

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra genetiky a zemědělských biotechnologií

Bakalářská práce

Mikrobiální kontaminanty raw potravin a obilných produktů

Autorka práce: Kristýna Venglovičová

Vedoucí práce: Ing. Eva Jozová, Ph.D.

Konzultant práce: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

České Budějovice

2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne

Podpis

Abstrakt

Plazma je v posledních letech významně používána díky svému letálnímu účinku na mikroorganismy. Potraviny takto ošetřené nejsou pro člověka rizikem z hlediska obsahu chemických látek.

Literární rešerše je zaměřená na raw potraviny, popis patogenních mikroorganismů často se vyskytujících na semenech a způsoby likvidace proveditelné v souladu s pravidly raw stravy.

Cílem této bakalářské práce bylo vyhodnocení vlivu nízkoteplotního plazmatu na semena. Skupiny semen byly vystaveny plazmě po dobu 4, 5, 6, 7 a 8 minut.

Plazmou, která vznikla ve vakuové komoře byla ošetřena semena fazolí mungo, brokolice, řeřichy, ředkvičky a ječmene mladého. V první řadě se hodnotil inhibiční vliv plazmového ošetření na mikroorganismy vyskytující se na semenech. Dále byl sledován dopad na růst klíčků a kořínků. Nepodařilo se prokázat inhibiční účinek plazmy na mikroorganismy vyskytující se na semenech. Ošetřená semena ve srovnání s kontrolní neošetřenou skupinou byla kontaminována podobným množstvím mikroorganismů. Vliv na vývoj semene byl u každého druhu jiný.

Klíčová slova: Nízkoteplotní plazma, raw strava, semena, patogenní mikroorganismy, klíčení.

Abstract

Plasma has been increasingly used in recent years due to its lethal effect on microorganisms. Foods treated in this way are not a risk to humans in terms of chemical substance.

The literature search is focused on raw foods. Description of pathogenic microorganisms frequently occurring on seeds and methods of disposal feasible in accordance with the rules of the raw diet.

The aim of this bachelor thesis was to evaluate the effect of low-temperature plasma on seeds. Seed groups were exposed to plasma for 4, 5, 6, 7 and 8 minutes.

Seeds of mung beans, broccoli, watercress, radish and barley were treated with the plasma generated in the vacuum chamber. First of all was evaluated the inhibitory effect of plasma treatment on microorganisms occurring on seeds. Furthermore was monitored the impact on the growth of sprouts and roots. Could not be demonstrated the inhibitory effect of plasma on microorganisms present on seeds. The treated seeds compared to the untreated control group were contaminated with a similar amount of microorganisms. The effect on seed development was different for each species.

Keywords: Low-temperature plasma, raw food, seeds, pathogenic microorganisms, germination.

Poděkování

Ráda bych tímto způsobem poděkovala Ing. Evě Jozové, Ph.D. za cenné rady, připomínky, odborné vedení, čas a trpělivost při psaní této bakalářské práce. Zároveň bych chtěla poděkovat i své rodině, která mě podporuje a vidí ve mně to nejlepší.

Obsah

ÚVOD	7
1. LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
1.1 Raw food – Živá strava	8
1.2 Klíčky a výhonky	8
1.3 Skladování semen.....	9
1.4 Choroby rostlin	9
1.4.1 Významní patogeni u obilnin	10
1.4.2 Bakterie	15
1.5 Ochrana rostlin	16
1.5.1 Prevence	16
1.5.2 Metody přímé ochrany	17
1.6 Plazma	18
1.6.1 Nízkoteplotní plazma	18
1.6.2 Dielektrický bariérový výboj	19
1.6.3 Koronový výboj	20
1.6.4 Atmosférická plazma	20
1.6.5 Vakuový systém.....	22
2. Metodika práce.....	24
2.1 Semena	24
2.1.1 Fazole mungo	24
2.1.2 Brokolice	24
2.1.3 Řeřicha	24
2.1.4 Ředkvička.....	24
2.1.5 Ječmen mladý.....	25
2.2 Plazmové ošetření semen	25
2.3 Zjišťování celkového počtu mikroorganismů	25
2.4 Klíčení	26
3. Výsledky	27
3.1 Vyhodnocení zdravotního stavu.....	27
3.1.1 Fazole mungo	27
3.1.2 Brokolice	29
3.1.3 Řeřicha	31
3.1.4 Ředkvička.....	33
3.1.5 Ječmen mladý.....	35

3.2 Vyhodnocení růstu	37
3.2.1 Fazole mungo	37
3.2.2 Brokolice	40
3.2.3 Řeřicha	42
3.2.4 Ředkvička.....	45
3.2.5 Ječmen mladý.....	47
4. Diskuse.....	50
Závěr	53
Seznam použité literatury.....	54
Seznam obrázků	56
Seznam tabulek	57
Seznam grafů.....	58

ÚVOD

Tématem této práce jsou mikrobiální kontaminanty raw potravin a obilných produktů. V obsahu literární rešerše je zahrnuto stručné vysvětlení principů raw stravy. Dále je zařazen popis domácího klíčení semen určených ke konzumaci formou klíčků nebo výhonků, z důvodu sledování vývoje semen zahrnutého v této práci. Část práce je věnována vhodným podmínkám skladování semen. Při nedodržení skladovacích podmínek může dojít ke kontaminaci semen mikroorganismy. Popisem mikroorganismů napadající rostlinu a ohrožující lidské zdraví kontaminací semen se zabývá další podkapitola. Dále výčet možností ochrany rostlin před mikroorganismy. První důležitou částí jsou preventivní metody ochrany, mezi které patří i již zmíněné správné skladovací podmínky. Poté popis přímých metod omezujících výskyt mikroorganismů v potravě.

S rozšiřujícím zájmem o raw potraviny se zvyšuje potřeba hledání nechemických přímých metod, které jsou letální pro mikroorganismy. Nelze použít vysoké teploty, jelikož raw strava nesmí být ošetřena více než 45 °C. Ze zbylých metod se tato práce především zaměřuje na fyzikální ošetření konkrétně na plazmu. Využití plazmy k likvidaci mikroorganismů je předmětem studií v několika posledních letech. Účinnost plazmového ošetření komplikuje různá povrchová struktura semen a neschopnost plazmy proniknout dovnitř semen. Usmrcení všech mikroorganismů je důležité především kvůli patogenním mikroorganismům, které se mohou na semeni vyskytovat. Pokud se dostanou do lidské stravy, mohou způsobit řadu onemocnění vedoucí až k úmrtí. V této práci je podrobný popis nízkoteplotní plazmy z důvodu použitelnosti na raw potraviny. Dále jsou vysvětleny principy koronového a dielektrického bariérového výboje, atmosférické plazmy a vakuového systému, uvedeny příklady vlivu plazmy z dostupných studií na klíčivost semen a popsána účinnost inhibice mikroorganismů vyskytujících se na semenech.

V metodické části je stručný popis významu semen fazolí mungo, brokolice, řeřichy, ředkvičky a ječmene mladého z pohledu lidské výživy. Zvoleným typem ošetření semen plazmou byl vakuový systém. V porovnání s kontrolní neošetřenou skupinou semen byl sledován vliv plazmového ošetření v časech 4, 5, 6, 7 a 8 minut na celkový počet mikroorganismů vyskytujících se na semenech. Následně byl pozorován účinek ošetření na schopnost vývoje semen do dvanáctého dne.

Popis dosažených výsledků je doplněn přehlednými tabulkami a vloženými fotografiemi. Tyto fotografie byly pořízeny při provádění laboratorní části práce. Navazující kapitola se zabývá diskusí.

Dle mého názoru má raw strava budoucnost, a proto jsem se zaměřila na metodu, která by mohla zlepšit zdravotní nezávadnost těchto potravin. Z nutričního hlediska je tato strava velmi vhodná pro lidskou výživu. Cílem této práce je zjistit vliv nízkoteplotního plazmatu na již zmíněná semena.

1. LITERÁRNÍ PŘEHLED

1.1 Raw food – Živá strava

Lidé, kteří se stravují živou stravou jsou označováni za vitariány. Vitariánství je založeno na tepelně neupravené rostlinné stravě. Což znamená především syrovou zeleninu a ovoce, které může být i sušené. Různé druhy oříšků, semínka, saláty a naklíčená semena. Přípravované pokrmy z těchto surovin nesmí být zahřáty nad 45 °C. Důvodem této hraniční teploty je, že při vyšším zahřívání dochází k ničení enzymů obsažených v potravě. Dále jsou také ovlivněny minerály a znehodnoceny vitamíny. Sacharidy, tuky a bílkoviny při tepelné úpravě mění svojí molekulární strukturu. Na zpracování tepelně upravené potravy musí lidské tělo spotřebovat daleko více vlastních enzymů a energie. Navíc se v těle může začít ukládat do tukových zásob více toxických látek. Z těchto důvodů je větší pravděpodobnost nadváhy až obezity. Zároveň mohou vzniknout různé zdravotní problémy, možné je i předčasné stárnutí buněk (Talandová, 2009).

Nevýhodou vitariánství je možný nedostatek bílkovin, železa, vápníku, vitamínu D a n-3 mastných kyselin. Tím může být způsobena anemie či osteoporóza. Vysokým obsahem vlákniny může být ovlivněna funkce střev (vstřebávání živin, nadýmání, průjem). Také může chybět HDL cholesterol, který plní ochrannou funkci. Jeho zdrojem jsou omega 3 mastné kyseliny, nejvíce obsažené v rybách a mořských plodech (Tláskal et al., 2016).

1.2 Klíčky a výhonky

Produkce semen je hlavním cílem rostlin, do kterého je vloženo nejvíce energie. Každé semeno má vysoký obsah zásobních látek důležitých k vyklíčení a růstu nové rostliny.

Klíčení začíná za příznivých podmínek, kdy má semeno dostatek vody, vzduchu a vhodnou teplotu prostředí. Rozklad živin nastává pomocí enzymů, které se pomalu vytváří. Polysacharidy se začnou štěpit na jednoduché cukry, proteiny na jednotlivé aminokyseliny a tuky na mastné kyseliny. Klíčením se zvyšuje obsah vitamínů v semeni, především vitamínu C. Z vody, kterou zaléváme, vstřebávají klíčky minerální a stopové prvky, které se váží na aminokyseliny obsažené v klíčku.

Výběr semen vhodných pro naklíčování je možný dle barvy semen. Například pokud nejsou semena fazole mungo opravdu zelená ale jen trochu nazelenalá nebo dokonce růžová pak nejsou zralá. Semena by měla mít stejný tvar, nepoškozená a bez znečištění většími částicemi. Je potřeba vybírat osvědčená semena určená pro lidskou výživu. V domácích podmínkách se skladují v uzavřených nádobách, aby nedošlo k napadení hmyzem. Semena se po kontrole a vyčištění předmáčí. Je potřeba dodržovat hygienické zásady. Délka předmáčení se liší dle druhu semene. Klíčící semena se pravidelně proplachují. Musejí zůstat ve vlhku, ale nesmí docházet k přímému styku s vodou. Je potřeba zajistit dostatečný přísun kyslíku. Většina druhů semen se před klíčením nechává nabobtnat. Promývání klíčků také slouží k ředění

mikroorganismů, které by se mohly začít na klíčícím semeni množit. Po vyklíčení skladovat v ledničce a po 12 hodinách propírat ve vodě, dokud je nespotřebujeme.

Klíčky a výhonky jsou snadno stravitelné a zároveň mají vysoký obsah vitamínů, minerálních látek a vlákniny. Nejbohatším zdrojem bílkovin z naklíčených rostlin je čočka. Čočka před naklíčením neobsahuje téměř žádný vitamín C, ale po naklíčení je jedním z nejbohatších zdrojů. Fazole mungo jsou významným zdrojem proteinů, především methioninu, také vitamínu C, železa a draslíku (Wigmore, 2007; Jablonský, 2005).

1.3 Skladování semen

Ve všech krocích včetně sklizně je důležité zamezit mechanickému poškození semen. Předčištění se provádí hned po sklizni, pokud jsou semena kontaminována větším množstvím příměsí. Z velkého množství prachu, kamínků či rostlinných úlomků by mohlo dojít k zapaření, ztrátě klíčivosti a vitality semen.

Působením mikroorganismů dochází k fyzikálním a chemickým změnám. Ke kontaminaci semen často dochází během sklizně. Proto je důležité dostatečné vysušení zrna, kdy se omezí enzymatické a chemické reakce. Někdy i po sklizni semeno stále dozrává a je tedy nutné teplotu snižovat postupně. Olejnatá semena obsahují nejméně vody, proto je jejich dosoušení nejrychlejší. Hodně vody se nachází v semenech bohatých na protein ale nejvíce ve škrobnatých. Dále platí, že velká semena vysychají pomaleji než malá. Například u pšenice skladované při 0 °C stačí 14 % vlhkost semen. Pokud je teplota vyšší musí se snížit vlhkost, a naopak při vyšší vlhkosti je nutné chlazení nebo zaplynování. Dále je možné semena vyčistit pomocí sít nebo vzduchem. Síta jsou seřazena podle velikosti ok od největší po nejmenší. Větší částice zůstávají na horních sítích, semena se zastaví na sítu, které svojí velikostí ok neumožní jejich další propadnutí. Drobnější znečištění propadne a tím dochází k oddělení semen od nečistot. Při čištění vzduchem dochází k využití rozdílných měrných hmotností částic.

Vlivem nevhodných skladištních podmínek dochází k rozvoji houbových patogenů. Mezi významné skladištní houbové patogeny patří rod *Aspergillus*, *Penicillium* a *Mucor*, jejich vývoj probíhá už při 14-15 % vlhkosti (Chloupek, 2008; Chloupek et al., 2005).

1.4 Choroby rostlin

Monoetiologické choroby jsou způsobeny jedním faktorem. Patří mezi ně anomálie způsobené poruchou funkce genů. Dále bionózy, které jsou způsobeny viry, viroidy, fytoplazmou, bakteriálními a houbovými patogeny. Abionózy vznikající působením chemických či fyzikálních faktorů. Choroby polyetiologické vznikají díky interakcím několika působících faktorů.

Aby mohla choroba propuknout, je potřeba virulentní patogen a náchylný hostitel. Nezbytné i vhodné podmínky prostředí, mezi které patří teplota, vlhkost a případně proudění vzduchu sloužící k přenosu patogenu. Důležitou roli hraje i čas.

Podle počtu hostitelů můžeme patogeny rozdělit na polyfágní, oligofágní a monofágní. Polyfágní mají široký okruh hostitelů, který mohou napadat. Užší okruh, většinou v rámci jedné čeledi je specifický pro oligofágní patogeny. Poslední monofágní patogeni napadají pouze jeden druh nebo více rostlin v rámci rodu (Šarapatka, 2010).

Infekční cyklus

Šíří se pomocí buněk či spór, těmto částicím se říká disperzní jednotka. Při styku s rostlinou se stává infekční jednotkou. Tím začíná infekční cyklus, kdy dochází k tvorbě dalších generací disperzních jednotek a ty opět infikují rostlinu. Pokud dochází k jednomu cyklu za vegetaci, jedná se o cyklus monocyklický. Při polycyklické infekci dochází během vegetace k několika cyklům. Déle trvajícím infekčním cyklem je polyetický cyklus, který je ukončen až po několika letech.

Většina patogenů potřebuje ke svému přežití živého hostitele, patří mezi ně rody *Exobasidium*, *Taphrina* a čeleď *Peronosporales*. Zatímco rody *Fusarium*, *Aspergillus* a *Penicillium* jsou schopny přežívat v půdě. Jako hostitele můžou využívat vytrvalé a přezimující plevle, rostlinné zbytky či semena nebo hlízy.

Šíření u některých patogenů probíhá aktivním vyhledáváním hostitele pomocí bičíků nebo mycelia. Pasivní samovolné šíření probíhá pomocí fyzikálních a biotických faktorů. Jako anemochorie což je přenos vzdušnými proudy. Hydrochorie přenos vodou. Mykochorie šíření pomocí zoospór. Při zoochorii je potřeba vektor v podobě živočišného hostitele, například roztoči nebo mšice. A nakonec antropochorie, kdy přenášení patogenu umožní člověk (Šarapatka, 2010).

1.4.1 Významní patogeni u obilnin

Microdochium nivale



Zdroj: Kazda, 2010

Obrázek 1.1: *Microdochium nivale* na napadeném klasu (Kazda, 2010).

Způsobuje chorobu pojmenovanou plíseň sněžná. Přenos probíhá prostřednictvím osiva a také ze zbytků rostlin v půdě. Rozmnožuje se pomocí speciálních hyf zvaných konidiofor. Na větvených konidioforech ve sporodochiích se tvoří mírně prohnuté

konidie s jednou až třemi příhrádkami. Plíseň se může začít objevovat na klíčících rostlinách, které poté odumírají. Při napadení vzešlé rostliny dochází k jejímu pokroucení. Po odtání sněhu jsou viditelně ztrouchnivělé krčky a kořeny. Často se tvoří bělavé místy narůžovělé mycelium. Kontaminované obilky nelze konzumovat ve formě klíčků.

Ustilago tritici a *Ustilago nuda*

Tito patogeni jsou původci prašné snětivosti pšenice a ječmene. Přenáší se infikovaným osivem. Místo obilek dochází k tvorbě chlamydospor, které jsou kryté pokožkou rostliny. Časem dochází k protržení pokožky a uvolnění chlamydospor v podobě černohnědého prachu. Po protržení zůstává jen holé vřeteno klasu. Výskyt bývá obvykle lokální. Zamezení šíření se zajišťuje mořením osiva. Napadené obilky jsou nevhodné pro lidskou výživu (Kazda, 2010).



Zdroj: <https://www.koppert.com/challenges/disease-control/loose-smut-of-wheat/>

Obrázek 1.2: Stádia infekce způsobené patogenem z rodu *Ustilago* (koppert.com).

