



# 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 APLIKACE PLAZMATEM AKTIVOVANÉ VODY NA OBSAH CELKOVÉ MIKROBIÁLNÍ BIOMASY PŮD

STUDY OF PLASMA ACTIVATED WATER APPLICATION ON THE TOTAL SOIL MICROBIAL BIOMASS  
CONTENT

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Marianna Poláková

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. František Krčma, Ph.D.

BRNO 2023

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1850/2022 Akademický rok: 2022/23  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Studentka: **Bc. Marianna Poláková**  
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace  
Studijní obor: Procesy a materiály medicínských aplikací  
Vedoucí práce: **prof. RNDr. František Krčma, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Studium vlivu aplikace plazmatem aktivované vody na obsah celkové mikrobiální biomasy půd

### Zadání diplomové práce:

1. Na základě literárních rešerší zvolte optimální metodu pro vyhodnocení obsahu celkové mikrobiální biomasy v půdě.
2. Navrhněte experiment za využití nádobových pokusů s vybranou modelovou rostlinou.
3. Charakterizujte vliv plazmatem aktivované vody na enzymatickou aktivitu v půdě v souvislosti s obsahem tzv. long live species – dusitany, dusičnany a peroxid vodíku.

### Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

-----  
Bc. Marianna Poláková  
studentka

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

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Cieľom diplomovej práce bolo na základe literárnych rešerší zvoliť optimálnu metódu pre vyhodnotenie obsahu celkovej mikrobiálnej biomasy v pôde, pri použití plazmou aktivovanej vody ako zálievky. Pre tento účel bola zvolená fumigačne–extrakčná metóda, ktorá bola vyhodnotená pomocou TOC/TN. Práca sa ďalej zamerala na charakterizáciu fyzikálne–chemických vlastností plazmou aktivovanej vody a pôdy. Sledovaná bola i rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde pomocou *tea bag* metódy, kde je ku štúdiu rýchlosti dekompozície použitý zelený a rooibos čaj. V zelenom čaji bol tiež stanovený obsah celkových vodou extrahovateľných polyfenolických látok. Na základe kultivačných testov bola stanovovaná prítomnosť pôdných mikroorganizmov. Z nameraných dát bolo zistené, že plazmou aktivovaná voda nemá negatívny vplyv na pH pôdy. Avšak pravdepodobne v dôsledku jej aplikácie klesli hodnoty celkovej mikrobiálnej biomasy vo vzorkách plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút na hodnotu  $(8063 \pm 1900) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  pri TOC a  $(98 \pm 74) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  pri TN oproti zálievke destilovanou vodou, kde hodnoty TOC boli  $(18068 \pm 4186) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  a TN  $(123 \pm 10) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

## **KLÚČOVÉ SLOVÁ**

Plazmou aktivovaná voda, dielektrický bariérový výboj, reaktívne častice kyslíka a dusíka, organická hmota

## **ABSTRACT**

The aim of the diploma thesis was to choose the optimal method for evaluating the content of total microbial biomass in the soil, using plasma-activated water as irrigation, based on literature research. For this purpose, the fumigation-extraction method was chosen, which was evaluated using TOC/TN. The work further focused on the characterization of the physical-chemical properties of plasma-activated water and soil. The rate of decomposition of organic matter in the soil was monitored using the tea bag method, where green and roiboos tea are used to study the rate of decomposition. The content of total water-extractable polyphenolic substances was also determined in green tea. Based on cultivation tests, the presence of soil microorganisms was determined. From the measured data, it was found that the plasma-activated water does not have a negative effect on the pH of the soil. However, probably as a result of its application, the values of the total microbial biomass in plasma-activated water samples for 10 minutes decreased to the value of  $(8063 \pm 1900) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  for TOC and  $(98 \pm 74) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  for TN compared to the distilled infusion water, where TOC values were  $(18068 \pm 4186) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and TN  $(123 \pm 10) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

## **KEY WORDS**

Plasma activated water, dielectric barrier discharge, reactive oxygen and nitrogen species, organic matter



POLÁKOVÁ, Marianna. *Studium vlivu aplikace plazmatem aktivované vody na obsah celkové mikrobiální biomasy půd*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/146222>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce František Krčma.

## **PREHLÁSENIE**

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

podpis študenta

## **POĎAKOVANIE**

Týmto by som chcela poďakovať vedúcemu mojej diplomovej práce prof. RNDr. Františkovi Krčmovi, PhD. za odborné vedenie, Ing. Kateřine Liškovej za trpezlivosť, ochotu, pozitívny prístup a cenné rady, ktoré mi poskytla pri spracovaní diplomovej práce a Ing. Kristíne Trebulovej za pomoc pri spracovaní mikrobiologickej časti.

