktorý obsahoval 1 h výluh a zmes destilovanej vody a PAW

5 ZÁVER

Bakalárska práca bola založená na pilotnom štúdiu vplyvu plazmou aktivovanej vody na životaschopnosť a zloženie pôdnych mikroorganizmov. Samotný experiment priniesol výsledky, ktoré však bude treba v budúcnosti detailnejšie preskúmať vrátane vplyvu na rôzne skupiny mikroorganizmov samostatne. Práca bola založená na použití černozeme z Ledce, miestnej časti Bratčíc. V jednom prípade bola destilovaná voda, plazmou aktivovaná voda alebo zmes destilovanej a plazmou aktivovanej aplikovaná priamo na pôdu. V druhom prípade išlo o aplikáciu toho istého až na výluh z pôdy. Všetky vzorky boli premiešané a ponechané k dekantácii. Následne bolo pracované len čírym roztokom. Roztoky boli nariadené koncentračne o rád a následne boli zaočkované len koncentrácie 10^{-2} , 10^{-4} a 10^{-6} . Takto zaočkované Petriho misky sa kultivovali v tmavej miestnosti po dobu 24, 48 a 144 hodín pri teplote 27 °C. Bol pozorovaný počet narastených kolónií pri jednotlivých koncentráciách a pomocou mikroskopu bolo bližšie určené o aký druh mikroorganizmu sa jedná.

Po 24 hodinách kultivácie boli pozorované kolónie len u koncentrácie 10^{-2} , ktoré sa však od seba nelíšili. Po 48 hodinách kultivácie sa tieto kolónie rozšírili a boli už medzi nimi pozorovateľné rozdiely. Pri nižších koncentráciách sa už začali objavovať kolónie v menšom počte. Po 144 hodinách kultivácie sa objavili kolónie i u koncentrácií 10^{-4} a 10^{-6} . Rozdiely medzi jednotlivými kolóniami boli viditeľné voľným okom, nakoľko medzi odlišnosti patrila farba kolónií a taktiež ich tvar. Pre bližšie pozorovanie o aké mikroorganizmy by mohlo ísť, bol použitý optický mikroskop s digitálnym fotoaparátom. Väčšina kolónií bola bielej farby a na základe vedomosti, ktoré mikroorganizmy sa nachádzajú najčastejšie v pôde, sme prišli k záveru, že by mohlo ísť o *Bacillus subtilis*. Významnú úlohu v pôde majú baktérie triedy *Actinobacteria*, medzi ktoré patrí rod *Streptomyces* vytvárajúci biele vrásnité kolónie. Do tejto triedy patrí i druh *Micrococcus luteus* vytvárajúci do žltá sfarbené kolónie. Medzi ďalšie významné triedy pôdnych mikroorganizmov patrí *Rhizobiales*, kedy rod *Rhizobium* vytvára jemno ružovo sfarbené kolónie. Potvrdili sme i prítomnosť mikroskopických húb, tie sa však nenachádzali vo vzorkách obsahujúcich len plazmou aktivovanú vodu.

Na základe experimentálnej práce môžeme povedať, že plazmou aktivovaná voda mala pozitívny vplyv na rast kolónií pôdnych mikroorganizmov. Avšak nie sme schopní určiť či sa jedná o kolónie patogénnych alebo pre pôdu prospešných mikroorganizmov. Taktiež boli pozorované mykocidné vlastnosti plazmou aktivovanej vody.