Tilletia caries

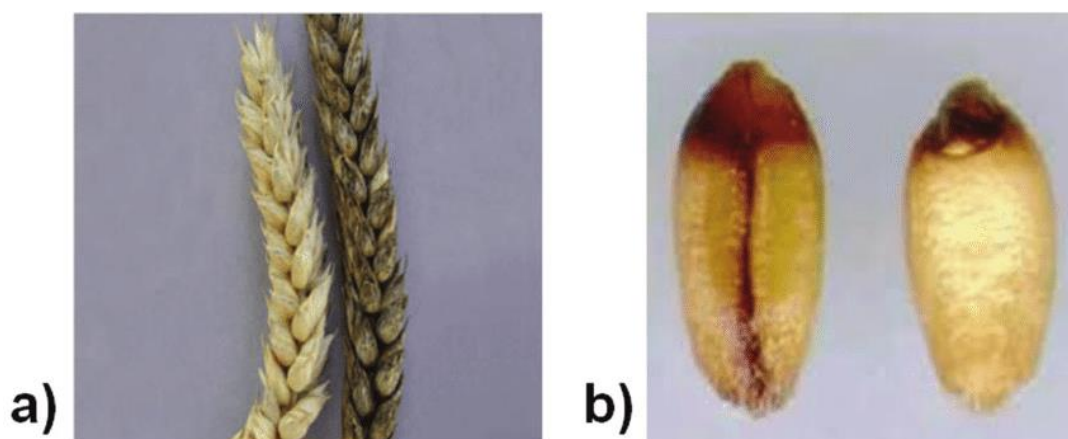
Tento houbový patogen je původcem mazlavé sněti u pšenic. Po infikování hostitelské rostliny je obilka přeměněna v hálku s chlamydosporami. Napadené obilky si zachovávají svůj tvar. Při sklizni dochází k mechanickému rozbití obilky a chlamydospory kontaminují osivo. Chlamydospory napadají po vyklíčení obilky klíček. Mycelium postupně prorůstá celou rostlinou až do klasu. V nově vzniklých obilkách se patogen opět množí a cyklus se opakuje. Chlamydospory svojí přítomností znehodnocují nutriční hodnotu obilek a tím znemožňují jejich využití pro živou stravu. *Tilletia caries* je zároveň schopna částečně přežít i na rostlinných zbytcích. Při opětovném výsevu pšenice a nedostatečnému odklizení posklizňových zbytků může dojít ke kontaminaci rostlin i v případě použití zdravého osiva. Účinnou ochranou před *Tilletia caries* je moření. V ekologickém zemědělství slouží jako ochrana správný osevní postup a časnější výsev na podzim (Šarapatka, 2010).



Zdroj: <https://alchetron.com/Tilletia#tilletia-066890d9-8b7c-47b0-84b8-3446681f0f3-resize-750.jpeg>

Obrázek 3.3: *Tilletia* uvnitř obilky (alchetron.com, 2020).

Rod *Alternaria*



Zdroj: https://www.researchgate.net/figure/Symptoms-of-infection-with-Alternaria-spp-on-wheat-ear-right-a-taken-from-URL_fig1_278963830

Obrázek 1.4: Příznaky infekce způsobené *Alternaria* na pšeničném klasu (a) a na obilce (b) (Researchgate.net, 2015).

Patogeni rodu *Alternaria* jsou saprofyty, některé druhy jsou příležitostně patogenní. Na rostlině tvoří tmavé konidie. Druh *Alternaria alternata* způsobuje čern. Na odumřelých nebo odumírajících částech rostlin tvoří černý, svazovitý povlak. Tento houbový patogen napadá zralé obilné klasy. Vyskytuje se na rostlinných zbytcích. Uvolněné spóry se šíří pomocí proudění vzduchu. Infikování rostlin lze omezit pouze včasnou sklizní (Kazda, 2010). *Alternarie* jsou nebezpečné produkcí toxických látek. Mezi hlavní toxiny produkované *Alternaria alternata* patří kyselina tenuazoniková, alternariol, alternariol monomethyl ether, altertoxin I, altenuen a tentoxin. Tyto mykotoxiny mohou poškodit genetickou informaci člověka. Altertoxin I je z těchto toxických látek nejvíce mutagenní. Zároveň při konzumaci potravin s vysokým obsahem dusitanů a dusičnanů, vzniká značný potenciál k rakovinnému bujení.

V souvislosti s výskytem *Alternaria alternata* je sledován vysoký výskyt rakoviny jícnu v provincii Linxian v Číně a v jižní Africe (Schrader et al., 2001).

Rod *Fusarium*

Tito houboví patogeni se podílí na rozkladu organické hmoty. Některé druhy se během svého vývoje přizpůsobily k parazitismu rostlin. Patří k polním patogenům s potenciální patogenitou. Především napadají oslabené rostliny. Tvoří řídké vzdušné mycelium, bílé, šedé nebo barevné a nepravidelné. Šíří se osivem a jsou schopné dlouho přežít na rostlinných zbytcích.

Fusarium culmorum je celosvětově rozšířen v půdě. Napadá uskladněné brambory a cukrovou řepu, je původcem krčkové a kořenové hniloby obilnin. Je nebezpečný produkcí mykotoxinů, mezi které patří tritchotheceny, nivalenol a zearalenon. Tritchotheceny byly izolovány z napadeného ječmene, pšenice, kukuřice a semen olejnin. Způsobují onemocnění zvané alimentární toxická leukémie.

Fusarium graminearum a *Fusarium tricincrum* se hojně množí za vlhkého a deštivého počasí na obilí. Produkují zearalenon, který byl izolován z ovsu, ječmene, pšenice, kukuřice a sezamu. Existuje pět různých typů mající estrogení vlastnosti.

Fusarium moniliforme a *Fusarium proliferatum* se nejčastěji objevují na kukuřici, ale i na ostatních zrninách, také v pivu, chlebu a kořeni. Jejich mykotoxinem je fumosin. Fumosiny způsobují rakovinu jícnu. Neurotoxicky inhibují syntézu sfingolipidů v nervové tkáni, imunotoxické a teratogenní. U prasat způsobují plicní edémy (Kalhotka, 2014; Vlčková et al., 2006).



Fusarium Head blight of Wheat
Photo Dr. Gary Bergstrom, Cornell University

Zdroj: <https://fieldcrops.cals.cornell.edu/small-grains/diseases-small-grains/fusarium-head-blight-scab/>

Obrázek 1.5: Pšenice napadená patogenem z rodu *Fusarium* (Cornell.edu).

Rod *Aspergillus*

Zatím bylo objeveno kolem 150 druhů. Tyto houby jsou tvořeny vlákny neboli hyfy, které rozdělují septy. Soubor hyf se nazývá mycelium. Vzdušné mycelium slouží k rozmnožování. Mycelium vegetativní prorůstá dovnitř semen a odčerpává živiny. Pomocí širokého spektra enzymů mohou napadat většinu krmiv a potravin. Díky silné lipolytické aktivitě znehodnocují na tuky a oleje bohaté potraviny. Druhy snázející nízkou vodní aktivitu napadají sušené potraviny i potraviny s vysokým podílem cukru

či soli. Člověka mohou ohrozit intoxikací a infekcí, některé kmeny produkují ochratoxin, sterigmatocystin nebo aflatoxiny. Aflatoxiny jsou původci aspergilózy, která nejčastěji postihuje dýchací cesty.



Zdroj: https://plantpathology.tamu.edu/?attachment_id=6344

Obrázek 1.6: Kukuřice napadené patogenem *Aspergillus flavus* (Tamu.edu, 2020).

Mezi producenty aflatoxinů patří *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Rostou na vlhkém seně, slámě, semenech a patří mezi skladištní plísně. Napadají také ořechy, arašídů, kukuřici a další semena určená k lidské výživě. Kontaminovaným krmivem se dostávají do mléka a mléčných produktů. Aflatoxin B1 je v současnosti nejsilnějším přirozeně vytvořeným karcinogenem. Aflatoxikóza má dvě formy, chronickou a akutní. Při akutním průběhu dochází k rychlé smrti poškozením jater a ledvin. Chronická aflatoxikóza vede k potlačení imunity a vzniku rakoviny. Nejvíce jsou zasažena játra. Navzdory přísným regulačním kontrolám se aflatoxin stále objevuje v potravinách (Bednář, 1996; Vlková et al., 2006; Kalhotka, 2014; Klich, 2009).

Rod *Penicillium*



Zdroj: <https://cropprotectionnetwork.org/resources/articles/diseases/penicillium-ear-rot-of-corn>

Obrázek 1.7 Kukuřice napadená patogenem rodu *Penicillium* (Cropprotectionnetwork.org).

Penicillium citrinum a *Penicillium viridicatum* produkují citrinin. Tento mykotoxin po ozáření UV světlem žlutě fosforeskuje. Na člověka má nefrotoxický, teratogenní,

hepatotoxický a karcinogenní vliv. Těmto plísním se daří na pšenici, ječmeni, ovsu i rýži.

Penicillium verrucosum produkuje ochratoxin. Vyskytuje se především v malých obilkách pšenice a ječmene. Pro člověka je tento mykotoxin nebezpečný svým nefrotoxickým, imunosupresivním, hepatotoxickým a teratogenním účinkem. Také může způsobit vznik nádorů v močových cestách (Vlková, et al., 2006; Klich, 2009).

1.4.2 Bakterie

Podle vyhlášky č. 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení se u konzumních semen kromě plísní kontroluje přítomnost *Listerie monocytogenes*, *Salmonella* spp. a *Escherichia coli*.

Listeria monocytogenes

Hojně rozšířena v přírodě a z tohoto důvodu se její výskyt kontroluje u všech syrových potravin. Fakultativně anaerobní, grampozitivní a nesporulující tyčinka. Je kataláza pozitivní a produkuje β -hemolysin. Schopná množení v širokém pásmu teplot od 2,5 °C do 42 °C. Růst *Listerie monocytogenes* ustává při nižším pH než 5,5. Vyskytuje se i ve slané vodě a snáší až 16 % koncentraci NaCl. Příznaky jako mírná chřipka až meningitida. Může způsobit úmrtí těhotných žen, dětí a oslabených jedinců.

Escherichia coli

Je znakem fekálního znečištění. Na semena se může dostat kontaminovanou vodou nebo pozdním hnojením. Fakultativně anaerobní, gramnegativní, nesporulující tyčinka, vyskytující se v trávicí soustavě.

Dělí se na čtyři základní skupiny:

1. ETEC enterotoxigenní – Způsobují náhlá průjemová onemocnění kolonizací tenkého střeva. Vyskytují se v teplejších oblastech.
2. EIEC enteroinvazivní – Osidlují tlusté střevo, kde vzniká zánět a vředy.
3. EHEC enterohemoragické – Produkci toxinu způsobují koliku, množí se v tlustém střevě. Do těla se dostávají ze špatně tepelně upraveného hovězího masa.
4. EPEC enteropatogenní – Kolonizace tenkého střeva, průjmem trpí především kojenci.

Rod *Salmonella*

Zdrojem jsou divoká zvířata, která mohou kontaminovat potravu. Fakultativně anaerobní, gramnegativní, nesporulující a pohyblivé tyčinky. Aby se mohly rozmnožovat potřebují vodní aktivitu minimálně 0,93, ale přežívají i v sušených potravinách. Rostou v teplotním rozmezí od 5 °C do 47 °C. Inhibiční látkou pro *Salmonelly* jsou dusitany a také je ovlivňuje nízké pH. Letální je pro ně teplota 60 °C po dobu 15 až 20 minut.

Salmonella enteritidis a *Salmonella typhimurium* jsou původcem gastroenteritid. Průběh infekce bývá mírný a rychlý. Těžký průběh nastává u kojenců, starších a oslabených jedinců. První příznaky se objevují do 6-48 hodin, silný průjem, zvracení,

teplota, bolesti břicha a hlavy. Ve střevech dochází k lýzi buněk a uvolňování endotoxinů.

Salmonella typhi a *Salmonella paratyphi* jsou původcem břišního tyfu a paratyfu. Mohou se množit v organismu hostitele. Do těla se dostávají nepřímo fekální kontaminací nebo přímo kontaktem s nemocným člověkem. Pronikají do lymfatického systému a odtud do krve. Tím začíná akutní fáze, která je typická vysokými horečkami, nechutenstvím a bolestmi hlavy. Obvykle příznaky přetrvávají jeden až dva týdny. Mohou napadat různé orgány kde způsobí zánět. U nás se tyto infekce vyskytují minimálně (Vlková et.al., 2006).

1.5 Ochrana rostlin

Cílem je ochránit rostliny tak, aby nedošlo ke znehodnocení výnosových částí rostlin. Například ochrana proti škůdcům nebo mikroorganismům, kteří navíc mohou kontaminovat rostlinu toxickými látkami nebo jinak ovlivnit její chemické složení. Rostlinná produkce v ekologickém zemědělství je zaměřená na zlepšování kvality životního prostředí. Snaží se o zvýšení biologické rozmanitosti a zlepšení chemických a fyzikálních vlastností v půdě. V první řadě je pro ochranu rostlin klíčová prevence. V posledních letech je snaha vyvinout nechemické metody přímé ochrany. Jedním z důvodů je, že převážná část chemických přípravků určených k přímé ochraně rostlin je v ekologickém systému hospodaření zakázána. Tím dochází ke snižování znečištění životního prostředí. Zároveň se zamezí přítomnost chemických látek na semenech, které jsou určeny pro nakličování (Ministerstvo zemědělství, 2018).

1.5.1 Prevence

Ochrana rostlin začíná správnou volbou předplodiny a sestavením vhodného osevního postupu. Mnoho patogenů přežívá na posklizňových zbytcích, proto je potřeba vhodné hostitelské rostliny zařazovat po rozložení všech rostlinných zbytků. To znamená minimálně dva roky, lépe až po několika letech. Možné použít obilniny které jsou deklarované na vhodnost k setí po jiné obilnině. Takové jsou však pouze tolerantnější k takovému osevnímu postupu ale ne rezistentní vůči patogenům. Dalším klíčovým faktorem je vhodná volba stanoviště. Je potřeba omezit výběr oblastí s vhodnými podmínkami pro patogeny a škůdce, kteří napadají danou plodinu. A naopak vybrat vhodné půdně klimatické podmínky pro pěstovanou rostlinu. Správné zpracování půdy může zničit či alespoň snížit množství patogenů vyskytujících se na pozemku. Hluboká orba ničí patogeny, kteří přežívají pouze ve svrchních vrstvách. Podmítka odstraní výdrol a plevle, tím odstraní vhodné hostitele pro patogeny. Správně založený porost podporuje zdraví rostlin a tím se zvyšuje jejich odolnost vůči patogenům.

V semenářství pomocí křížení je snaha vytvořit rezistentní odrůdy. Díky molekulárním metodám lze rozpoznat geny rezistence a tím výrazně urychlit proces šlechtění (Kazda, 2010; Hrudová et al., 2006).

1.5.2 Metody přímé ochrany

Mezi metody přímé ochrany patří chemické, biologické a fyzikální způsoby ošetření. Jako přímou mechanickou metodu je možné považovat sběr škůdců. Chemické ošetření není vhodné z hlediska životního prostředí. Použité chemikálie a jejich rezidua mohou kontaminovat půdu a spodní vody. Jejich přítomností na rostlinách se mohou dostat potravním řetězcem až ke člověku a způsobit různě závažná onemocnění. Příkladem fungicidního moření osiva je difenoconazole. Působí proti původci zakrslé snětivosti, ale neničí plísně rodu *Fusarium*. Fludioxonil naopak potlačuje *Fusarium*, ale není vhodný proti *Tilletia controversa*.

Nechemické metody zatím nelze plošně aplikovat. Účinkují pouze na patogeny, kteří se nachází na povrchu semene, ale už nejsou schopny zničit patogeny vyskytující se uvnitř semene. (Kazda, 2010; Hrudová et al., 2006).

Mezi fyzikální ošetření semen patří sterilizace nízkoteplotním plazmatem. Peroxid vodíku nebo kyselina peroctová se nechá odpařit ve sterilizační komoře kde se vytvoří vakuum. Poté se plyn rozloží na vysoce reaktivní částice plazmatu vysokofrekvenčními vlnami. Tyto částice rozkládají organické látky a tím usmrcují mikroorganismy. (Votava, 2001)

Dále je možné použít moření horkou vodou. Tento způsob hubí patogeny a zároveň může zvýšit klíčivost a vitalitu semen. Osvědčené teplotní rozmezí je od 45 do 60 °C podle druhu semen. Podle pravidel, kterými se řídí raw stravování nelze semena zahřát nad 45 °C. Z tohoto důvodu lze využít moření horkou vodou jen v případech, kdy k úspěšné likvidaci patogenů dojde už při 45 °C. Například pšenice kontaminovaná *Fusarium nivale*, byla ponořena na 2 hodiny do 45 °C vody a tím došlo k likvidaci patogenu. Důležité je semena po moření dostatečně vysušit.

Jako účinnou biologickou ochranu lze použít kmeny *Bacillus polymyxa E681* a *Pseudomonas fluorescens M45*. Po aplikaci zůstávají na rostlině po celou dobu jejího růstu. Díky svojí přítomnosti omezují napadání patogeny. Další využitelné kmeny jsou *Pythium oligandrum* a *Trichoderma harzianum*. (Chloupek, 2008)

Použití oxidu uhličitého

Vysokotlakový oxid uhličitý se začíná zkoumat jako alternativní metoda pasterizace za studena. Tato metoda představuje některé základní výhody související s použitými mírnými podmínkami. Zejména proto, že umožňuje zpracování při mnohem nižší teplotě, než jaká se používají při tepelné pasterizaci. Navzdory intenzivnějším výzkumným snahám posledních let nebyla ve velkém měřítku zavedena technika konzervace vysokotlakovým oxidem uhličitým v potravinářském průmyslu (Garcia-Gonzalez et al., 2007).