# OBSAH

ÚVOD .....	8
1. Teoretická časť .....	9
1.1 Pôda .....	9
1.1.1 Pôdna štruktúra .....	11
1.1.2 Minerálne zloženie pôd .....	12
1.1.3 Organická hmota v pôde .....	13
1.1.4 Život v pôde .....	14
1.1.5 Cyklus fosforu v pôde .....	15
1.2 Plazma .....	16
1.2.1 Dielektrický bariérový výboj .....	18
1.2.2 Korónový výboj .....	19
1.2.3 Mikrovlnný výboj .....	20
1.2.4 Plazmová tryska .....	20
1.3 Plazmou aktivovaná voda .....	21
1.3.1 Chemické vlastnosti .....	22
1.3.2 Fyzikálne vlastnosti .....	23
2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY .....	25
2.1 Klíčivosť semien a výnosnosť plodín .....	25
2.2 Inaktivácia baktérii .....	26
3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ .....	32
3.1 Použité chemikálie .....	32
3.2 Použité prístroje .....	32
3.3 Príprava laboratórnych nádobových experimentov .....	32
3.4 Príprava plazmou aktivovanej vody .....	33
3.5 Fyzikálne-chemická charakterizácia plazmou aktivovanej vody .....	34
3.5.1 Spektrofotometrické stanovenie dusičnanov .....	34
3.5.2 Spektrofotometrické stanovenie dusitanov .....	35
3.5.3 Spektrofotometrické stanovenie peroxidu vodíka .....	35
3.6 Charakterizácia pôdy .....	36
3.6.1 Fumigačne-extrakčná metóda .....	36
3.6.2 Stanovenie pH pôdy .....	37
3.6.3 Rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde .....	37

3.6.4	Stanovenie celkového obsahu vodou extrahovateľných polyfenolických látok.....	37
3.7	Kultivácia fosfor rozpúšťajúcich baktérií.....	38
3.7.1	Príprava kultivačného média.....	38
3.7.2	Príprava vzoriek.....	39
3.7.3	Očkovanie a kultivácia mikroorganizmov.....	39
4	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	40
4.1	Charakterizácia plazmou aktivovanej vody.....	40
4.2	pH pôdy.....	42
4.3	Rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde.....	43
4.4	Stanovenie celkového obsahu vodou extrahovateľných polyfenolických látok .....	45
4.5	Stanovenie celkového obsahu mikrobiálnej biomasy v pôde.....	46
4.6	Kultivácia fosfor rozpúšťajúcich pôdných baktérií .....	48
	ZÁVER.....	53
	PRÍLOHY .....	55
	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....	57

## ÚVOD

Pozitívne účinky plazmou aktivovanej vody boli preukázané už v biomedicínskom odvetví pri hojení rán či deaktivácii baktérií, v poľnohospodárstve pri zvýšení rýchlosti klíčenia semien alebo svoje využitie našla ako sľubná náhrada za dusíkaté hnojivá. Za jej unikátne chemické a biologické vlastnosti sú zodpovedné reaktívne častice kyslíka a dusíka, ktoré vznikajú pri plazmovej úprave vody nad alebo pod vodným povrchom pomocou plazmového zdroja. Vplyv aplikácie plazmou aktivovanej vody na fyzikálne–chemické vlastnosti pôdy a pôdnu mikrofaunu už nie je natoľko známy. Pôda pritom tvorí neodmysliteľnú súčasť života na Zemi, poskytuje materiál a priestor pre naše stavby, prostredie na pestovanie plodín atď.. O správny chod procesov prebiehajúcich v pôde sa starajú pôdne mikroorganizmy. Tie sú významné nielen pre rast a správny vývoj rastlín, ale i pre zdravie ľudí. Pre ľudí sú významné predovšetkým pôdne baktérie produkujúce antibiotiká. Bez vhodnej pôdy by tieto baktérie nemohli rásť a množiť sa, čo by znamenalo nižšiu produkciu antibiotík, ktoré sú neodmysliteľnou súčasťou boja proti infekciám.

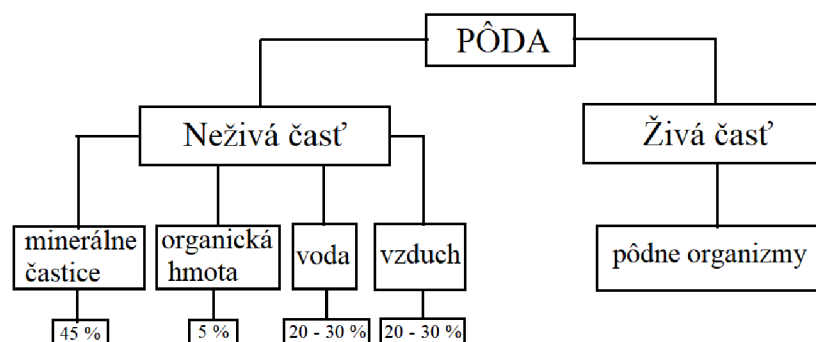
Cieľom tejto práce je stanovenie celkového obsahu mikrobiálnej biomasy v pôde pri použití plazmou aktivovanej vody ako zálievky. Mikrobiálna biomasa je definovaná ako časť organickej hmoty v pôde, ktorá je tvorená živými mikroorganizmami menšími než  $10\ \mu\text{m}^3$ . Pôdne mikroorganizmy sú vhodnými indikátormi pôdnej kvality, a to vďaka ich všadeprítomnosti a dôležitej roli v potravinovom reťazci. Práca je taktiež zameraná na stanovenie fyzikálne–chemických vlastností plazmou aktivovanej vody a pôdy.