6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] Pôda a jej vlastnosti. *Zahradnictvocaklov.sk* [online]. [cit. 2021-03-22] Dostupné z: <http://www.zahradnictvocaklov.sk/ovo/poda-a-jej-vlastnosti.html>
- [2] ŠIMEK, Miloslav, Dana ELHOTTOVÁ a Václav PIŽL. *Živá půda*. 1. Praha 5: Středisko společných činností AV ČR, 2015. ISBN 9788020025678.
- [3] Ministerstvo životního prostředí: Definice půdy. *Mzp.cz* [online]. Praha: © 2020 [cit. 2021-03-22]. Dostupné z: [https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/definice_pudy/\\$FILE/OOHPP-Definice_pudy-20080820.pdf](https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/definice_pudy/$FILE/OOHPP-Definice_pudy-20080820.pdf)
- [4] ŠIMEK, Miroslav. *Půda: Neživé složky půdy* [online]. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Biologická fakulta, 2003 [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: http://ldf.mendelu.cz/ugp/wp-content/ugp-files/attachment/simek_m_2003_zaklady_nauky_o_pude_i_nezive_slozky_pudy.pdf
- [5] Kurz monitoringu zložiek životného prostredia: Pôda. *Moodle.uniag.sk* [online]. Nitra: © 2021 [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: <https://moodle.uniag.sk/mod/book/view.php?id=15459&chapterid=5258>
- [6] KŘEPELKA, Jiří. Půdní reakce, faktor půdní úrodnosti. *Zemedelec.cz* [online]. Profi Press s. r. o., © 2013 [cit. 2021-04-16]. Dostupné z: <https://www.zemedelec.cz/pudni-reakce-faktor-pudni-urodnosti/>
- [7] Stredná odborná škola polytechnická. *Polytechnika.sk* [online]. Liptovský Mikuláš: © 2009 [cit. 2021-04-16]. Dostupné z: <http://www.polytechnika.sk/admin/files/890.pdf>
- [8] RICHTER, Rostislav. Půdní reakce. *Mendelu.cz* [online]. Brno: Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně, © 2004 [cit. 2021-04-24]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/agrochemie_pudy/pudni_reakce.htm
- [9] RICHTER, Rostislav. Sorpční schopnost půdy. *Mendelu.cz* [online]. Brno: Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně, © 2004 [cit. 2021-04-24]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/agrochemie_pudy/sorpce.htm
- [10] IVANOV, Martin. Půdní znaky a vlastnosti půd In: *Muni.cz* [online]. Fakulta informatiky MU, 2006 [cit. 2021-04-24]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2006/G8141/um/Pudni_znaky_vlast_pud.pdf [online],
- [11] ŠANTRŮČKOVÁ, Hana. *Základy ekologie půdy*. 1.vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2014. I SBN: 978-80-7394-480-3.
- [12] PAVLŮ, Lenka. *Základy pedologie a ochrany půdy*. 1.vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2018, 76 s. ISBN 978-80-213-2876-1.
- [13] KRSEK, Martin. *Metody studia diverzity půdních mikrobiálních společenstev*. 1.vyd. Brno: Masarykova univerzita, přírodovědecká fakulta, ústav experimentální biologie, 2014, 68 s. ISBN: 978-80-210-7673-0.