Superkritický oxid uhličitý má baktericidní účinek a za vysokého tlaku je schopen zasáhnout mikroorganismy skryté ve štěrbinách nebo mezi děložními lístky. Obecně je pozorováno, že existuje významný účinek kombinace tlaku a času. Zjistilo se, že procento inaktivovaných mikroorganismů se významně zvyšovalo s časem. Zpracování při 2 000 psi po dobu 15 minut vedlo k 10 % inaktivaci mikroorganismů. Naopak 60minutové zpracování při stejném tlaku vedlo k 70,8 % inaktivaci. Účinek

tlaku v rozmezí 2 000 - 4 000 psi však není statisticky významný, přestože bylo dosaženo 85,6 % inaktivace při 4 000 psi po dobu 60 minut.

Procento klíčivosti u všech semen je vyšší než 90 %. Nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v rychlosti klíčení ošetřených a neošetřených semen. Rozmezí pro různé kombinace času a tlaku bylo 91,5 až 96,9 %, což naznačuje, že superkritický oxid uhličitý může být použit, aniž by došlo k ohrožení kvality klíčení. Studie naznačuje, že tato metoda má vysoký potenciál pro využití při dekontaminaci mikroorganismů (Mazzoni et al., 2001).

1.6 Plazma

Využívá se na inaktivaci mikroorganismů, které se mohou vyskytovat na povrchu. Například dekontaminace obalových materiálů a zdravotnických zařízení. Použití i k hojení ran, léčbě rakoviny a likvidace mikroorganismů přímo v těle pacienta. Dekontaminace znečištěného vzduchu a vody je také možná. Plazma je ionizovaný plyn složený z elektronů, iontů, atomů a molekul. Často je označována jako čtvrtý stav hmoty. Výhodou je možnost použití netepelného plazmového výboje, který kombinuje vysokou reaktivitu způsobenou energetickými elektrony a nízkou teplotu plynu určenou malou energií těžkých částic. Plazmová povrchová úprava je schopna eliminovat toxické a agresivní chemické látky a může být velmi prospěšná i v medicíně a biotechnologii. Dále inaktivuje širokou škálu mikroorganismů včetně spór. Úspěšné ošetření plazmou musí nejen zničit mikrobiální kontaminaci ale také zachovat funkční vlastnosti potravin.

Výhodou plazmy je rovnoměrné pokrytí povrchu semene, při kterém nedochází k ničení semen. Nejsou potřeba žádné chemikálie, a proto je neškodná pro životní prostředí. Účinnost plazmy je ovlivněna povrchem semene. Mikroorganismy na povrchu hladkého semene jsou snadno dostupné. Ale u semen s povrchovými strukturami nebo s trhlinami mohou být mikroorganismy dostatečně skryté a přežít. Například semena cibule mají na svém povrchu mnoho trhlín a ředkvička má velmi drsnou strukturu. Naopak semenům vojtěšky a řeřichy je vlastní téměř hladký povrch. Výzkumy naznačují že dochází k mírnému zlepšení klíčivosti a růstu semen po plazmovém ošetření. Naopak zhoršení vývoje nastává při příliš dlouhému vystavení plazmě nebo z důvodu vysoké pulzní frekvence. Mezi aktivní druhy, o nichž se předpokládá, že přispívají k antimikrobiálním účinkům plynné plazmy, patří různé druhy iontů, elektronů, radikálů, ultrafialové světlo, vakuové ultrafialové záření, elektrické pole a metastabilní látky (Zahoranová et al., 2018; Kim et al., 2017; Butscher et al., 2016).

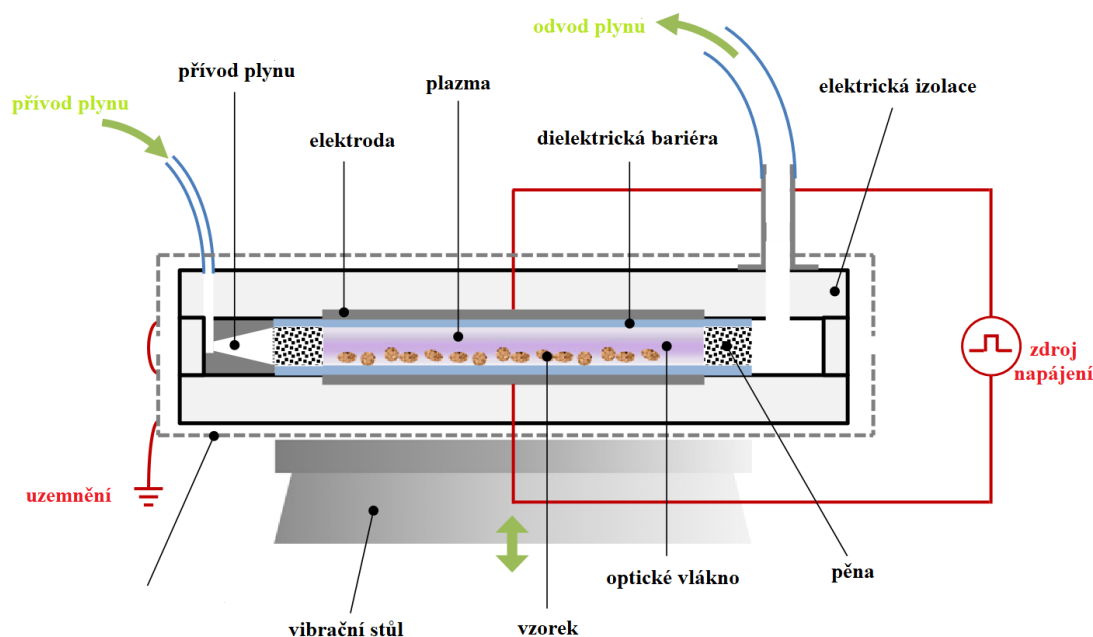
1.6.1 Nízkoteplotní plazma

Nízkoteplotní plazma sestává z částic, které nejsou v kinetické rovnováze. Teplota těžkých částic je mnohem nižší než teplota elektronů. Proto je nízkoteplotní plazma vhodná také pro ošetření termosenzitivních a biologických materiálů, aniž by došlo k jejich poškození. Podstatně vyšší teplota elektronů umožňuje produkci různých excitovaných, reaktivních forem kyslíku a dusíku, radikálů, metastabilit, iontů a fotonových plazmachemických reakcí.

Je dobře známo, že nízkoteplotní plazmu lze snadno generovat pomocí elektrických výbojů v plynu za nízkého tlaku. Takové zdroje plazmy však vyžadují vakuovou komoru a čerpací zařízení a neumožňují snadnou implementaci do linkových výrobních linek. V současné době se v různých aplikacích často používá tzv. „Studený atmosférický tlak“ generovaný plazmovými zařízeními pracujícími za atmosférického tlaku. Existují různé zdroje plazmy za studeného atmosférického tlaku, jako jsou výboje dielektrické bariéry, plazmové trysky, plazmové hořáky, radiofrekvenční plazmové tužky, zařízení založená na koronovém výboji a mnoho dalších, které se liší podle konfigurace výboje, napájení a pracovního plynu (Zahoranová et al., 2018).

1.6.2 Dielektrický bariérový výboj

Principem je, že dvě elektrody jsou odděleny izolační dielektrickou bariérou, aby se zabránilo zkratu. Materiál, ze kterého je bariéra vyrobená ovlivňuje charakter a účinnost dekontaminace. Při použití polymethylmethakrylátu docházelo k mírně zvýšeným hodnotám inaktivace ve srovnání s polykarbonátem. Lepší inaktivační výkon lze připsat malým rozdílům v dielektrických vlastnostech nebo interakcích s povrchem plazmy. Polykarbonát má zase oproti polymethylmethakrylátu vyšší tepelnou stabilitu. Na účinnost dekontaminace by mohlo mít vliv stárnutí dielektrických bariér způsobené degradací UV světlem nebo leptání povrhu plazmou.



Zdroj: Butscher et al., 2016

Obrázek 1.8. Schéma použití dielektrického bariérového výboje (Butscher et al., 2016).

Dostupné výsledky naznačují, že účinnost se zvyšuje s vyšším pulzním napětím. Obecně platí, že většina dielektrického bariérového výboje s atmosférickým tlakem pracuje v takzvaném vláknovém režimu. I když se zdá, že některé systémy dielektrického bariérového výboje zapalují homogenní plazmu v makroskopickém a velkém časovém měřítku, obvykle se stále skládají z množství jednotlivých mikrodís

nábojů pozorovaných v mikroskopickém měřítku. Rovněž s ohledem na rozlišení nanosekund pulzních výbojů je zřejmé, že mikrodisky se vyskytují pouze na stoupajících a klesajících stranách vysokonapěťových pulzů, zatímco plazma krátce poté zhasne v důsledku akumulace náboje na dielektrických bariérách. Je známo, že se zvýšením pulzního napětí roste počet mikrodispozic na jeden výbojový cyklus, což zesílí hustotu energie ve výboji. To vede k vyšším úrovním produkce reaktivních druhů v plazmě, což zlepšuje mikrobiální inaktivaci. Kromě změny pulzního napětí lze hustotu energie ve výboji zvětšit také zvýšením pulzní frekvence. Tím dochází k vzestupu počtu výbojových cyklů, a i počtu mikrodis nábojů za jednotku času. Důsledkem je také zvětšení hustoty energie ve výboji, což nakonec vede ke zlepšení účinnosti inaktivace.

Bylo dokázáno, že vyšší hustota energie je prospěšná pro dekontaminaci plazmou. Zároveň ale dochází ke zvýšení teploty plynu ve výboji a tím by mohla být ovlivněna klíčivost semen. Budoucí výzkum by se proto měl zabývat opatřeními, která dále posílí antimikrobiální účinek plazmy a současně sníží tepelný dopad. Tento proces může zahrnovat opatření k ochlazení semen, během zpracování plazmou pomocí ochlazeného procesního plynu, tak aby se zamezilo poškození vlastností semen. Další strategií ke zlepšení antimikrobiální účinnosti může být kombinace plazmy s dalšími antimikrobiálními opatřeními jako použití jiných plynů. Různými obměnami lze dosáhnout vyšší míry mikrobiální redukce (Butscher et al., 2016).

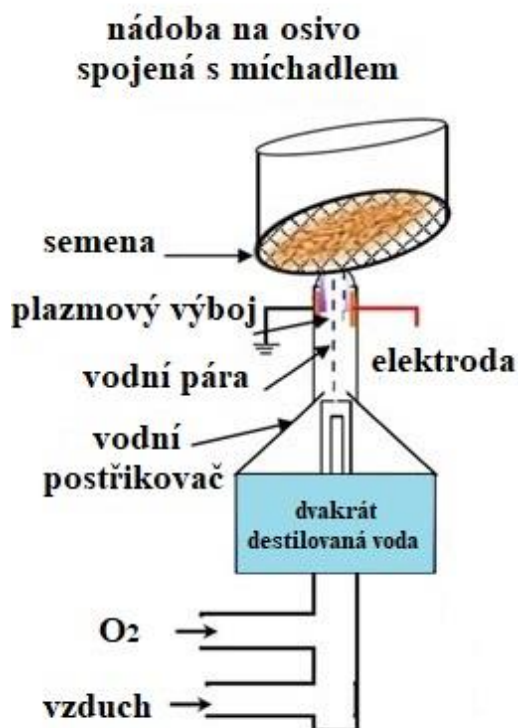
1.6.3 Koronový výboj

Koronový výboj je jedním z konvenčních jevů studené plazmy. Předpokládá se, že plazma koronového výboje je produkována separací elektronů z molekul v důsledku vysokého napětí mezi dvěma elektrodami. Výboje korony se jeví jako světelná záře lokalizovaná v prostoru kolem hrotu elektrody. Výboje korony ve vzduchu mají silný baktericidní účinek. Byly prokázány lepší růstové vlastnosti u pšenice seté ošetřené netermálním plazmatem pomocí reaktoru s povrchovým výbojem při atmosférickém tlaku a pokojové teplotě. Počty mikroorganismů na klíčcích ze semen brokolice ošetřených koronovým výbojem jsou výrazně nižší než na neošetřených. Semena brokolice vystavená 1 minutu koronovému výboji měla o 6,4 % zlepšenou rychlost klíčení oproti neošetřeným semenům. Po vystavení 3 minut je naopak zaznamenán významný pokles rychlosti klíčení. Fyzikálně – chemické vlastnosti, včetně úrovně vlhkosti, obsahu cukrů a celkový počet fenologických látek nejsou po ošetření koronovým výbojem výrazně ovlivněny. Semena ošetřená až 2 minuty nevykazují horší sensorické vlastnosti, pokud jde o vzhled, barvu, chuť, texturu a celkovou přijatelnost. Při 3 minutách a déle dochází ke změně velikosti, mírné změně barvy a nahořklé chuti (Kim et al., 2017).

1.6.4 Atmosférická plazma

Jako komora pro výrobu plazmy byla použita skleněná trubice z pyrexu s vnitřním průměrem 10 mm. Skrz skleněnou trubici jsou axiálně vloženy dvě elektrody vyrobené z měděného drátu 2 mm pro výrobu plazmového obloukového výboje v čele skleněné

trubice. Vzdálenost mezi oběma elektrodami je 4 mm. Voda byla rozprašována proudem vzduchu nebo plynu O_2 přes skleněnou trubici, která působí na principu rozprašovače. Použila se dvakrát destilovaná voda udržovaná v nádobě postříkovače. Voda se vstříkovala podobně jako mlha a byla zaváděna do skleněné trubice, která fungovala jako komora pro produkci plazmy. Průtok vzduchu a O_2 regulován pomocí regulátoru průtoku plynu. K oběma elektrodám je připojen unipolární vysokonapěťový napájecí zdroj 4–6 kV, 200 Hz pro výrobu plazmových výbojů. Vybíjecí napětí a proud byly měřeny digitálním osciloskopem spojeným s napěťovými a proudovými sondami. Množství energie absorbované plazmou bylo ~ 6 W.



Zdroj: Roy et al., 2018

Obrázek 1.9. Reaktor na produkci plazmy (Roy et al., 2018).

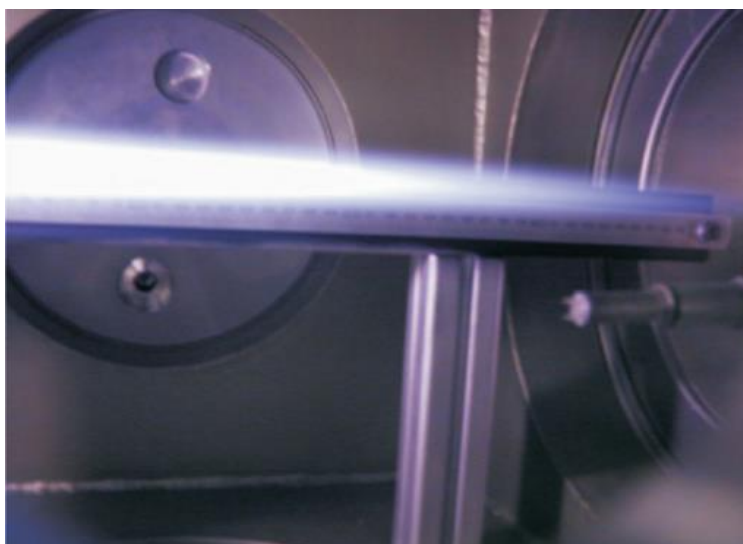
V popsané studii je zkoumán vliv ošetření plazmatem plazmového obloukového výboje za atmosférického tlaku na obilky pšenice. Semena ošetřili dobou 3, 6, 9, 12 a 15 minut. Dokázali, že povrchová stavba a funkce semen se modifikují v důsledku plazmového ošetření. Byly použity tři druhy plynného složení H_2O /vzduch, H_2O/O_2 a H_2O/O_2 /vzduch. Všechny typy složení při ošetření plazmou po dobu 6 minut ukázaly 95 až 100 % klíčivost. Nejvyšší rychlost klíčení byla po vystavení klouzavému obloukovému výboji H_2O/O_2 a H_2O/O_2 /vzduch 3 a 6 minut. Zjistili, že použití plazmy H_2O/O_2 /vzduch je nejúčinnější pro zvýšení klíčivosti, nejspíš kvůli relativně vysoké hustotě reaktivních kyslíkových a dusíkatých forem. Také prokázali, že po 12minutovém ošetření plazmou H_2O/O_2 /vzduch je absorpce vody o 27 % vyšší než u neostřených obilek.

Interakce reaktivních kyslíkových a dusíkatých radikálů se semenným povlakem podstatně změnila jeho drsnost při delším ošetření plazmou. Obal pšeničných semen

se skládá z malých a velkých škrobových molekul s proteinovou maticí. Vlastnosti škrobových molekul jsou modifikovány pro interakce s reaktivními kyslíkovými a dusíkatými formami produkovaných v plazmě. Díky těmto interakcím dochází v řetězcích amylozy a amylopektinu k depolymerizaci a zesíťování. Plazmové ošetření zvyšuje povrchovou energii a zvyšuje hydrofilnost molekul škrobu. To pomáhá při vstřebávání vody do semene, což zvyšuje klíčivost. Se zvyšující se dobou zpracování se zvyšuje propustnost vody. Druhy plazmy aktivují komplexní sekvenci biologických odpovědí v buňkách a tkáních.

Z nedávných studií vyplývá, že ošetření semen plazmou má vliv na celý růstový cyklus rostlin, a to bez genetické mutace. Ošetření plazmou přispívá k energetickému růstu rostlin pšenice zvýšením fotosyntetických aktivit. Tato skutečnost může být zodpovědná za zvýšený výnos pšenice, která byla vystavena 6 minut plazmě H_2O/O_2 a $H_2O/O_2/vzduch$ (Roy et al., 2018).

1.6.5 Vakuový systém



Zdroj: Korzec et al., 2003

Obrázek 1.10 Samostatně stojící mikrovlnný plazmový paprsek (Korzec et al., 2003).