# 1. TEORETICKÁ ČASŤ

## 1.1 Pôda

Pod pojmom pôda rozumieme samostatný prírodne–historický útvar, ktorý vznikol vďaka pôsobeniu zemských sfér, a to litosféry; hydrosféry; atmosféry a biosféry; ktoré spolu tvoria funkčný ekosystém. Litosféra determinuje minerálny podiel nachádzajúci sa v pôde. Hydrosféra je zodpovedná za prítomnosť vody v pôde. Atmosféra ovplyvňuje klimatické podmienky, počas ktorých pôda vzniká, biosféra zahŕňa organizmy prítomné v pôde. Na vznik a vývoj pôdy má významný vplyv činnosť človeka. Je to zložitý otvorený systém vo vzťahu k ostatným sféram, no zároveň relatívne samostatný so schopnosťou autoregulácie vnútorných procesov.

Pôda je zložená zo živej a neživej časti. Neživá časť je tvorená minerálnymi časticami, organickou hmotou, vodou a vzduchom. Vodu nachádzajúcu sa v pôde označujeme ako pôdny roztok. Ten sa často spája s prirovnaním, že je ako krv pôdy, nakoľko zaisťuje transport látok, slúži ako prostredie pre mnohé chemické reakcie a taktiež vytvára prostredie pre život mikroorganizmov. Pôdny vzduch hrá dôležitú rolu pri respirácii pôdnych organizmov a taktiež je dôležitý pre chemické reakcie prebiehajúce v pôde. Živú časť tvoria pôdne organizmy, bez ktorých by pôda nebola pôdou, ale len substrátom. Život v pôde je ovplyvnený vlhkosťou, prevzdušením, dostupnosťou živín a svetla. Preto rozmiestnenie organizmov v pôde je nerovnomerné [1, 2].



Obrázok 1 Rozdelenie pôdy [2, 3]

Medzi hlavné funkcie pôdy patrí: produkcia potravín a biomasy, zadržiavanie, filtrácia a transformácia látok, tvorí prostredie pre organizmy, podklad pre ľudskú činnosť, zdroj surovín, materiálne a kultúrne dedičstvo. Pre produkciu potravín a biomasy je pôda kľúčová, nakoľko sa odhaduje, že až 95 % všetkých potravín na svete pochádza buď priamo alebo nepriamo z pôdy. Taktiež produkcia technických plodín, energetických plodín a liečiv je závislá

na schopnosti pôdy plniť svoju produkčnú funkciu. Pôdu možno označiť ako križovátku pre všetky zložky prostredia. V závislosti na svojich vlastnostiach má rôzne schopnosti, ako je schopnosť filtrovať presakujúce roztoky, pútať niektoré zložky z plynnej či kvapalnej fázy a následne ich transformovať. Pôda poskytuje prostredie na život pre pôdne organizmy, rastliny a organizmy, ktoré sa nachádzajú na jej povrchu. Odhaduje sa, že v každej hĺstke zdravej pôdy sa nachádza omnoho viac jednotlivých organizmov než je ľudí na Zemi. Takmer všetka ľudská činnosť sa odohráva na zemskom povrchu, a teda pôda je jej základným podkladom pre stavbu rôznych obytných domov, priemyselných závodov, rekreačných zariadení či samotných ciest. Využíva sa ako zdroj piesku, štrku, minerálnych látok apod. V poslednom rade slúži ako archív pre paleontologické a archeologické nálezy, ktoré sú neodmysliteľnou súčasťou histórie Zeme [1,2].

Minerálne častice vznikajú zvetrávaním hornín zemskej kôry. Zvetrávanie je súbor procesov, ktorými sa pôvodné vyvreté, metaformované i rozpojené sedimentárne horniny rozrušujú a menia sa ich fyzikálne vlastnosti, minerálne a chemické zloženie. Zvetratelnosť jednotlivých hornín a minerálov závisí na ich štruktúre, textúre a tiež vonkajších podmienkach. Pri fyzikálnom zvetrávaní dochádza k rozpadu horniny na jednotlivé úlomky hlavne vplyvom zmeny teploty, ktorá vyvoláva v hornine objemovú zmenu sprevádzanú nerovnomerným rozprestretím tlaku, čo má za následok prasknutie. Pri chemickom zvetrávaní dochádza k rozkladu primárnych minerálov v horninách pôsobením vody, atmosférického kyslíka či oxidu uhličitého za vzniku sekundárnych minerálov. Všetky procesy spojené so životom rastlín a organizmov zahŕňa biologické zvetrávanie. Vzájomným pôsobením viacerých faktorov dochádza k zvetrávaniu matečnej horniny, čo je sprevádzané rozdrobovaním, rozpúšťaním či chemickými zmenami. Rozpustené látky sú ďalej zdrojom živín pre prvé organizmy, ktoré prinášajú do prostredia organickú hmotu aj dva prvky, ktoré sa zvyčajne v matečnej hornine nenachádzajú, a to uhlík a dusík. Uhlík sa získava z oxidu uhličitého a je dôležitý pre stavbu tela organizmov, dusík zasa umožňuje rozvoj rastlín. Organizmy prítomné v pôde urýchľujú zvetrávanie hornín vylučovaním organických kyselín a dýchaním. Z vydýchaného oxidu uhličitého rozpusteného vo vode vzniká kyselina uhličitá, ktorá spolu s organickými kyselinami rozrušuje matečnú horninu [1, 2].