- [14] SPRING Stefan. Epifluorescent picture of the methanogen archaeon *Methanosarcina barkeri*. In: *dsmz.de* [online]. September 2012 [cit. 2021-04-29]. Dostupné z: <https://www.dsmz.de/archive/home/press/media-center/picture-of-the-week>
- [15] SCHOLTZ, Vladimír. Nízkoteplotná plazma I: Čo je to plazma? *Aldebaran bulletin* [online]. 2012, ročník 10, č.22 [cit. 2021-04-29]. ISSN 1214-1674. Dostupné z: https://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_22_pla.php [online],
- [16] DVOŘÁKOVÁ, Veronika. *Změny biocidních vlastností suspenze nanodiamantů po ošetření plazmatem*. Praha, 2017, 72 s. Diplomová práce. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta elektrotechnická, Katedra teorie obvodů. Vedúci práce Vladyslava Čeledová
- [17] MARTIŠOVIŠ, Viktor. *Základy fyziky plazmy: Učebný text pre 3. ročník magisterského štúdia*. Bratislava: Univerzita Komenského, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, 2004. ISBN 80-223-1983-X.
- [18] GOLDSTON, R. J. a P. H. RUTHERFORD. *Introduction to plasma physics* [online]. Philadelphia: Institute of Physics Publishing, 1995 [cit. 2021-05-01]. ISBN 075030183X. Dostupné z: http://www.astrosen.unam.mx/~aceves/verano/libros/goldstone_plasma.pdf
- [19] Jiskry a výboje. In: *zajfyz.physics.muni.cz* [online]. 2009 [cit. 2021-05-01]. Dostupné z: <http://zajfyz.physics.muni.cz/index.php?web=jiskry2009>
- [20] Obloukový výboj. In: *Fyzika.fs.cvut.cz* [online]. September 17, 2012 [cit. 2021-05-05]. Dostupné z: http://fyzika.fs.cvut.cz/subjects/pm/lectures/pm_prednaska9.pdf
- [21] LAROUSSE, Mounir. Figure 2: Schematic and a photograph of an atmospheric pressure diffuse plasma generated by a dielectric barrier discharge. In: *mdpi.com* [online]. 2018 [cit. 2021-06-09]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2571-6182/1/1/5/htm>
- [22] TOPALA, Lonut. Figure 1: The experimental arrangement scheme of the plasma jet source and the photography of a human finger under direct atmospheric pressure plasma jet. In: *researchgate.net* [online]. 2018 [cit. 2021-06-09]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/230649364_Stimulation_of_wound_healing_by_helium_atmospheric_pressure_plasma_treatment/figures
- [23] ZHAO, Yi-Ming, Apurva PATANGE, Da-Wen SUN, Brijesh TIWARI. Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry. *Comprehensive reviews in food science and food safety* [online]. 2020, roč. 6, č. 19, [cit. 2021-06-09]. DOI: 10.1111/1541-4337.12644. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.12644>
- [24] ZHOU, Renwu, Rusen ZHOU, Peiyu WANG, Y. XIAN, Anne MAI-PROCHNOW, Xinpei LU, P.J. CULLEN, Kostya OSTRIKOV a Kateryna BAZAKA. Plasma activated water (PAW): generation, origin of reactive species and biological applications. *Journal of Physics D: Applied Physics* [online]. 2020 [cit. 2021-06-13]. DOI: 10.1088/1361-6463/ab81cf. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/340068059_Plasma_activated_water_PAW_generation_origin_of_reactive_species_and_biological_applications

- [25] ŠIMEČKOVÁ Jana, František KRČMA, Daniel KLOFÁČ, Lukáš DOSTÁL a Zdenka KOZÁKOVÁ. Influence of Plasma-Activated Water on Physical and Physical–Chemical Soil Properties. *Water* [online]. 2020, roč.12, č. 9 [cit. 2021-06-13] DOI:10.3390/w12092357. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/9/2357/htm>
- [26] BRUGGEMAN, P. J., M. J. KUSHNERB, R. LOCKE, J. G. E. GARDENIERS, W. G. GRAHAM, D. B. GRAVES, R. C. H. M. HOFMAN-CARIS, D. MARIC, J. Reid, E. CERIANI, D. FERNANDEZ RIVAS, J. E. FOSTER, S. C. GARRICK, Y. GORBANEV, S. HAMAGUCHI, F. IZA, H. JABLONOWSKI, E. KLIMOVA, J. KOLB, ... a G. ZVEREVA. Figure 1: Schematic diagram of some of the most important species and mechanisms for an argon/humid. In: *osti.gov* [online]. 2016 [cit. 2021-06-16]. DOI: 10.1088/0963-0252/25/5/053002. Dostupné z: <https://www.osti.gov/pages/servlets/purl/1787626>
- [27] RATHORE, Vikas, Divyesh PATEL, Shital BUTANI a Sudhir Kumar NEMA. Investigation of Physicochemical Properties of Plasma Activated Water and its Bactericidal Efficacy. *Plasma Chem Plasma Process* [online]. 2021, č. 4 [cit. 2021-06-17]. DOI: 10.1007/s11090-021-10161-y. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11090-021-10161-y>
- [28] THIRUMDAS, Rohit, Anjinelyulu KOTHAKOTA, Uday ANNAPURE, Kaliramesh SILIVERU, Renald BLUNDELL, Ruben GATTF a Vasil P. VALDRAMIDIS P.Valdramidis. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2018, č. 77, 31 s. [cit. 2021-06-17]. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.05.007. Dostupné z: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0924224417305873?token=585E395082B41A20DBA225963E48AAF6D8EDF72DFE95AEEAB68FBFB0BADADBA37200F81217AE143D112CDAA1AD25828>