Čerpací systém je složen z dmyhadla a podpořen rotačním čerpadlem, přičemž základní tlak činí méně než 0,1 Pa. Pracovní plyn se přivádí do křemenné trubice pomocí regulátoru průtoku plynu. Zdroj plazmy je připevněn vodorovně do kubické vakuové komory z nerezové oceli. Vzdálenost mezi hranou křemenné trubice a protilehlou stěnou komory je 70 cm. Plazmový zdroj je poháněn mikrovlnným zařízením o výkonu 3,0 kW a 2,45 GHz. Mezi generátorem a plazmou je oběhové čerpadlo, které vede odraženou energii z plazmy do vodou chlazené části. Tak aby byl chráněn magnetron před poškozením. Mikrovlnná energie je dodávána pomocí obdélníkového vlnovodu. Přenáší se z vlnovodu pomocí sondy do prstencové dutiny. Na vnitřní straně prstencové dutiny jsou dvě štěrbinové antény umístěné kolmo na směr šíření vln a nachází se v blízkosti uzlů stojatých elektromagnetických vln. Tyto sloty spojují mikrovlnnou energii s válcovým aplikačním prostorem s vnitřním

průměrem 100 mm a délkou kolem 50 cm. Stěna tohoto válce je vybavena maticí s otvory umožňující chlazení křemenné trubice. Plazma se generuje uvnitř křemenné trubice umístěné axiálně ve válcovém aplikátoru (Korzec et al., 2003).

2. Metodika práce

2.1 Semena

Použitá semena byla od firmy Toraf, které jsou běžně dostupná.

2.1.1 Fazole mungo

Naklíčená semena fazolí mungo vykazují mírný nárůst draslíku, vápníku, fosforu, hořčíku, železa a manganu. Klíčením se sníží obsah redukujících cukrů o 36,1 % a škrobu o 8,78 %. Dále klíčící semeno spotřebuje veškerou zásobu stachyózy a rafinózy. Také dochází ke snížení tuku. Naopak nastává nárůst esenciálních aminokyselin, kterými jsou valin, leucin, izoleucin a tryptofan. Svým složením a dobrou stavitelností jsou klíčky fazole mungo vhodné pro lidskou výživu (Mubarak, 2005).

2.1.2 Brokolice

Během klíčení dochází ke zvýšení obsahu bílkovin a snížení lipidů. Ze zjištěných mastných kyselin dochází ke snižování kyseliny arachidonové, kyseliny olejové a gondoové. Roste obsah kyseliny linolové, linolenové, palmitové, stearové, palmitolejové a vakcenové. S rostoucí dobou klíčení dochází k poklesu vlákniny a zvýšení koncentrace minerálů. Celkový obsah aminokyselin u výhonků brokolice je o 3 až 42 % vyšší ve srovnání se semenem. Klíček obsahuje histidin, threonin, arginin, valin, methionin, izoleucin, leucin a fenylalanin. Mají také vysoký obsah polyfenolů, flavonoidů a sulforafanů. Pro lidskou výživu důležité obsahem látek se schopností zachycovat radikály (López-Cervantes et al., 2013).

2.1.3 Řeřicha

Řeřicha má významné antioxidační účinky. Celkový obsah fenolů a flavonoidů je nejvyšší 6.den klíčení. Ke zvýšení fenolů dochází 5,3krát a flavonoidů 4,4krát oproti semenům. Šestnáct fenolických kyselin a flavonoidů se nachází v klíčcích ve srovnání se čtrnácti obsažených v semenech. Nově vytvořené látky jsou kyselina gallová a kyselina protocatechuová. Obsah kvercetinu se klíčením snižuje. Ke zvýšení dochází u kyseliny gentisové, kyseliny chlorogenové, kyseliny skořicové, kyseliny rosmarinové, kyseliny p-kumarové, kyseliny sinapové a kyseliny furalové, dále pyrogallol, catechin, scopoletin, rutin, apigenin-7-glukosid a chrysin. Vzrůst se pohybuje v rozmezí od 1,8 do 247 (Abdel-Aty et al., 2019).

2.1.4 Ředkvička

Celková antioxidační kapacita ředkvičky se zlepšuje do 4.dne klíčení. Z glukosinolatů převažuje glucoraphanin, jehož pokles nastává během 7.dne klíčení. Je silným

antioxidantem chránícím před účinky volných radikálů. Také se může přeměnit na sulforafan, který pomáhá s detoxikací organismu. Vitamín C není v semenech ředkvičky, ale vzniká až při procesu klíčení (Martinez-Villaluenga et al., 2010).

2.1.5 Ječmen mladý

Klíčky jsou dobrým zdrojem bílkovin, vitamínů a minerálů. Také zdravých výživných látek, jako jsou fenolové sloučeniny a složky obsahující selen. Mezi metabolické změny patří vylepšení bílkovin a jejich stravitelnosti. Zvyšuje se obsah cukru a vitamínů B a sníží se hladiny inhibitorů fytátů a proteáz. Klíčení ječmene vyvolává výrazné navýšení obsahu vlákniny, diglyceridů, volných mastných kyselin, fytosterolů a malé stálé zvýšení obsahu mnoha aminokyselin. Rovněž zlepšuje stravitelnost těchto živin. Také obsahuje karoteny a xantofyly, kteří mohou zabránit oxidaci zachycením volných radikálů v nepřítomnosti singletového kyslíku. Obsažené fenolické látky jsou kyselina ferulová, kyselina gallová a kyselina chlorogenová (Aborus et al., 2017).

2.2 Plazmové ošetření semen

Semena byla ošetřena ve vakuové komoře, kde dochází mezi elektrodami ke vzniku plazmy. Komoře má tvar kvádrů a je vyrobená z nerezové oceli. Stěny mají tloušťku 15 mm a dvířka jsou s průhledným oknem. Ve vakuové komoře se nachází čidlo pro měření vnitřního tlaku, který je při ošetření 100 Pa. Pracovní objem komory je 56,5 dm³. Ve vakuové komoře nastává reakce reaktivních částic s ošetřovaným osivem.

Ke generaci elektrického napětí o frekvenci 2,45 GHz dochází díky mikrovlnnému zdroji. Toto napětí se převádí na elektrody v komoře a tím vzniká plazma. Výstupní výkon je možné regulovat od 100 do 850 W, čehož dosáhneme změnou šířky pulzu od 10 do 100 μs. Aby mohl výboj vzniknout je potřeba odčerpát plyn z vakuové komory vývěvami. Dodávku mikrovlnné plazmy je možné nastavit v rozsahu 0 až 100 %.

Vzorky semen byly vystaveny plazmě 4, 5, 6, 7 a 8 minut. Pracovním plynem byl vzduch, který vytváří plazmový hořák poháněný mikrovlnnou energií. Výkon mikrovlnné plazmy se nastavil na hodnotu 50 %, což odpovídá výkonu 500 W. Průtok plynu je nastaven na 100 standardních kubických cm. Semena byla do komory vložena na otevřených Petriho miskách pouze v jedné vrstvě. Petriho misky byly sterilní, aby nedošlo k jejich kontaminaci. Po ošetření byly vzorky ihned uzavřeny parafilmem.

2.3 Zjišťování celkového počtu mikroorganismů

U ošetřených semen plazmou 4, 5, 6, 7 a 8 minut společně s kontrolní neošetřenou skupinou byl zjištěn počet mikroorganismů. Jako živné médium byl použit potato dextrose agar (PDA) jako univerzální médium vhodné jak pro růst houbových, tak i bakteriálních patogenů. Na Petriho misku s agarem se ve sterilním boxu umístilo pět semen pomocí pinzety sterilizované v 70 % ethanolu. Petriho misky po vyjmutí z boxu byly uzavřeny parafilmem a přeneseny do termostatu. Kultivace probíhala při 25 °C

po dobu sedmi dní. Každá skupina byla sledována ve dvou opakováních. Druhy patogenů byly hodnoceny pouze morfologicky, jejich přesné zařazení by se mohlo hodnotit na základě genotypizace, což ovšem nebylo cílem této práce.

2.4 Klíčení

Dalším parametrem bylo sledování vlivu plazmového ošetření na klíčení semen. Do Petriho misky byly vloženy tři filtrační papíry. Přidalo se 5 ml destilované vody a pět semen každého druhu. Semena byla ošetřena hypermanganem, aby případné kontaminace neovlivnily hodnoty klíčení. Chladová fáze v lednici probíhala od prvního do čtvrtého dne při 4 °C. Poté byly Petriho misky přesunuty do termostatu s teplotou 22 °C a zde ponechány až do konce sledování klíčení. Osmý den došlo k měření délky klíčků a kořínků na Petriho misce. Po dvanácti dnech byla semena vyndána z Petriho misky a opatrně se rozpletly kořínky tak, aby se daly přesně změřit. Každá skupina byla umístěna do tří Petriho misek, to znamená že celkově bylo sledováno patnáct semen. Hodnocení vývoje klíčku a kořínku bylo prováděno podle následujících tabulek.

Tabulka 1. Hodnocení vývoje klíčků.

Index	Specifikace klíčku
0	Neklíčí
1	Klíček nedosahuje délky semene
2	Klíček je dvakrát delší než semeno
3	Klíček je třikrát delší než semeno
4	Klíček je čtyřikrát delší než semeno

Tabulka 2. Hodnocení vývoje kořínku.

Index	Specifikace kořínku
0	Semeno netvoří kořínek
1	Kořínek je stejně dlouhý jako semeno
2	Kořínek je dvakrát delší než semeno
3	Kořínek je třikrát delší než semeno
4	Kořínek je čtyřikrát delší než semeno

3. Výsledky

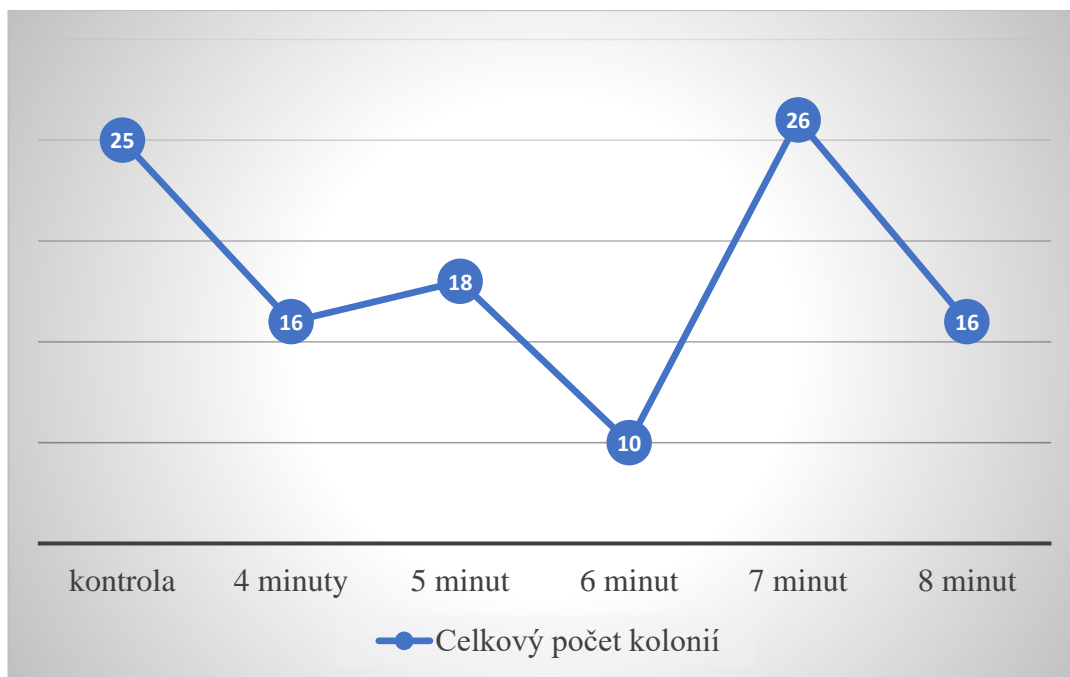
3.1 Vyhodnocení zdravotního stavu

3.1.1 Fazole mungo

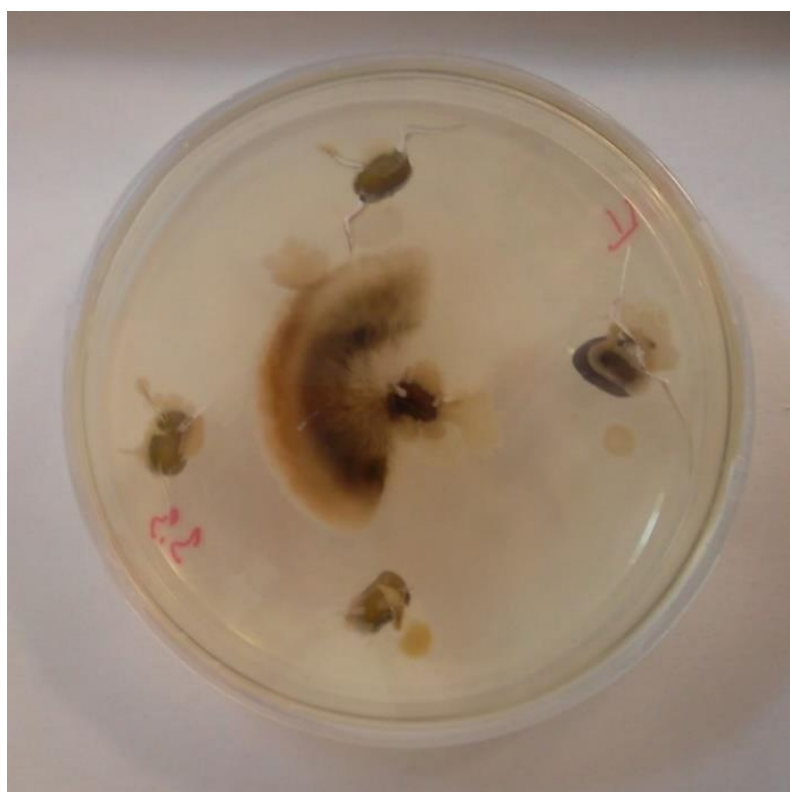
Houbová kontaminace se po 7 dnech objevila na Petriho miskách se semeny bez ošetření a semeny po plazmovém ošetření 4 a 8 minut. Kolonie bakterií se vyskytují na všech Petriho miskách, ale v různém počtu. V případě misek se semeny bez ošetření a semeny ošetřené 7 minutami je možná kontaminace, jelikož se bakteriální kolonie nacházely i mimo oblast semen. Celkově se zdá, že plazmové ošetření nemělo vliv na mikrobiální kontaminaci uvnitř semene, která se projevila po narušení obalových vrstev. Důvodem neúčinnosti plazmy může být silná obalová vrstva fazolí mungo, kterou plazma neprojde.

Tabulka 3. Počet mikroorganismů u semen fazolí mungo 7.den.

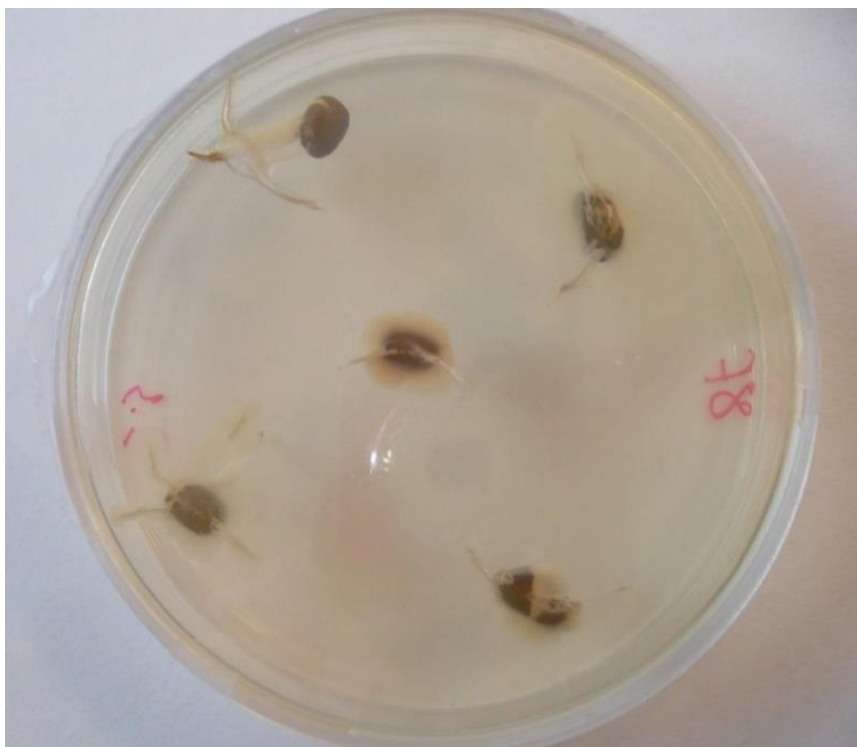
Houbová kontaminace	Bez ošetření	Ošetření 4 minuty	Ošetření 5 minut	Ošetření 6 minut	Ošetření 7 minut	Ošetření 8 minut
počet kolonií na 1 misce	4	2	0	0	0	0
počet kolonií na 2 misce	0	1	0	0	2	0
Celkem	4	3	0	0	2	0
Bakterie						
počet kolonií na 1 misce	9	6	9	5	16	9
počet kolonií na 2 misce	12	7	9	5	8	7
Celkem	21	13	18	10	24	16
Celkový počet kolonií	25	16	18	10	26	16



Graf 1. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny fazolí mungo po 7 dnech.



Obrázek 3. 1. Semena fazole mungo bez plazmového ošetření.