Zhodnotiť kvalitu pôdy je zložité z dôvodu jej variability, heterogenity a veľkému počtu procesov v nej prebiehajúcich. Vedci navrhli index kvality pôdy, ktorý zahrňuje zmeny pôdneho prostredia v čase. Najskôr je však potreba zvoliť vhodné indikátory kvality a zdravia pôdy, ktoré musia: korelovať s procesmi prebiehajúcimi v ekosystéme; byť relatívne ľahko

použiteľné pri rôznych pôdnych podmienkach; ľahko spracovateľné pre špecialistu aj obyčajného užívateľa a citlivé k zmenám klímy. Medzi indikátory kvality môžeme zaradiť fyzikálne charakteristiky ako textúra, pórovitosť, objemová hmotnosť či hĺbka pôdy. Chemickými a fyzikálne-chemickými indikátormi môžu byť obsah a kvalita humusu, obsah celkového dusíka, pH, vodivosť alebo obsah živín. Medzi biologickými indikátormi môže byť celkový obsah uhlíka či dusíka biomasy mikroorganizmov alebo aktivita pôdnych enzýmov [3]

### **1.1.1 Pôdna štruktúra**

Organický podiel tvorí v priemere 5 % hmotnosti pôdy a zahŕňa neživú organickú hmotu a živé organizmy. Neživá organická hmotu tvorí približne 85 % z celkovej organickej hmoty, živé organizmy a korene 15 %. Z pôdnych organizmov majú najväčšie zastúpenie mikroorganizmy (huby, baktérie, archea a riasy), pôdne živočíchy tvoria len 25 % biomasy všetkých živých pôdnych organizmov. Práve pôdne organizmy aj napriek malému percentu zastúpenia sú prirovnávané k uchu v ihle, nakoľko nimi prechádza všetka organická hmotu, ktorá je následne rozložená alebo premenená. Pre tvorbu pôdnej štruktúry sú dôležité organominerálne komplexy, ktoré vznikajú naviazaním organickej látky na látky anorganické. Pôdna štruktúra je daná priestorovým usporiadaním pevných častíc a pórov. Základ tvoria agregáty, ktoré vznikajú spájaním rôzne veľkých minerálnych častíc s organickými časticami. Organická hmotu i minerálne častice majú koloidný charakter a špecifické vlastnosti ako elektrický náboj, veľký povrch, schopnosť prijímať a uvoľňovať ióny a schopnosť zadržiavať vodu. Tieto ich vlastnosti umožňujú a podporujú zhlukovanie častíc v pôde a tvorbu agregátov pôdnych častíc, čím vzniká určitá štruktúra pôdy. V prvej fáze dochádza k zhlukovaniu minerálnych častíc a organickej hmoty do tzv. makroagregátov (> 250  $\mu\text{m}$ ). V tých je organická hmotu chránená viac ako voľne sa vyskytujúca. Makroagregáty sú však pomerne nestabilné a vplyvom vonkajších podmienok dochádza k ich rozpadu. Väčšiu ochranu majú v mikroagregátoch (20-250  $\mu\text{m}$ ), ktoré vznikajú zhlukovaním častíc vo vnútri makroagregátov. Mikroagregáty sú stabilnejšie vďaka silnejším väzbám. K tvorbe agregátov prispievajú aj pôdne mikroorganizmy, a to nepriamo svojou humifikačnou aktivitou a priamo produkciou polysacharidov a ďalších biomolekúl so stmelujúcim účinkom. Huby taktiež prispievajú k vzniku agregátov tým, že produkujú glomalín, glykoproteín s naviazanými oligosacharidmi a pevne pútanými iónmi železa, ktorý pôsobí ako pôdne lepidlo. Vlákňité mikroorganizmy svojimi vláknami a hyfami mechanicky prepájajú a spevňujú agregáty. Podobne pôsobia i korene rastlín. Na tvorbe agregátov sa taktiež podieľajú živočíchy vďaka produkcii exkrementov [2, 4].

### 1.1.2 Minerálne zloženie pôd

Minerály sú čisté chemické prvky alebo prírodné chemické zlúčeniny charakteristické určitým špecifickým zložením a fyzikálnymi vlastnosťami. Minerály sa od seba odlišujú usporiadaním iónov alebo ich skupín vo vnútornej štruktúre kryštálu. Medzi najrozšírenejšie minerály nachádzajúce sa v pôde patria primárne a sekundárne kremičitany. Pomerne menšie zastúpenie majú oxidy, uhličitan, fosforečnan, sírany a dusičnany. V pôde je prítomných 92 až 95 % kremičitanov. Ich vnútorná štruktúra je tvorená  $(\text{SiO}_4)^{4-}$  aniónmi, ktoré majú tvar tetraédu. V niektorých kremičitanech býva kremík čiastočne nahradený hliníkom.