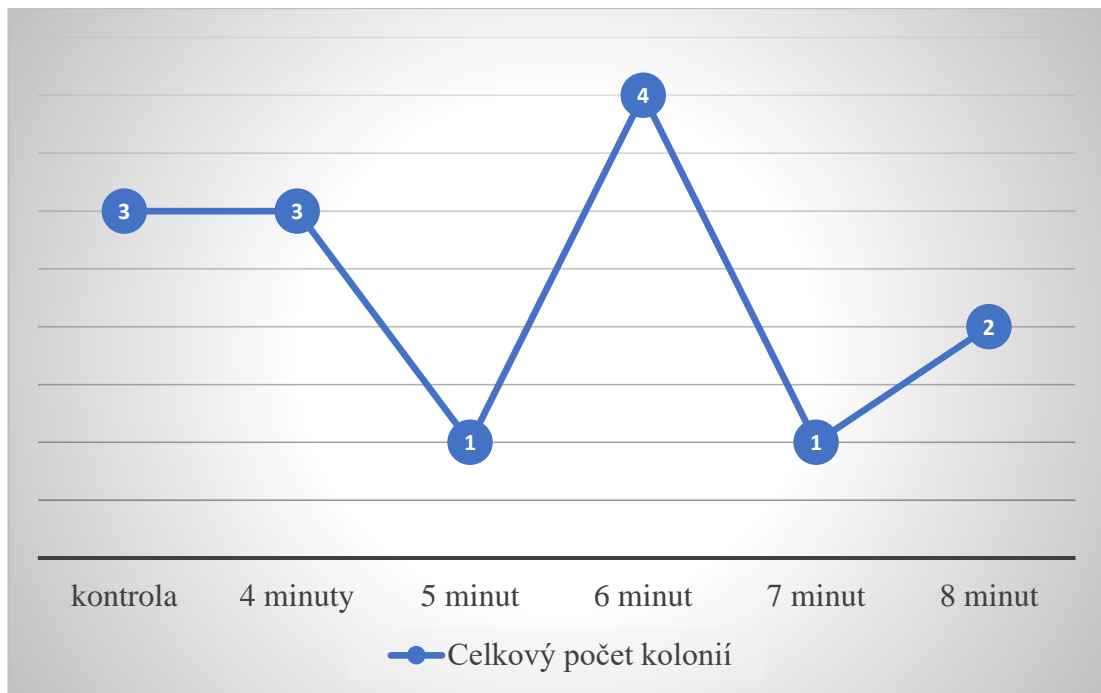
Obrázek 3. 2. Semena fazole mungo ošetřená plazmou po dobu 8 minut.

3.1.2 Brokolice

Pouze u plazmového ošetření 5 minutami se objevila houbová kontaminace. Tyto misky byly zároveň jako jediné zcela bez bakteriální kontaminace. U ostatních skupin semen se pohyboval počet kolonií od 1 do 4. Zdá se, že mikroorganismy zůstaly ukryté před plazmou v prohlubni či záhybu na povrchu semene. V porovnání s kontrolní skupinou semen nelze říct, že by plazma měla větší vliv na výskyt mikroorganismů.

Tabulka 4. Počet mikroorganismů u semen brokolice 7.den.

Houbová kontaminace	Bez ošetření	Ošetření 4 minuty	Ošetření 5 minut	Ošetření 6 minut	Ošetření 7 minut	Ošetření 8 minut
počet kolonií na 1 misce	0	0	1	0	0	0
počet kolonií na 2 misce	0	0	0	0	0	0
Celkem	0	0	1	0	0	0
Bakterie						
počet kolonií na 1 misce	2	2	0	2	1	0
počet kolonií na 2 misce	1	1	0	2	0	2
Celkem	3	3	0	4	1	2
Celkový počet kolonií	3	3	1	4	1	2



Graf 2. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny brokolice po 7 dnech.



Obrázek 3. 3. Semena brokolice ošetřená plazmou po dobu 5 minut.



Obrázek 3. 4. Semena brokolice ošetřená plazmou po dobu 6 minut.

3.1.3 Řeřicha

Semena ošetřená plazmou 4 minuty měla jako jediná na Petriho miskách houbovou kolonii. Po jedné bakteriální kolonii se objevilo na miskách se semeny ošetřených plazmou 4, 6 a 7 minut. Kolonie se vyskytovaly v oblasti klíčících semen.

Tabulka 5. Počet mikroorganismů u semen řeřichy 7.den

Houbová kontaminace	Bez ošetření	Ošetření 4 minuty	Ošetření 5 minut	Ošetření 6 minut	Ošetření 7 minut	Ošetření 8 minut
počet kolonií na 1 misce	0	1	0	0	0	0
počet kolonií na 2 misce	0	0	0	0	0	0
Celkem	0	1	0	0	0	0
Bakterie						
počet kolonií na 1 misce	0	0	0	0	1	0
počet kolonií na 2 misce	0	1	0	1	0	0
Celkem	0	1	0	1	1	0
Celkový počet kolonií	0	2	0	1	1	0



Graf 3. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny řěřichy po 7 dnech.



Obrázek 3. 5. Řěřicha ošetřená plazmou po dobu 4 minut.



Obrázek 3. 6. Řeřicha ošetřená plazmou po dobu 6 minut.

3.1.4 Ředkvička

V důsledku uvolnění parafilmu došlo ke kontaminaci 3 Petriho misek, jejich hodnoty tedy nelze považovat za přesné. Je zvláštní, že houbová kontaminace se nacházela na kořínkách a nešířila se na agar. V případě hub lze říct, že pochází zevnitř semen. Kolonie bakterií se vyskytly u všech skupin. Tyto kolonie by mohly pocházet z povrchu semene. Jelikož ředkvička má drsnou povrchovou strukturu, která může chránit mikroorganismy před zásahem plazmy.

Tabulka 6. Počet mikroorganismů u semen ředkvičky 7.den.

Houbová kontaminace*	Bez ošetření	Ošetření 4 minuty	Ošetření 5 minut	Ošetření 6 minut	Ošetření 7 minut	Ošetření 8 minut
počet kolonií na 1 misce	3	0**	2	1	0**	2
počet kolonií na 2 misce	4	0**	1	3	3	4
Celkem	7	0	3	4	3	6
Bakterie						
počet kolonií na 1 misce	7	5**	9	8	4**	8
počet kolonií na 2 misce	10	5**	7	9	7	6
Celkem	17	10	16	17	11	14
Celkový počet kolonií	24	10	19	21	14	20

*Houbová kontaminace na kořínku ne na agaru.

** Kontaminované misky.



Graf 4. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny ředkvičky po 7 dnech.



Obrázek 3. 7. Semena ředkvičky ošetřená plazmou po dobu 5 minut.



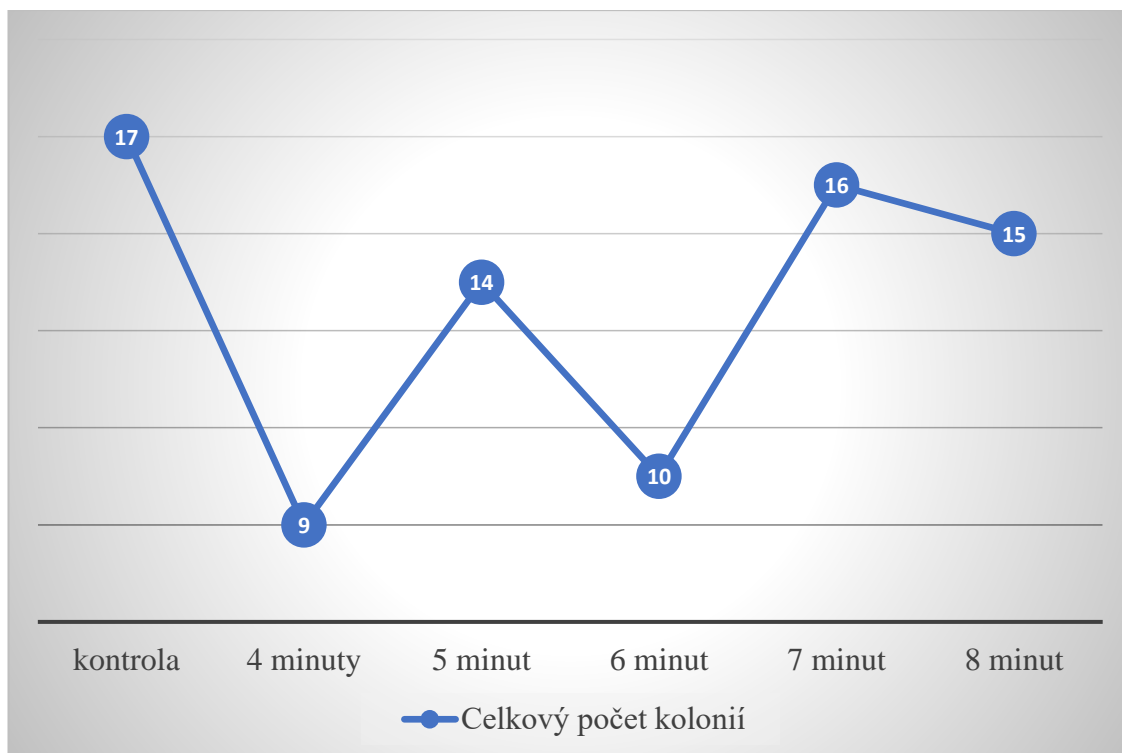
Obrázek 3. 8. Semena ředkvičky ošetřená plazmou po dobu 7 minut.

3.1.5 Ječmen mladý

Plazmové ošetření nemělo vliv na výskyt kolonií hub a bakterií. Nelze přesně určit, zda kontaminace pochází zevnitř nebo z povrchu semene. Většinou se na každé misce vyskytla jedna houbová kolonie. U jedné Petriho misky možná došlo ke kontaminaci, jelikož se 3 kolonie nacházely mimo oblast semen. Bakteriální kontaminace podle barvy kolonií má minimálně dva různé původce. Mikroorganismy mohly zůstat nezasaženy plazmou jak uvnitř semen, tak na povrchu chráněné povrchovou strukturou.

Tabulka 7. Počet mikroorganismů u semen ječmene mladého 7.den.

Houbová kontaminace	Bez ošetření	Ošetření 4 minuty	Ošetření 5 minut	Ošetření 6 minut	Ošetření 7 minut	Ošetření 8 minut
počet kolonií na 1 misce	1	0	3	1	0	1
počet kolonií na 2 misce	1	2	1	1	0	1
Celkem	2	2	4	2	0	2
Bakterie						
počet kolonií na 1 misce	6	4	5	5	2	0
počet kolonií na 2 misce	9	3	5	3	14	13
Celkem	15	7	10	8	16	13
Celkový počet kolonií	17	9	14	10	16	15



Graf 5. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny ječmene mladého po 7 dnech.



Obrázek 3. 9. Ječmen ošetřený plazmou po dobu 7 minut.



Obrázek 3. 10. Ječmen ošetřený plazmou po dobu 8 minut.

3.2 Vyhodnocení růstu

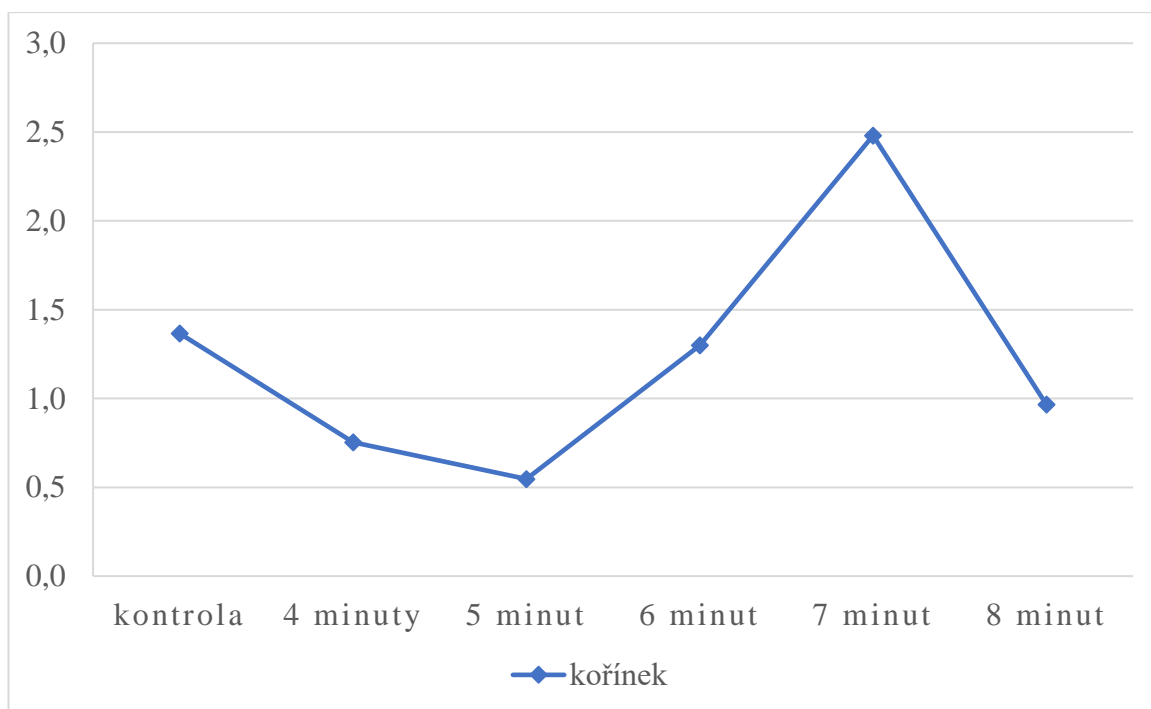
3.2.1 Fazole mungo

Semena fazole mungo ošetřená plazmou 7 minut jako jediná vykazují zlepšení růstu ve srovnání s kontrolní skupinou. Pouze tato semena začala tvořit klíčky. Kořínky v porovnání s neošetřenými semeny byly o 29 % delší osmý den a o 45 % den dvanáctý. Ostatní plazmové ošetření mělo za následek zkrácení kořínků v rozmezí od 19 % při 6 minutách do 67 % při 5 minutách osmého dne. Dvanáctý den byl rozdíl od 5 % po 6minutovém ošetření do 60 % u 5minutového. Celkově se index klíčivosti rovná 0, kromě semen vystavených 7 minut plazmě. Index osmého dne u kořínků je oproti kontrole s hodnotou 1,33 dle očekávání nejlepší při ošetření 7 minut, kdy je index 1,8. Překvapivě kontrolu přesahuje i 8minutové ošetření s indexem 1,4. Naopak nejnižší index je 0,66 po 5minutovém plazmovém působení. Den dvanáctý dosahoval index kontroly 1,73 tomu odpovídá i 6minutové ošetření. Nejmenší index má opět 5minutové ošetření s hodnotou 0,93. Nejvyšší index je 1,86 po 7minutovém plazmovém ošetření. Na růst kořínků i klíčků mělo nejefektivnější vliv ošetření plazmou po dobu 7 minut.

Tabulka 8. Vyhodnocení růstu u semen fazole mungo.

	Den měření	Klíček		Kořínek		R/S (cm)
		index	délka (cm)	index	délka (cm)	
Bez ošetření	8.den	0	0	1,333	0,967	nehodnoceno*
	12.den	0	0	1,733	1,367	nehodnoceno*
Ošetření 4 minuty	8.den	0	0	1,000	0,480	nehodnoceno*
	12.den	0	0	1,267	0,753	nehodnoceno*
Ošetření 5 minut	8.den	0	0	0,667	0,320	nehodnoceno*
	12.den	0	0	0,933	0,547	nehodnoceno*
Ošetření 6 minut	8.den	0	0	1,267	0,780	nehodnoceno*
	12.den	0	0	1,733	1,300	nehodnoceno*
Ošetření 7 minut	8.den	0	0	1,8	1,367	nehodnoceno*
	12.den	0,333	0,213	1,867	2,480	11,625
Ošetření 8 minut	8.den	0	0	1,4	0,747	nehodnoceno*
	12.den	0	0	1,667	0,967	nehodnoceno*

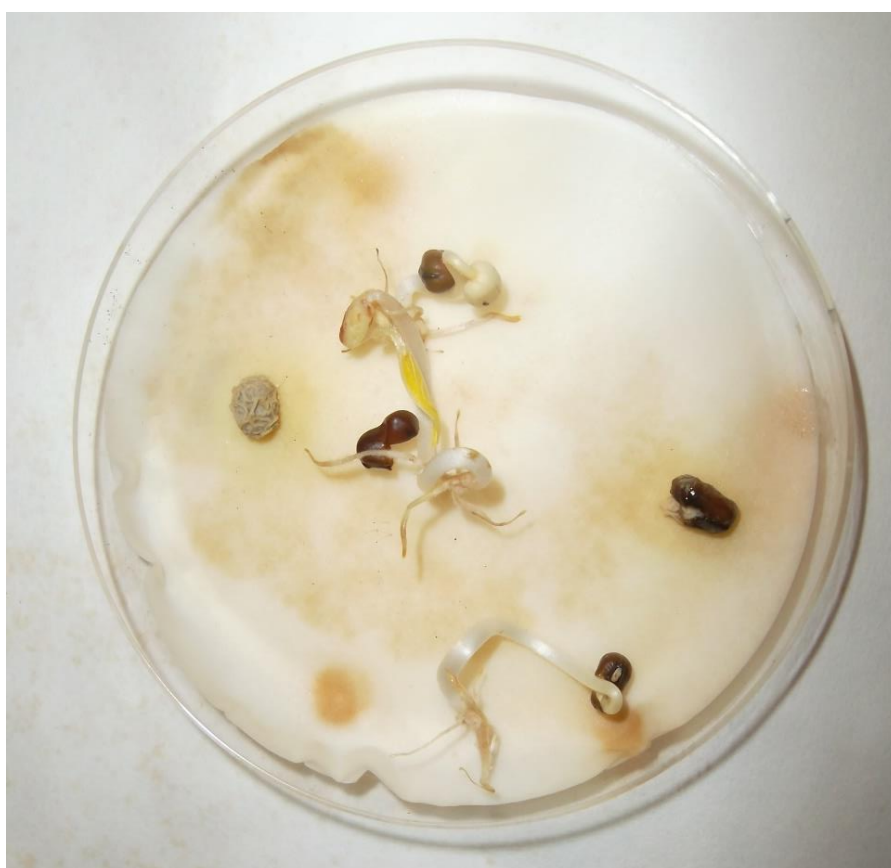
*Nebyl možný výpočet R/S, jelikož semena měla pouze kořínek.