Primárne hlinito-kremičitany sú súčasťou magnetických hornín. Predstavujú zásobáreň minerálnych živín v pôde. Nepodieľajú sa na fyzikálne-chemických procesoch prebiehajúcich v pôde kvôli ich relatívne veľkým zrnám a malému mernému povrchu. Zastúpené sú predovšetkým draselnými a sodno-vápenatými živcami, ktoré sú hlavným zdrojom draslíka a vápnika v pôde. Medzi sekundárne hlinito-kremičitany patria ílové minerály. Tie vznikajú rozpadom primárnych hlinito-kremičitanov alebo syntézou produktov, ktoré sa uvoľňujú pri zvetrávaní minerálov. Na ich vznik majú vplyv i biochemické procesy a pôdne mikroorganizmy. Základnou stavebnou jednotkou ich kryštalickej mriežky sú kremíkové tetraédry a hliníkové oktaédry. Podľa postavenia tetraédrových a oktaédrových vrstiev rozdeľujeme sekundárne hlinito-kremičitany do niekoľkých skupín: allofánová, kaolínová, illitická, chloritická a montmorillonitická skupina.

Z ostatných minerálov je v horninách aj v pôde vo veľkom množstve zastúpený kremeň ( $\text{SiO}_2$ ), ktorý patrí do skupiny oxidov. Je veľmi odolný proti chemickému zvetrávaniu a vyskytuje sa prevažne v kyslých vyvretých horninách (žula), v metamorfovaných horninách (granulity) či v mechanických sedimentoch (piesok). Okrem kremeňa nájdeme v horninách aj v pôde oxidy železa, ako je magnetit ( $\text{FeO}$ ), hematit ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) a goethit ( $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Pre vznik a vývoj pôdy sú dôležité i ďalšie minerály ako uhličitan, z ktorých najčastejším zdrojom vápnika je kalcit ( $\text{CaCO}_3$ ). Vápnik má významnú úlohu pri tvorbe pôdnej štruktúry a zvyšuje prístupnosť živín pre rastliny. Zdrojom horčíku je dolomit ( $\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$ ), ojedinele tiež magnezit ( $\text{MgCO}_3$ ). Zdrojom síry je anhydrit ( $\text{CaSO}_4$ ) a sadrovec ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Fosfor je dôležitým prvkom pri výžive rastlín, zdrojom biogénneho fosforu je apatit ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$ ).

Z mechanického hľadiska zloženia je pôda polydisperzný systém obsahujúci hrubé disperzie, koloidné a molekulárne disperzie. Hrubé disperzie predstavujú častice väčšie než  $1 \mu\text{m}$ , majú malú špecifickú plochu a v pôde pôsobia prevažne mechanicky. Patrí sem prach, piesok, štrk.



Medzi koloidné disperzie patria častice od 1  $\mu\text{m}$  do 1 nm, sú charakteristické veľkou špecifickou povrchovou plochou a energiou. V pôde pôsobia hlavne fyzikálne–chemicky. Molekulárne disperzie tvoria častice menšie ako 1 nm, tie pôsobia v pôde prevažne chemicky. Veľkosť častíc ovplyvňuje takmer všetky pôdne vlastnosti. So zvyšujúcou sa veľkosťou častíc sa zväčšuje ich špecifická povrchová plocha a vzájomné príťažlivé sily medzi časticami, tým sa zvyšuje kohézia a adhézia pôdy [1].