Graf 6. Dvanáctý den klíčení fazole mungo.



Obrázek 3. 11. Fazole mungo 12.den.



Obrázek 3. 12. Fazole mungo 12.den ošetřené 7 minut plazmou.

3.2.2 Brokolice

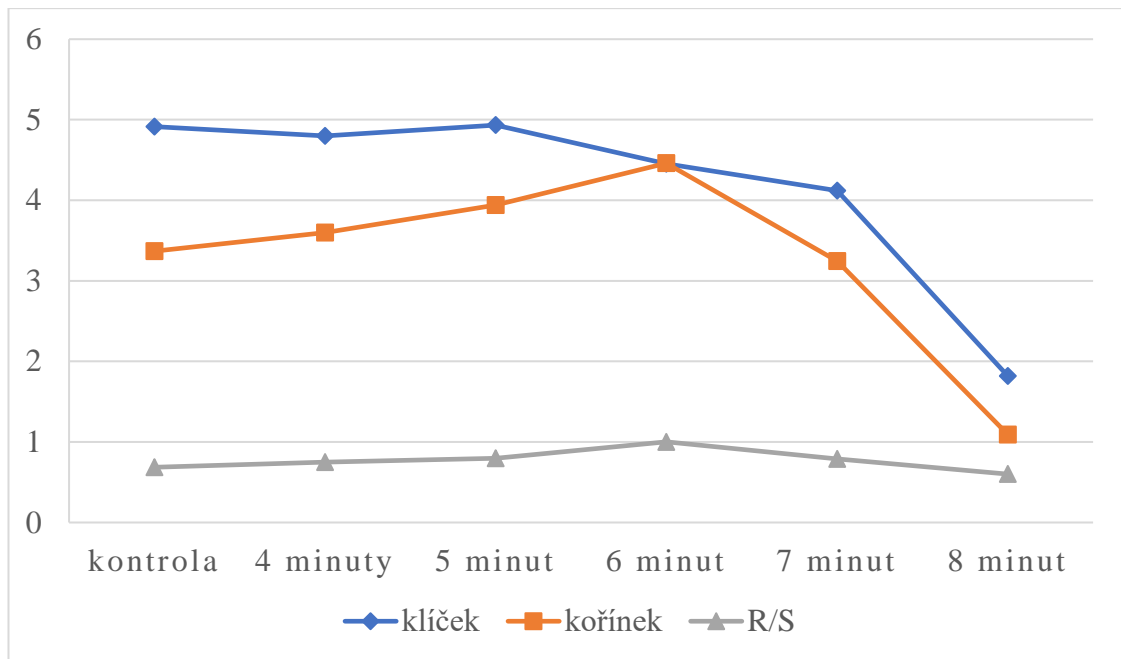
Klíček semene brokolice po 8 dnech byl nejdelší u semen bez ošetření. Při 7minutovém ošetření došlo ke zkrácení o 13 % a nejvíce o 43 % za plazmového ošetření po 6 minut. Indexové hodnocení u neošetřených semen je 3,73, proti tomu jsou lepší semena ošetřená 5 a 6 minut s indexem 4 a 3,8. Ostatní s menším indexem, nejméně mělo 7minutové ošetření 3,13. Po dvanácti dnech došlo oproti kontrole k nárůstu klíčku o 0,5 % u 5minutového ošetření. Největší propad má 8 minut o 63 %. Index kontrolních klíčků po 12 dnech je 3,93. Dále zůstává index 4 u 5 a navíc 6 minut. Nejméně 8 minut s indexem 3,2.

Oproti délce kořínku po 8 dnech bylo horší pouze ošetření plazmou 8 minut s propadem o 53 %. Největší nárůst měla semena ošetřená 5 minut a to o 19 %. Index kořínku neošetřených semen a ošetřených po dobu 5 a 6 minut se rovná 3,73. Zbytek má menší hodnocení a 7minutové ošetření pouze 2,87. Den dvanáctý ve srovnání s kontrolní skupinou byl nejmenší nárůst kořínků u 7 minut a u 8 minut jsou kořínky kratší o 69 %. Delší kořínky o 25 % byly u 6minutového plazmového ošetření. U kontrolních semen zůstává index dvanáctý den stejný. Indexového hodnocení 4 dosáhla semena ošetřená 5 a 6 minut. Ostatní semena mají menší hodnocení oproti kontrole, 7 a 8minutové ošetření s nejnižším indexem 3,2.

Nejmenší poměr mezi kořínkem a nadzemní částí mělo 8minutové ošetření, naopak 6minutové má tento poměr největší. Z hlediska růstu se jeví jako nejlepší 5 a 6minutové ošetření. Při delším vystavení plazmě už dochází ke zpomalení vývoje.

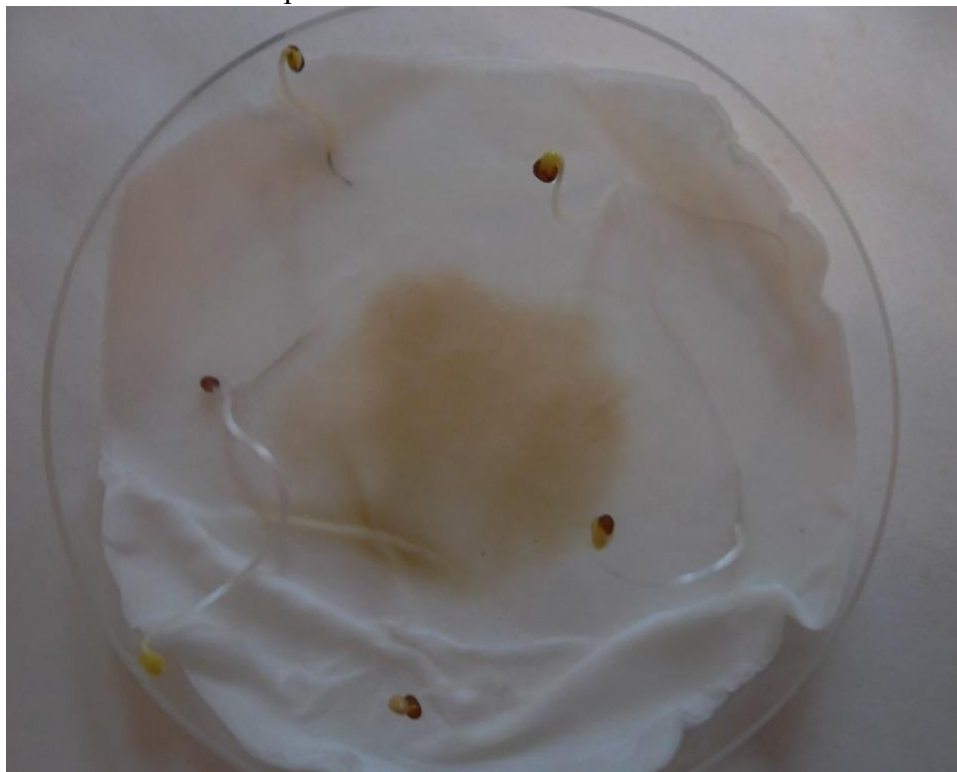
Tabulka 9. Vyhodnocení růstu u semen brokolice.

	Den měření	Klíček		Kořínek		R/S (cm)
		index	délka (cm)	index	délka (cm)	
Bez ošetření	8.den	3,733	2,487	3,733	2,253	0,906
	12.den	3,933	4,913	3,733	3,367	0,685
Ošetření 4 minuty	8.den	3,533	1,96	3,6	2,367	1,207
	12.den	3,733	4,8	3,667	3,600	0,750
Ošetření 5 minut	8.den	4,000	1,92	3,733	2,773	1,444
	12.den	4,000	4,933	4	3,940	0,799
Ošetření 6 minut	8.den	3,800	1,42	3,733	2,340	1,648
	12.den	4,000	4,453	4	4,460	1,001
Ošetření 7 minut	8.den	3,133	2,153	2,867	2,453	1,139
	12.den	3,333	4,12	3,2	3,247	0,788
Ošetření 8 minut	8.den	3,200	1,607	3,2	1,053	0,656
	12.den	3,200	1,82	3,2	1,080	0,593

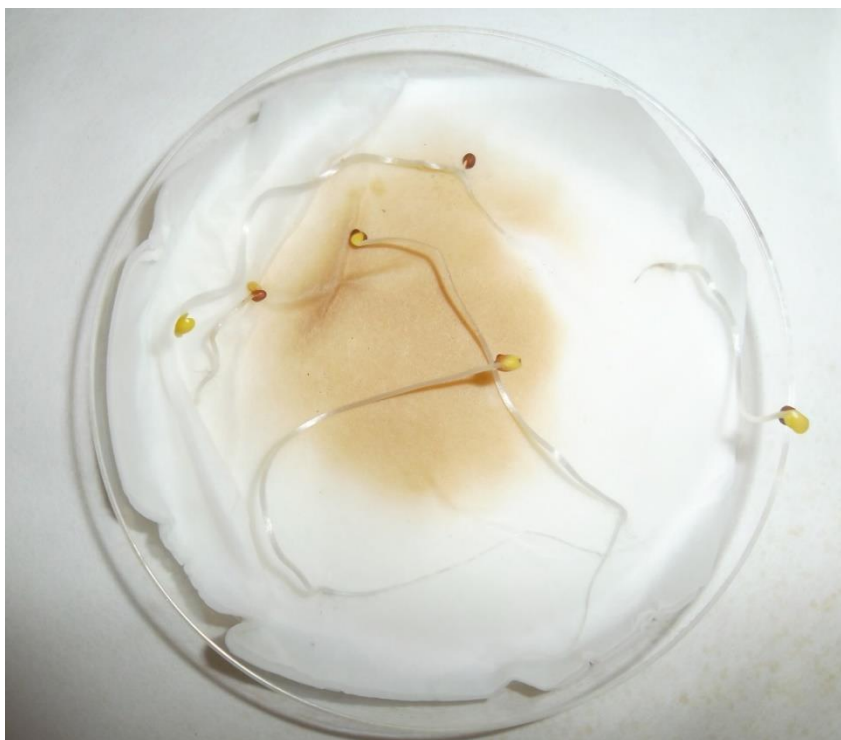


Graf 7. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení brokolice.

Je zde vidět postupné prodlužování délky kořínků do 6 minut a poté výrazné zhoršení růstu. Ke zpomalení růstu klíčku dochází v 6 minutě.



Obrázek 3. 13. Brokolice 8.den.



Obrázek 3. 14. Brokolice 12.den.

3.2.3 Řeřicha

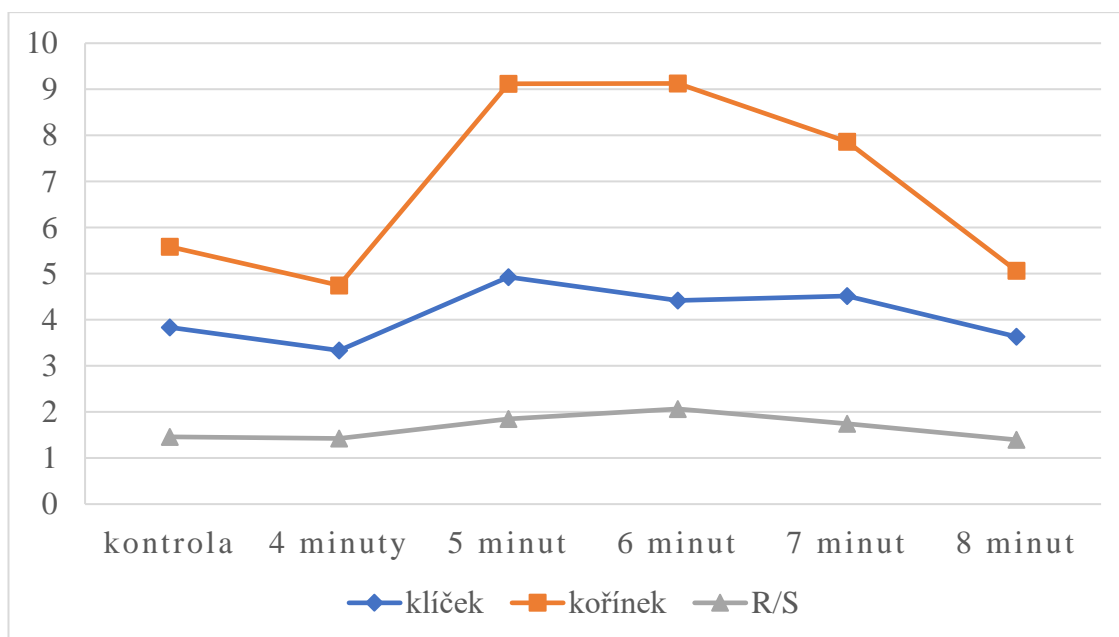
Délka klíčků ošetřených semen 5 minutami byla o 10 % větší než neošetřených. Ostatní skupiny byly kratší nejvíce o 19 % při 6minutovém vystavení plazmě. Největší index 3,93 mají semena ošetřená 5 minut. Kontrolní skupina s 3,8 a nejméně 4 minutově ošetřená semena s indexem 3. Po dvanácti dnech zůstává index kontroly stejný a 5minutová semena se dostávají na 4. Nejmenší zůstávají 4 minuty s indexem 3,3. Klíčky ošetřené 5, 6 a 7 minut přerůstají kontrolu, v případě 5 minut o 22 %. Naopak 8 a 4 minuty zůstávají až o 13 % kratší než kontrola.

Oproti délce kontrolních kořínků osmý den je pouze 4minutové ošetření o 12 % kratší. Největší nárůst vykazuje 6minutové ošetření delší o 36 %. Nejmenší index mají semena ošetřená plazmou po dobu 4 minut a to 3,13 oproti kontrole 3,63. Index 4 je vlastní 5 minutám. Po dvanácti dnech zůstávají indexy stejné. Semena ošetřená 4 minuty jsou už o 18 % kratší než kontrola a 8minutové ošetření též kratší. Nejdelší zůstávají kořínky semen ošetřených 6 minutami a to o 39 % oproti kontrolním semenům.

Nejmenší poměr mezi kořínkem a klíčkem osmý den mají semena ošetřená 4 minuty a dvanáctý den semena vystavená plazmě 8 minut. Největší poměr osmý i dvanáctý den mají semena vystavená plazmě 6 minut. Nejlepší vliv na růst mělo 5minutové a z části i 6minutové ošetření. Nejhůře dopadla semena vystavená plazmě 4 minuty.

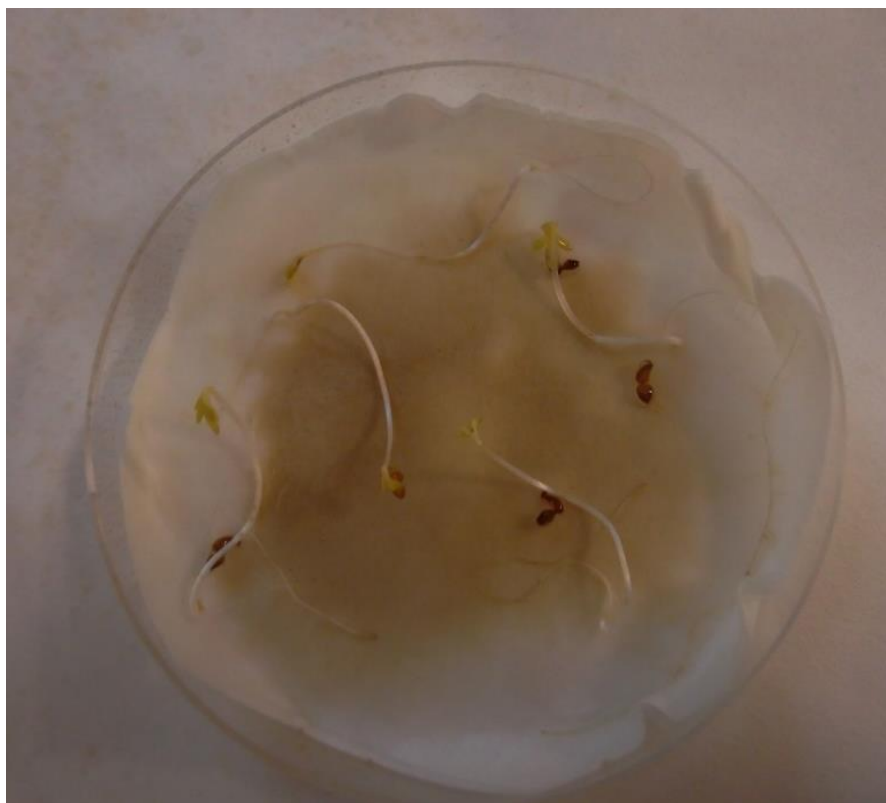
Tabulka 10. Vyhodnocení růstu u semen řeřichy.

	Den měření	Klíček		Kořínek		R/S (cm)
		index	délka (cm)	index	délka (cm)	
Bez ošetření	8.den	3,800	2,52	3,733	3,633	1,442
	12.den	3,800	3,833	3,733	5,587	1,457
Ošetření 4 minuty	8.den	3,000	2,227	3,133	3,213	1,443
	12.den	3,333	3,333	3,133	4,747	1,424
Ošetření 5 minut	8.den	3,933	2,8	4	5,567	1,988
	12.den	4,000	4,927	4	9,120	1,851
Ošetření 6 minut	8.den	3,667	2,053	3,733	5,667	2,760
	12.den	3,733	4,42	3,733	9,127	2,065
Ošetření 7 minut	8.den	3,733	2,253	3,733	5,153	2,287
	12.den	3,733	4,513	3,733	7,860	1,742
Ošetření 8 minut	8.den	3,600	2,453	3,267	3,987	1,625
	12.den	3,600	3,633	3,267	5,067	1,394



Graf 8. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení řeřichy.

V 5 a 6minutách dochází k výraznému prodloužení kořínků, poté se délka zkracuje. Klíček je nejdelší v 6 minutě.



Obrázek 3. 15. Řeřicha 12.den.



Obrázek 3. 16. Řeřicha 12.den ošetřená 8 minut plazmou.

3.2.4 Ředkvička

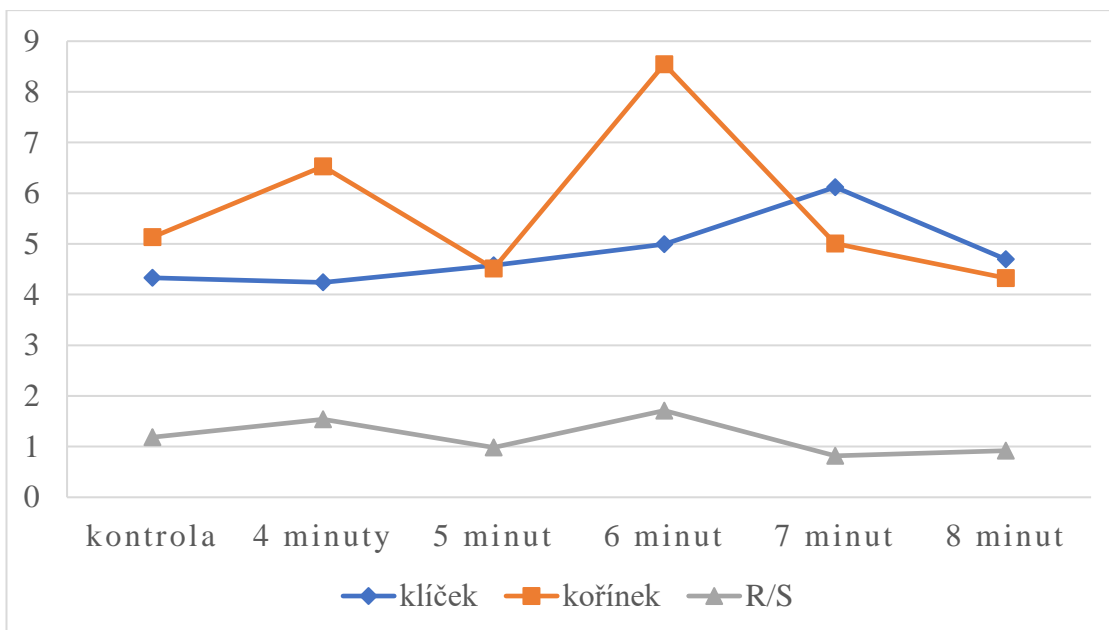
Po osmy dnech bylo oproti kontrole horší klíčení pouze semen ošetřených 5 minutami a to o 8 %. Nejlepší nárůst o 31 % měla semena ošetřená 7 minutami. Index klíčení u kontrolních semen je 3,27. Nižší hodnoty u 5minutového a 8minutového ošetření. Nejlepší index je 3,7 při 6minutovém ošetření. Dnem dvanáctým se stávají nejkratšími klíčky o 2 % semena ošetřená 4 minutami. Zbylá ošetřená semena jsou delší než kontrolní skupina a nejvíce v případě 7 minut o 29 %. Z hlediska indexu je menší pouze 8minutové ošetření oproti kontrole s indexem 3,47 jen 3,27. Indexového hodnocení 4 dosáhly semena s 6minutovým plazmovým ošetřením.

Nejdelší délka kořínků osmý den byla u semen ošetřených 7 minutami o 6 % ve srovnání s kontrolními semeny. Menší nárůst než kontrola mělo 5 a 8minutové ošetření s poklesem o 30 %. Podle indexu 3 je horší pouze 8minutové ošetření. Kontrolní skupina semen má indexové hodnocení 3,27. Překvapivě největší index 3,47 má 5minutové ošetření společně se 4 minutami. Den dvanáctý zůstaly lepší než kontrola semena ošetřená 4 a 6 minut skoro o 40 %. Semeny s nejkratšími kořínky zůstává 8minutové ošetření s rozdílem 16 %. Proti kontrolnímu indexu 3,37 je menší pouze index 3,07, který má 8minutové plazmové ošetření semen. Indexu 4 dosahuje 6 minut.

Největší poměr kořínků a klíčků 8 den má 5 minut a nejnižší 8 minut. U dvanáctého dne je 6minutové ošetření s největším poměrem a 7minutové s nejmenším. V průměru nejlépe rostla semena ošetřená plazmou po dobu 6 minut. U 7minutového ošetření ještě lze pozorovat zlepšení ale u 8 minut už dochází ke zhoršení růstu.

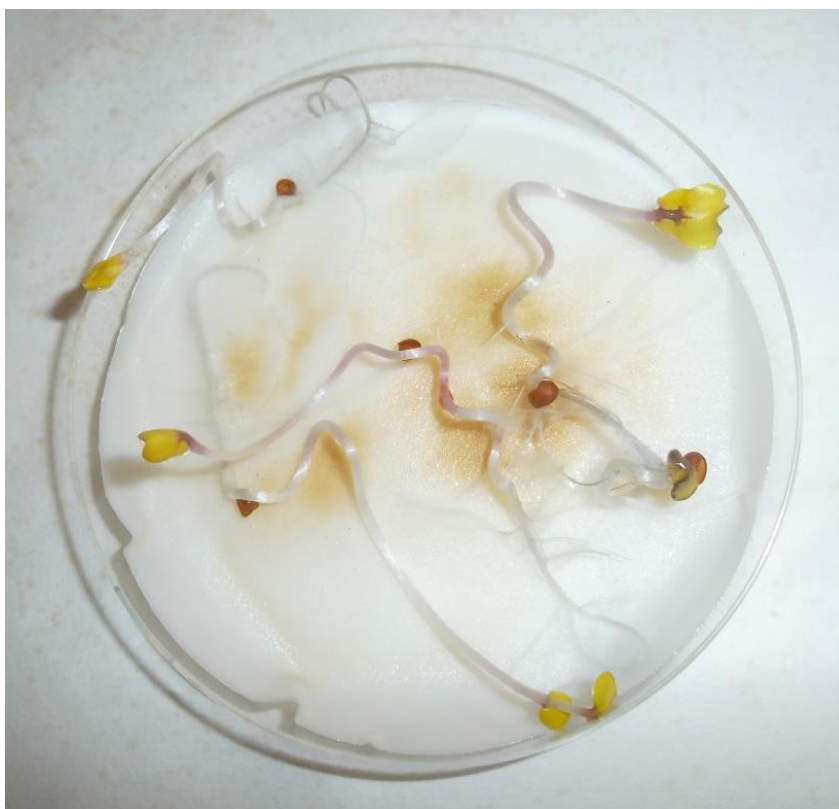
Tabulka 11. Vyhodnocení růstu u semen ředkvičky.

	Den měření	Klíček		Kořínek		R/S (cm)
		index	Délka (cm)	index	Délka (cm)	
Bez ošetření	8.den	3,267	2,033	3,267	3,000	1,475
	12.den	3,467	4,333	3,367	5,133	1,185
Ošetření 4 minuty	8.den	3,367	2,167	3,467	3,133	1,446
	12.den	3,567	4,24	3,733	6,527	1,539
Ošetření 5 minut	8.den	3,167	1,867	3,467	2,867	1,536
	12.den	3,533	4,58	3,533	4,513	0,945
Ošetření 6 minut	8.den	3,700	2,367	3,4	3,153	1,332
	12.den	4,000	4,993	4	8,547	1,712
Ošetření 7 minut	8.den	3,533	2,933	3,333	3,200	1,091
	12.den	3,733	6,12	3,733	5,007	0,818
Ošetření 8 minut	8.den	2,867	2,247	3	2,087	0,929
	12.den	3,267	4,7	3,067	4,327	0,921

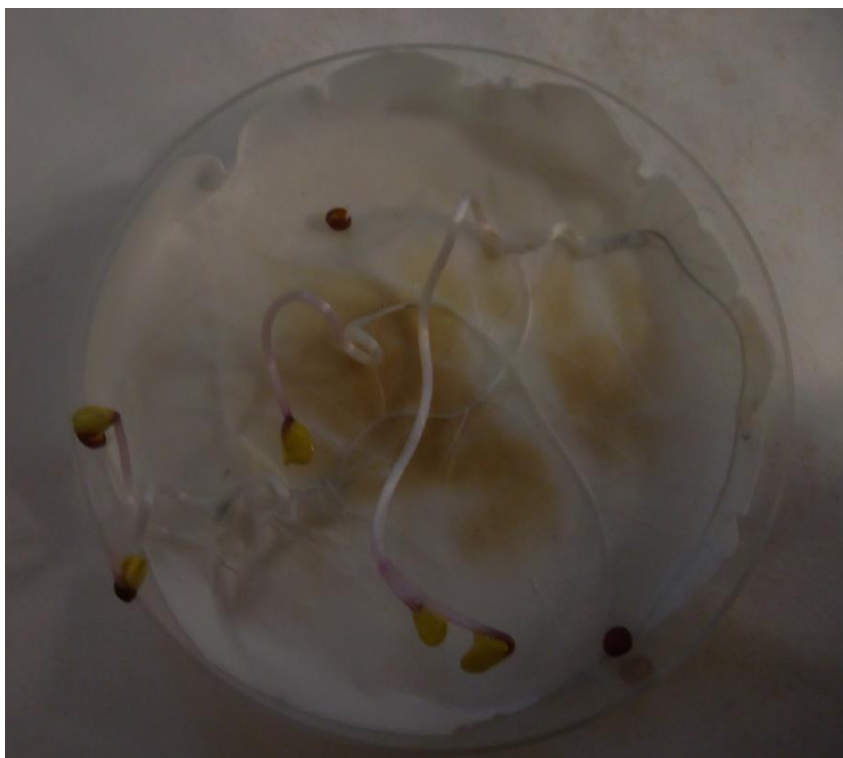


Graf 9. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení ředkvičky.

Nejdelší koříněk byl v 6 minutě a klíček v 7 minutě.



Obrázek 3. 17. Ředkvička 12.den ošetřená 7 minut plazmou.



Obrázek 3. 18. Ředkvička 12.den.

3.2.5 Ječmen mladý

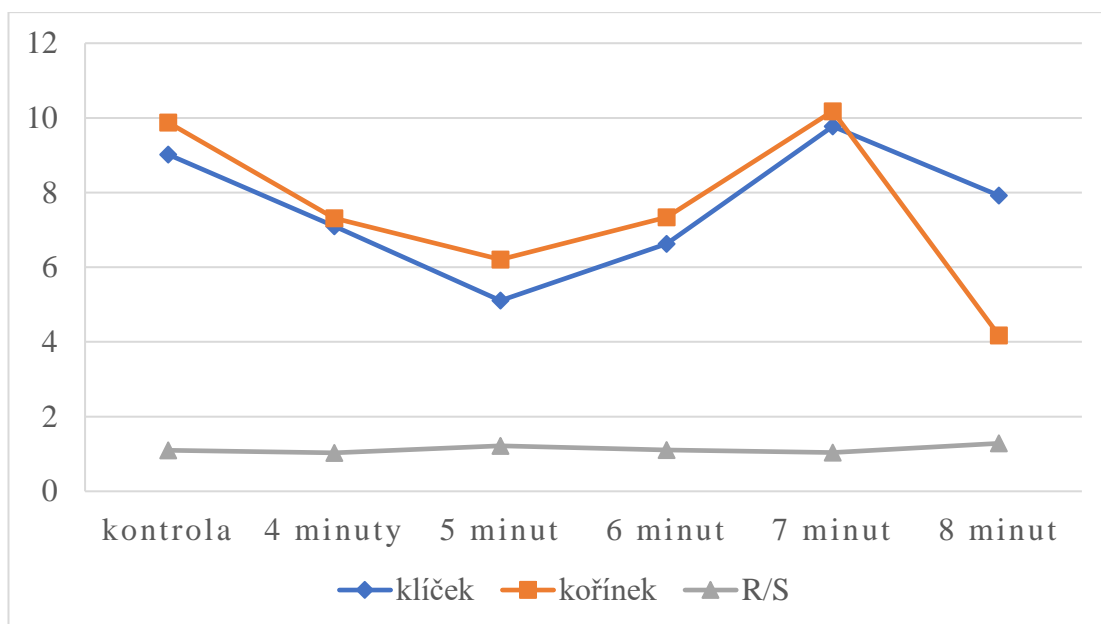
Kontrolní neošetřená skupina semen měla index klíčku 2,53 osmý den a 3,22 den dvanáctý. Všechna ošetřená semena jsou s horším indexem. Nejméně 5minutové ošetření s hodnotou 1,5 osmý den a 1,67 den dvanáctý. Délce klíčku kontrolních semen se rovnala semena ošetřená plazmou 4 minuty pouze osmý den. Klíčky semen se 7minutovým ošetřením přerostly kontrolní skupinu osmý den o 27 % a dvanáctý den o 8 %. Ze zbylých ošetřených semen bylo nejhorší 5minutové vystavení plazmě. Kdy osmý i dvanáctý den byly klíčky kratší o 43 % ve srovnání s kontrolní skupinou.

V případě indexu kořínků také dochází ke zhoršení hodnocení oproti semenům bez ošetření plazmou, kdy index byl osmý den 2,72 a dvanáctý den 3,17. Opět 5minutové ošetření má nejhorší výsledky, a to osmý den 1,8 a dvanáctý den 2,13. Delší kořínky, než kontrolní semena jsou osmý den u 7minutového ošetření o 5 %. Den dvanáctý je zlepšení už jen o 3 % a zároveň došlo i k prodloužení 8minutových semen. Naopak největší pokles je u 5minutového ošetření a to o 37 % u obou měření.

Poměr mezi kořínkem a klíčkem je nejmenší u semen po 7minutovém ošetření. Den osmý je poměr největší u 5minutového ošetření a dvanáctý den u 8minutového. Celkově lze říct, že plazmové ošetření má negativní vliv na vývoj klíčků. Délku kořínků podpořilo 7minutové plazmové ošetření, ale nezlepšilo index. Nejhůře ovlivnilo vývoj semene 5minutové plazmové ošetření.

Tabulka 12. Vyhodnocení růstu u semen ječmene mladého.

	Den měření	Klíček		Kořínek		R/S (cm)
		index	délka (cm)	index	délka (cm)	
Bez ošetření	8.den	2,533	3,495	2,717	4,723	1,351
	12.den	3,217	9,023	3,167	9,88	1,095
Ošetření 4 minuty	8.den	2,133	3,5	2,3	3,927	1,122
	12.den	2,400	7,100	2,533	7,313	1,030
Ošetření 5 minut	8.den	1,5	1,993	1,8	2,96	1,485
	12.den	1,667	5,107	2,133	6,207	1,215
Ošetření 6 minut	8.den	2	2,407	2,1	3,14	1,305
	12.den	2,333	6,627	2,633	7,340	1,108
Ošetření 7 minut	8.den	2,267	4,813	2,433	4,953	1,029
	12.den	2,633	9,773	2,667	10,180	1,042
Ošetření 8 minut	8.den	2,167	3,193	2,433	4,067	1,273
	12.den	2,733	7,920	2,933	10,167	1,284



Graf 10. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení ječmene mladého.

Zde je vidět mírné zlepšení délky kořínku a klíčku v 7 minutách. Ostatní časy vykazují zpomalení růstu.



Obrázek 3. 19. Ječmen mladý 8.den ošetření 7 minut plazmou.



Obrázek 3. 20. Ječmen mladý 12.den ošetření 7 minut plazmou.

4. Diskuse

Zahoranová et al. (2018) uvádí prospěšnost plazmové povrchové úpravy u biotechnologií i v medicíně. Plazma je schopná eliminovat toxické a agresivní chemické látky na jakémkoli povrchu. Nízkoteplotní plazma sestává z částic, které nejsou v kinetické rovnováze, a proto je jejich teplota nízká. Z tohoto důvodu je nízkoteplotní plazma vhodná k ošetření termosenzitivních a biologických materiálů, kdy nedochází k jejich poškození. Je spoustu možných způsobů použití plazmy v ekologickém i konvenčním zemědělství. Konvenční zemědělství má výhodu v tom, že plazmové ošetření může kombinovat s chemickou ochranou. Ekologické zemědělství se potřebuje spolehnout na zvolený způsob použití plazmy. Ke generaci plazmy je možné použít vakuovou komoru, zařízení pracující za atmosférického tlaku nebo různé výboje jako je koronový výboj a dielektrický bariérový výboj. Účinnost plazmového ošetření lze ovlivnit konfigurací výboje, napájením či pracovním plynem. Je potřeba všechny možnosti vyzkoušet a najít nejlepší kombinaci k použití na raw potraviny.

Zdá se, že plazmové ošetření fazolí mungo nemělo vliv na mikroorganismy nacházející se uvnitř semene. Takovéto zjištění se shoduje s výsledky jiných publikací například Butscher et al. (2016), kde je poukazováno na neprůchodnost plazmy obalovou vrstvou semen. Pokud bychom chtěli podpořit růst kořínků a klíčků u fazolí mungo, pak je možné použít 7minutové plazmové ošetření. Fazole mungo mají silnou obalovou vrstvu, mohlo dojít ke změně povrchové struktury semene proudem iontů a radikálů, které vyvolávají oxidační procesy. Tím je možné rychlejší pronikání vody a je umožněn rychlejší počáteční vývoj semen.

U brokolice se významně neprojevil účinek plazmy na likvidaci mikroorganismů. Je možné, že mají povrchovou strukturu, která poskytuje úkryt mikroorganismům před plazmou, jak zmiňuje Butscher et al. (2016) ve své práci. Z hlediska podpory růstu klíčků a kořínků bylo účinné 5 a 6minutové vakuové plazmové ošetření. Kim et al. (2017) použil na semena brokolice koronový výboj. Po takovémto způsobu ošetření dochází k velkému narušení semene oxidačními procesy a tím ke zhoršení růstu. Naopak vakuová plazma je k povrchu semene šetrnější.