### **1.1.3 Organická hmota v pôde**

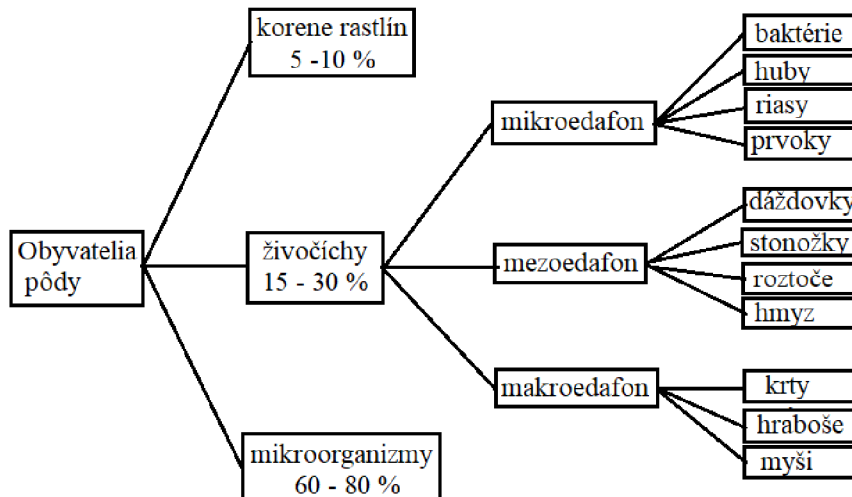
Organické látky majú významný vplyv na úrodnosť pôd. Hlavným zdrojom organickej hmoty v pôde je rastlinná biomasa, medzi ďalšie zdroje patria živočíchy žijúce v pôde i na jej povrchu. Humus je tvorený zvyškami rastlinných a živočíšnych organizmov nachádzajúcich sa na pôde alebo v pôde a sú v rôznom štádiu rozkladu. Z chemického hľadiska je humus súbor tmavo sfarbených organických dusíkatých polyfunkčných látok kyselinovej povahy, s vysokou molekulovou hmotnosťou a dobrou odolnosťou voči mikrobiálnemu rozkladu. Zvyšky rastlinných a živočíšnych organizmov podliehajú v pôde rozkladu, čím vzniká mnoho medziproduktov, ktorých následnou syntézou vznikajú nové organické zlúčeniny s novými vlastnosťami. Proces humifikácie je ovplyvnený pôdnou vlhkosťou, teplotou, prevzdušením pôdy a prítomnosťou pôdnych enzýmov. Humus sa vďaka svojim zložkám spolupodieľa na stavbe pôdneho sorpčného komplexu. Zvýšenie sorpčnej schopnosti pôdy umožňuje mať väčšie zásoby živín v pôde a obmedzuje ich straty, ktoré môžu vznikáť vyplavením. Mineralizácia je proces úplného rozkladu organických látok v pôde až na jednoduché anorganické zložky ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$  atď.). Následne sú tieto zložky využívané ako živiny pre rastliny. Na tomto procese sa podieľajú prevažne aeróbne baktérie v pôdach ľahšieho charakteru. Ďalším procesom premeny organickej hmoty v pôde je rašelinenie a uhoľnatenie. Pri týchto procesoch sa uplatňujú najmä anaeróbne baktérie, nízka teplota a vysoká vlhkosť prostredia. Vznikajú huminové a ulminové látky tmavohnedej až čiernej farby s vysokým obsahom uhlíka. Za extrémnych podmienok môže dôjsť k vzniku humusového uhlia, ktoré je bohaté na uhlík, koloidne neaktívne a nepeptizovateľné. Vlastnou humifikáciou vzniká tzv. „pravý“ humus. Ide o anaeróbny proces, kedy z medziproduktov rozkladu organickej hmoty vznikajú nové látky označované ako huminové látky. Huminové látky sú charakteristické vyšším pomerom obsahu uhlíka k obsahu dusíka (10:1), majú hnedú až čierne hnedú farbu a koloidný charakter. Ovplyvňujú agregáčnú schopnosť pôd, a tým aj štruktúrnu stavbu pôd [4].

#### 1.1.4 Život v pôde

Medzi obyvateľov pôdy patria korene rastlín, mikroorganizmy a živočíchy. Korene zaisťujú ukotvenie rastlín v pôde a sú pre rastliny hlavným zdrojom vody a živín. Spolu s nadzemnou rastlinnou biomasou sú hlavným zdrojom organickej hmoty pre edafon, ktorý sa živi prevažne rastlinným materiálom. Podľa spôsobu, akým získavajú rastliny a pôdne organizmy uhlík a ďalšie živiny z pôdy, ich môžeme rozdeliť na: osmotrofné, fágotrofné a mixotrofné. Medzi osmotrofné, ktoré získavajú živiny z pôdneho roztoku, patria rastliny, mikroflóra (baktérie, archea, huby a riasy) a jednobunkový zástupcovia mikrofauny. Väčšia časť pôdnej fauny patrí do fágotrofnej skupiny. Živočíchy pohlcujú pevné častice, ktoré sa následne rozkladajú v ich zažívacom trakte, potrebné živiny sa vstrebávajú a nadbytok je vylučovaný spolu s nestráviteľnými zvyškami späť do pôdy. Do mixotrofnej skupiny patria riasy či prvoky, tie si pomáhajú dopĺňať živiny pomocou fagocytózy. Pri fagocytóze dochádza k pohlteniu pevnej častice pomocou vonkajšej membrány, pevná častica sa obalí do vakuoly kde je následne rozložená [4].