Semena ředkvičky mají hladký povrch, který je ideální k likvidaci mikroorganismů plazmou dle studie Butscher et al. (2016). Také popisuje snížení mikroorganismů při použití dielektrického bariérového výboje. Bohužel podle výsledků vakuová plazma nemá dostatečný inhibiční účinek na mikroorganismy. Pozitivní vliv na růst kořínků a klíčků má ošetření vakuovou plazmou po dobu 5 minut a z části i 6 minut. Butscher et al. (2016) také uvádí pozitivní vliv na růst při 5 minutách.

Zničení mikroorganismů plazmou brání povrchová struktura semen ředkvičky. Zároveň není plazma schopná proniknout dovnitř semene, jak je uvedeno v práci Butscher et al. (2016). Tyto skutečnosti se projeví u sledovaných semen, kde vliv vakuové plazmy nedosáhl požadovaného efektu. Naopak má vakuová plazma pozitivní účinek na rychlejší růst klíčků a kořínků ředkvičky. Nejlepší růst byl pozorován u semen vystavené plazmě 6 minut. V práci Butscher et al. (2016) je pozitivní vliv na růst podobný, při použití dielektrického bariérového výboje dochází ke zlepšení růstu po 5minutové ošetření.

Plazmové ošetření nemělo efekt na výskyt mikroorganismů u klíčícího ječmene mladého. Mikroorganismy zůstaly chráněné před plazmou povrchovými strukturami a uvnitř semen, takovéto zjištění souhlasí se studií Butscher et al. (2016). U ošetřených semen došlo k celkovému zhoršení růstu. Z těchto důvodů se vakuová plazma jako druh fyzikálního ošetření nehodí k použití na semena ječmene. Bylo by vhodné vyzkoušet vliv jiných dostupných metod plazmového ošetření.

Zahoranová et al. (2018) ve své studii sledovala vliv nízkoteplotní plazmy na semena kukuřice určené pro zemědělské použití. Ukázalo se, že je potřebné ošetření 1 minutu, aby došlo k úplné devitalizaci vyskytujících se bakterií a 3 minuty v případě vláknitých hub. Na klíčení mělo pozitivní vliv ošetření 1 minutu, od 3 minut dochází ke zhoršení růstu semen kukuřice. Tento způsob ošetření semen byl efektivnější v likvidaci mikroorganismů oproti vakuovému ošetření, kdy se účinek na mikroorganismy nepodařilo prokázat. Naopak kromě semen ječmene mladého byla semena fazolí mungo, brokolice, řeřichy a ředkvičky z hlediska rychlosti růstu tolerantnější k delšímu vystavení plazmě.

Roy et al. (2018) použil k ošetření semen pšenice určených pro zemědělské využití atmosférickou plazmu. Semena pšenice byla vystavena plazmě 3, 6, 9, 12 a 15 minut. Za sledování vlivu použití tří druhů plynného složení $H_2O/vzduch$, H_2O/O_2 a $H_2O/O_2/vzduch$. Zjistili, že použití plazmy $H_2O/O_2/vzduch$ je nejúčinnější pro zvýšení klíčivosti a nejvyšší rychlost klíčení nastává po vystavení klouzavému obloukovému výboji H_2O/O_2 a $H_2O/O_2/vzduch$ 3 a 6 minut. V případě vakuového ošetření byl jako plyn použit pouze vzduch. V porovnání se semeny ječmene mladého nebyly pozitivní účinky plazmy na rychlost klíčení potvrzeny. Naopak dochází ke zpomalení klíčení oproti neošetřeným semenům. U plazmového ošetření semen fazolí mungo, brokolice, řeřichy a ředkvičky se dá říct, že se pozitivní účinek na rychlejší růst byl v rozmezí 6 minut jako v případě použití atmosférické plazmy. Přesněji se u vakuového systému pozitivní vliv pohyboval od 5 do 7 minut. Zmíněná studie se nezaměřila na sledování mikroorganismů.

Butscher et al. (2016) uvedl studii zaměřenou na vliv dielektrického bariérového výboje použitého na semena pro zemědělské využití. Poukazuje na ovlivnění účinku plazmy povrchem semen. Zvýšená složitost povrchu vede ke snížení účinnosti inaktivace plazmy. Výsledky ukázaly zlepšení klíčivosti při 5minutovém ošetření 10 kHz a 6 kV. Experimenty s dekontaminací plazmy naznačují, že mohou být vytvořeny podmínky, které povedou k likvidaci všech mikroorganismů. V této studii byl sledován úbytek mikroorganismů při použití plazmového ošetření oproti neošetřeným semenům. U použití vakuového systému na rozdíl od dielektrického bariérového výboje nebyl pozorován úbytek mikroorganismů. Kromě semen ječmene mladého bylo ke zlepšení růstu fazole mungo, brokolice, řeřichy a ředkvičky zapotřebí spíše delší vystavení plazmě od 5 do 7 minut. Celkově se dá říct, že dielektrický bariérový výboj je lepší volbou k ošetření semen určených k živé stravě, než vakuová plazma.

Kim et al. (2017) při své studii prokázal, že počty mikroorganismů na klíčcích ze semen ošetřených koronovým výbojem jsou výrazně nižší než na neošetřených. To potvrzuje silný baktericidní účinek výboje korony ve vzduchu. Se zvyšující dobou působení plazmy na semena brokolice byl zaznamenán vyšší pokles přeživších mikroorganismů. Nejlepší rychlost klíčení měla semena vystavená plazmě pouze 1

minutu, od 3 minut nastává významný pokles rychlosti klíčení. V porovnání se semeny brokolice ošetřené plazmou ve vakuovém systému je zřejmá větší účinnost koronového vývoje na usmrcení mikroorganismů. Naopak semena brokolice vystavená vakuovému ošetření vydrží delší dobu působení plazmy a dochází ke zlepšování růstu až do 6 minut. Semena brokolice použítá v obou pracích byla určena k živé stravě.

Závěr

Z hlediska lidské výživy jsou klíčky a výhonky jako zdroj raw stravy perspektivní potravinou. Na zpracování klíčků a výhonků spotřebuje lidské tělo mnohem méně vlastních enzymů a energie než na potraviny tepelně upravené. Jsou dobrým zdrojem vitamínů, minerálních látek, vlákniny, proteinů a lipidů z nutričního hlediska velmi významných. Konkrétní obsah nutričních látek se liší podle druhu semen. Každý si tedy může vybrat semena, která se hodí pro jeho vlastní nutriční potřebu.

Tato práce potvrzuje, že problematika získávání semen prostých mikrobiální kontaminace není stále dostatečně realizovatelná. Způsob plazmového ošetření zvolený v této práci nebyl pro mikroorganismy dostatečně letální. Potvrdilo se tvrzení některých vědeckých publikací, kde se upozorňuje na přežívání mikroorganismů uvnitř semen. Také je zde možné pozorovat vliv různých povrchových struktur semen. Čím je semenný obal členitější tím je větší pravděpodobnost že plazma nezasáhne celý povrch semene. Pak snadno dochází k přežití mikroorganismů, které jsou skryté před plazmou díky struktuře semen. Dále vyvstává otázka použití této metody z hlediska působení na vývoj semen. Na každé semeno zvolené v této práci plazma působila jiným způsobem. U semen ječmene mladého dochází ke zpomalení vývoje po zasažení plazmou. K podpoře vývoje došlo u fazolí mungo, ředkvičky, řeřichy a brokolice, avšak působením různých časů v rozmezí od 5 do 7 minut. Významnou roli je tedy potřeba přiřadit individuálnosti konkrétních semen. Do budoucna by měly být všechny druhy semen zkoumány samostatně tak aby došlo k volbě metody, která splňuje specifické požadavky k likvidaci mikroorganismů na daném semenu. V souladu s dosažením mikrobiálně nezávadných semen je možné úmyslně ovlivnit jejich vývoj, ať už zrychlením nebo zpomalením růstu. Tento způsob ošetření se jeví jako metoda, která podpoří růst a je třeba doplnit metodou účinnou proti mikroorganismům.

Seznam použité literatury

- Abdel-Aty, A. M., Salama, W. H., Fahmy, A. S., & Mohamed, S. A. (2019). Impact of germination on antioxidant capacity of garden cress: New calculation for determination of total antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, 246, 155-160.
- Aborus, N. E., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Šaponjac, V. T., Vulić, J., & Ilić, N. (2017). Powdered barley sprouts: composition, functionality and polyphenol digestibility. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(1), 231-238.
- Bednář, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
- Butscher, D., Van Loon, H., Waskow, A., von Rohr, P. R., & Schuppler, M. (2016). Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. *International journal of food microbiology*, 238, 222-232.
- Garcia-Gonzalez, L., Geeraerd, A. H., Spilimbergo, S., Elst, K., Van Ginneken, L., Debevere, J., ... & Devlieghere, F. (2007). High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future. *International journal of food microbiology*, 117(1), 1-28.
- Hrudová, Eva, Radovan Pokorný a Jana Víchová. *Integrovaná ochrana rostlin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2006. ISBN isbn978-80-7157-980-9.
- Chloupek, Oldřich, Blanka Procházková a Eva Hrudová. *Pěstování a kvalita rostlin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005. ISBN isbn978-80-7157-897-0.
- Chloupek, Oldřich. *Genetická diverzita, šlechtění a semenářství*. Vyd. 3., upr. 2. Praha: Academia, 2008. Česká matice technická (Academia). ISBN isbn978-80-200-1566-2.
- Jablonský, Ivan. *Pěstujeme klíčící osivo a výhonky*. Praha: Grada, 2005. Česká zahrada. ISBN isbn80-247-1114-1.
- Kalhotka, Libor. *Mikromycety v prostředí člověka: vláknité mikromycety (plísňe) a kvasinky*. V Brně: Mendelova univerzita, 2014. ISBN 978-80-7375-943-8.
- Kazda, Jan. *Encyklopedie ochrany rostlin polní plodiny*. Praha: Profi Press, 2010. ISBN 978-80-86726-34-2.
- Kim, J. W., Puligundla, P., & Mok, C. (2017). Effect of corona discharge plasma jet on surface-borne microorganisms and sprouting of broccoli seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1), 128-134.
- Klich, M. A. (2009). Health effects of Aspergillus in food and air. *Toxicology and Industrial Health*, 25(9-10), 657-667.
- Korzec, D., Tarnev, K., Schaffert, V., & Engemann, J. (2003). Free-standing microwave excited plasma beam. *Plasma Sources Science and Technology*, 12(4), 523.

López-Cervantes, J., Tirado-Noriega, L. G., Sánchez-Machado, D. I., Campas-Baypoli, O. N., Cantú-Soto, E. U., & Núñez-Gastélum, J. A. (2013). Biochemical composition of broccoli seeds and sprouts at different stages of seedling development. *International journal of food science & technology*, 48(11), 2267-2275.

Martinez-Villaluenga, C., Peñas, E., Ciska, E., Piskula, M. K., Kozłowska, H., Vidal-Valverde, C., & Frias, J. (2010). Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chemistry*, 120(3), 710-716.

Mazzoni, A. M., Sharma, R. R., Demirci, A. L. I., & Ziegler, G. R. (2001). Supercritical carbon dioxide treatment to inactivate aerobic microorganisms on alfalfa seeds. *Journal of Food Safety*, 21(4), 215-223.

Mubarak, A. E. (2005). Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food chemistry*, 89(4), 489-495.

Právní předpisy pro ekologickou produkci. I. vydání. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2018. ISBN 978-80-7434-415-2.

Roy, N. C., Hasan, M. M., Kabir, A. H., Reza, M. A., Talukder, M. R., & Chowdhury, A. N. (2018). Atmospheric pressure gliding arc discharge plasma treatments for improving germination, growth and yield of wheat. *Plasma Science and Technology*, 20(11), 115501.

Schrader, T. J., Cherry, W., Soper, K., Langlois, I., & Vijay, H. M. (2001). Examination of *Alternaria alternata* mutagenicity and effects of nitrosylation using the Ames Salmonella test. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis*, 21(4), 261-274.

Šarapatka, Bořivoj. *Agroekologie: východiska pro udržitelné zemědělské hospodaření*. Olomouc: Bioinstitut, 2010. ISBN 978-80-87371-10-7.

Talandová, Věra. *Shuneční živá strava*. [Praha]: IFP Publishing, 2009. ISBN 978-80-903997-9-2.

Tláškal, Petr, Jarmila Blatná, Pavel Dlouhý, Jana Dostálová, Ctibor Perlín, Jan Pivoňka, Václava Kunová a Olga Štiková. *Výživa a potraviny pro zdraví*. Praha: Společnost pro výživu, 2016. ISBN 978-80-906659-0-3.

Vlková, Eva, Vojtěch Rada a Jiří Killer. *Potravinářská mikrobiologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2006. ISBN 80-213-1583-0.

Votava, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-2-2.

Wigmore, Ann. *Klíčení rostlin*. Hodkovičky [Praha]: Pragma, [2007]. ISBN 978-80-7349-075-1.

Zahoranová, A., Hoppanová, L., Šimončicová, J., Tučeková, Z., Medvecká, V., Hudecová, D., ... & Černák, M. (2018). Effect of cold atmospheric pressure plasma on maize seeds: enhancement of seedlings growth and surface microorganisms inactivation. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 38(5), 969-988.

Seznam obrázků

Obrázek 1.1: Microdochium nivale na napadeném klasu (Kazda, 2010).	10
Obrázek 1.2: Stádia infekce způsobené patogenem z rodu Ustilago (koppert.com).	11
Obrázek 3.3: Tilletia uvnitř obilky (alchetron.com, 2020).	12
Obrázek 1.4: Příznaky infekce způsobené Alternaria na pšeničném klasu (a) a na obilce (b) (Researchgate.net, 2015).	12
Obrázek 1.5: Pšenice napadená patogenem z rodu Fusarium (Cornell.edu).	13
Obrázek 1.6: Kukuřice napadené patogenem Aspergillus flavus (Tamu.edu, 2020).	14
Obrázek 1.7 Kukuřice napadená patogenem rodu Penicillium (Cropprotectionnetwork.org).	14
Obrázek 1.8. Schéma použití dielektrického bariérového výboje (Butscher et al., 2016).	19
Obrázek 1.9. Reaktor na produkci plazmy (Roy et al., 2018).	21
Obrázek 1.10 Samostatně stojící mikrovlnný plazmový paprsek (Korzec et al., 2003).	22
Obrázek 3. 1. Semena fazole mungo bez plazmového ošetření.	28
Obrázek 3. 2. Semena fazole mungo ošetřená plazmou po dobu 8 minut.	29
Obrázek 3. 3. Semena brokolice ošetřená plazmou po dobu 5 minut.	30
Obrázek 3. 4. Semena brokolice ošetřená plazmou po dobu 6 minut.	31
Obrázek 3. 5. Řeřicha ošetřená plazmou po dobu 4 minut.	32
Obrázek 3. 6. Řeřicha ošetřená plazmou po dobu 6 minut.	33
Obrázek 3. 7. Semena ředkvičky ošetřená plazmou po dobu 5 minut.	34
Obrázek 3. 8. Semena ředkvičky ošetřená plazmou po dobu 7 minut.	35
Obrázek 3. 9. Ječmen ošetřený plazmou po dobu 7 minut.	36
Obrázek 3. 10. Ječmen ošetřený plazmou po dobu 8 minut.	37
Obrázek 3. 11. Fazole mungo 12.den.	39
Obrázek 3. 12. Fazole mungo 12.den ošetřené 7 minut plazmou.	39
Obrázek 3. 13. Brokolice 8.den.	41
Obrázek 3. 14. Brokolice 12.den.	42
Obrázek 3. 15. Řeřicha 12.den.	44
Obrázek 3. 16. Řeřicha 12.den ošetřená 8 minut plazmou.	44
Obrázek 3. 17. Ředkvička 12.den ošetřená 7 minut plazmou.	46
Obrázek 3. 18. Ředkvička 12.den.	47
Obrázek 3. 19. Ječmen mladý 8.den ošetření 7 minut plazmou.	49
Obrázek 3. 20. Ječmen mladý 12.den ošetření 7 minut plazmou.	49

Seznam tabulek

Tabulka 1. Hodnocení vývoje klíčků.....	26
Tabulka 2. Hodnocení vývoje kořínku.....	26
Tabulka 3. Počet mikroorganismů u semen fazolí mungo 7.den.....	27
Tabulka 4. Počet mikroorganismů u semen brokolice 7.den.....	29
Tabulka 5. Počet mikroorganismů u semen řěřichy 7.den.....	31
Tabulka 6. Počet mikroorganismů u semen ředkvičky 7.den.....	33
Tabulka 7. Počet mikroorganismů u semen ječmene mladého 7.den.....	35
Tabulka 8. Vyhodnocení růstu u semen fazole mungo.....	38
Tabulka 9. Vyhodnocení růstu u semen brokolice.....	40
Tabulka 10. Vyhodnocení růstu u semen řěřichy.....	43
Tabulka 11. Vyhodnocení růstu u semen ředkvičky.....	45
Tabulka 12. Vyhodnocení růstu u semen ječmene mladého.....	48

Seznam grafů

Graf 1. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny fazolí mungo po 7 dnech.	28
Graf 2. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny brokolice po 7 dnech.	30
Graf 3. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny řeřichy po 7 dnech.	32
Graf 4. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny ředkvičky po 7 dnech.	34
Graf 5. Porovnání celkového počtu kolonií na Petriho miskách se semeny ječmene mladého po 7 dnech.....	36
Graf 6. Dvanáctý den klíčení fazole mungo.....	38
Graf 7. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení brokolice.....	41
Graf 8. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení řeřichy.	43
Graf 9. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení ředkvičky.....	46
Graf 10. Znázornění délky kořínku, klíčku a jejich poměru 12.den klíčení ječmene mladého.....	48