Pôdny edafon je tvorený organizmami, ktoré žijú v pôde buď dočasne alebo trvalo. Rozdeľujeme ho na mikroedafon (tvorený mikroskopickými organizmami), mezoedafon a makroedafon (tvorený väčšími mikroorganizmami). Medzi významných zástupcov mikroedafonu patria baktérie, ich počet je  $10^6$  až  $10^9$  jedincov v 1 g pôdy. Ich biochemická funkcia je rôznorodá, v organických zvyškoch rozkladajú sacharidy, bielkoviny, celulózu a ďalšie organické látky. Podieľajú sa na procesoch humifikácie, pútajú vzdušný dusík, rozkladajú dusičnany. Menšie zastúpenie než baktérie majú v pôde huby. Tie majú významnú funkciu pri procesoch rozkladu aromatických zlúčenín, ako je lignin. Niektoré druhy produkujú látky typu antibiotík, ktoré obmedzujú výskyt iných pôdnych mikrobov. Iné druhy zasa naopak pôsobia ako zárodoky rôznych chorôb vyšších rastlín (*Fusarium*, *Monilia*). V povrchových vrstvách pôdy sa vyskytujú riasy v množstve až do sto tisíc jedincov v 1 g pôdy. Ich úlohou je hromadenie organickej hmoty v podobe vlastných tiel, ktoré následne ďalšie mikroorganizmy rozkladajú. Zo zástupcov jednobunkových organizmov patria do skupiny mikroedafonu prvoky. Tie pomáhajú v pôde redukovať výskyt baktérii, nakoľko sa nimi živia. Mezoedafon tvoria zástupcovia živočíšnej ríše mimo stavovcov. Patria sem dážďovky, roztoče, stonožky, hmyz a mnoho ďalších. Ich hlavný význam je mechanické rozrušovanie a kyprenie pôdnej hmoty, vytváranie chodieb a kanálov, ktoré zvyšujú priepustnosť pôdy pre vodu a vzduch. Veľký význam je prikladaný dážďovkám, ktoré zaťahujú do pôdy odumreté časti rastlín, tým obohacujú vrchné vrstvy o humusotvorný materiál, ktorý ďalej využíva pôdna

mikroflóra. Ich prítomnosť v pôde je znakom jej vysokej úrodnosti, dostatočnej zásoby organických látok a vlhkosti pôdy. Stavovce ako krty, hraboši, myši tvoria makroedafon. Ich funkcia je podobná ako pri zástupcoch mezoedafonu, mechanické prehrabovanie a zaťahovanie organických zvyškov do pôdy. Ich exkrementy a telá po odumretí dopĺňajú organickú hmotu do pôdy [1].



Obrázok 2 Život v pôde [1, 2]

### 1.1.5 Cyklus fosforu v pôde

Fosfor patrí medzi hlavné živiny dôležité pre rast a produktivitu rastlín. V pôde sa ho v porovnaní s dusíkom a draslíkom nachádza málo, a to väčšinou vo formách nedostupných pre organizmy. Pre udržanie vyššej hladiny fosforu v pôde sa používajú fosforečné hnojivá. Avšak fosfor z nich sa väčšinou chemickými a fyzikálnymi mechanizmami fixuje do nerozpustných zlúčenín, a preto sa fosforečné hnojivá aplikujú v niekoľkokrát prevyšujúcich dávkach potreby plodín. Primárnym zdrojom fosforu sú horniny, v nich sa nachádza vo forme minerálu apatitu. Zvetrávaním minerálov a z organických zvyškov sa fosfor dostáva do morí a oceánov, kde sa usadzuje v sedimentoch. Človek ťažbou fosforečných minerálov a ich znovu použitím vo forme hnojív zásadným spôsobom ovplyvňuje cyklus fosforu. Zdrojom organických zlúčenín fosforu v pôde sú odumreté bunky a zvyšky mikroorganizmov, rastlín a tel živočíchov. Významný podiel organicky viazaného fosforu má fyтин, ktorý sa v pôde vyskytuje vo forme polyméru mikrobiálneho pôvodu odolnému voči rozkladu. Menšie zastúpenie organicky viazaného fosforu majú fosfolipidy a nukleové kyseliny, ktoré veľmi ľahko podliehajú rozkladu.

V cykle fosforu hrajú významnú úlohu pôdne mikroorganizmy, ktoré sa podieľajú na solubilizácii anorganických zlúčenín fosforu a na mineralizácii organických zlúčenín. Koncentrácia fosforu v pôdnych organizmoch je niekoľkokrát vyššia v porovnaní s rastlinami. Po odumretí organizmov sa väčšie množstvo fosforu postupne uvoľňuje a ten môže byť prijatý rastlinami. Mikrobiálna biomasa predstavuje významný zásobník fosforu.

Cyklus fosforu možno rozdeliť na dve časti, a to geochemickú a biochemickú, ktoré sú prepojené fosforom rozpusteným v pôdnom roztoku. Zásoba fosforu v pôdnom roztoku nie je vysoká, ale i tak patrí pôdny roztok medzi významné zásobníky. Je dokázané, že pri vysokom prijme fosforu z pôdneho roztoku rastlinami sa jeho koncentrácia dokáže obnoviť 50 až 250 krát za deň. Doplnenie zásob fosforu prebieha z dvoch hlavných zásobníkov: organicky viazaného fosforu a z minerálnych zlúčenín fosforu. Aby mohol byť organický fosfor využitý rastlinami a mikroorganizmami, musí byť najskôr z organických zlúčenín uvoľnený mineralizáciou. Organické látky sa rozkladajú veľmi nerovnomerne, ich rozklad zaisťujú predovšetkým enzýmy fytasy a fosfatasy. Mineralizáciu organického fosforu ovplyvňuje teplota, pôdne reakcie a mierne alkalické prostredie tiež zvyšuje mineralizáciu. Uvoľňovanie fosforu z anorganických zlúčenín ovplyvňujú pôdne mikroorganizmy aj korene rastlín. Odhaduje sa, že 10 % druhov pôdneho mikrobiálneho spoločenstva dokáže solubilizovať anorganické zlúčeniny. Medzi tieto druhy patria baktérie rodu *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* a niektoré huby. Na mineralizácii organických látok, uvoľňovaní viazaného fosforu do pôdneho roztoku, ale predovšetkým na transporte fosforu pôdnym prostredím sa zúčastňujú pôdne mikromycety žijúce v mykorhiznej symbióze. Vlákná húb prenikajú pôdou na omnoho väčšie vzdialenosti v porovnaní s baktériami či koreňmi rastlín. Mykorhizné huby vytvárajú rozvetvené systémy vlákien mycélia, ktoré vďaka svojej menšej veľkosti obaľujú pôdne agregáty a častice pôdnej organickej hmoty hustejšie ako korene rastlín. To zväčšuje priestor, z ktorého sa môže získať fosfor [4, 5].

## 1.2 Plazma

Plazma býva často označovaná ako štvrté skupenstvo hmoty spolu s kvapalinou, pevnou látkou a plynom. Pri zahrievaní pevnej látky dôjde k jej roztaveniu, ďalším zahrievaním sa kvapalina zmení na plyn a následným zahrievaním plynu dostaneme plazmu. Plazma je čiastočne alebo plne ionizovaný plyn, ktorý je zložený z iónov, elektrónov a neutrálnych častíc, ktoré vykazujú kolektívne chovanie a kvázineutralitu. Vďaka voľným nosičom náboja môže plazma reagovať na elektrické a magnetické pole. Pod kolektívnym chovaním plazmy rozumieme, že jednotlivé nabité častice sa nechovajú ako nezávislé, ale interagujú s ďalšími nabitými časticami.

Kvázineutralitu popisuje fakt, že je plazma navonok elektricky neutrálna vďaka tomu, že obsahuje rovnaké množstvo kladne a záporne nabitých častíc v makroskopickom objeme. Na základe teploty rozlišujeme izotermickú a neizotermickú plazmu, pričom s izotermickou sa stretávame pri experimentoch v astrofyzike [6, 7].

Medzi základné parametre, ktoré nám umožňujú charakterizovať a popisovať plazmu patria: Debyeova dĺžka, stupeň ionizácie plazmy, teplota, hustota nabitých častíc, magnetické pole atď. Debyeova dĺžka udáva vzdialenosť, do ktorej sú náboje v plazme vnímané ako netienené. V plazme dochádza k interakciám medzi elektricky nabitými časticami, ktoré sú závislé na vzdialenosti, v ktorej sa voči sebe častice nachádzajú. Ak sa častice nachádzajú dostatočne blízko, tak interakcie budú prebiehať podľa Coulombova zákona. V prípade, že sa častice nachádzajú vo väčšej vzdialenosti, tak coulombické interakcie budú tienené voľnými nosičmi náboja, ktoré sa v plazme nachádzajú (elektróny, ióny). Pre výpočet Debyeovej dĺžky sa používa vzťah:

$$\lambda_D = \sqrt{\left(\frac{\varepsilon_0 k_B T}{n Q^2}\right)} \quad (1)$$

kde  $\varepsilon_0$  je permitivita vákua,  $k_B$  je Boltzmannova konštanta,  $T$  je teplota elektrónov,  $n$  je koncentrácia nabitých častíc a  $Q^2$  je náboj elektrónu.

Medzi najdôležitejšie parametre popisujúce plazmu patrí stupeň ionizácie plazmy. Popisuje pomer ionizovaných častíc k celkovému počtu častíc v danom systéme. S postupne sa zvyšujúcou teplotou pozorujeme u plazmy tri podstatné zmeny chovania. Pri nízkej teplote obsahuje plazma veľké množstvo neutrálnych častíc a hovoríme, že je slabo ionizovaná. So zvyšujúcou sa teplotou bude priemerná energia elektrónov vyššia než ionizačná energia a plazma sa stane úplne ionizovanou. S ďalej sa zvyšujúcou teplotou sa dostaneme do oblasti elektrón–pozitrónovej plazmy, kde začnú hrať svoju úlohu antičastice, tzv. pozitrony. S ďalším zvyšovaním teploty dôjde k prevýšeniu kinetickej energie častíc v porovnaní s ich polohovou energiou a hovoríme o relativistickej plazme, ktorá sa nachádza v čiernych dierach. Stupeň ionizácie možno vypočítať pomocou Sahovej rovnice:

$$\frac{n_i}{n_n} \approx 2,4 \cdot 10^{21} \frac{T^{3/2}}{n_i} e^{-U_i/k_B T} \quad (2)$$

kde  $n_i$  je hustota ionizovaných častíc,  $n_n$  je celková hustota častíc,  $T$  je teplota plynu,  $k_B$  je Boltzmannova konštanta a  $U_i$  je ionizačná energia plynu.

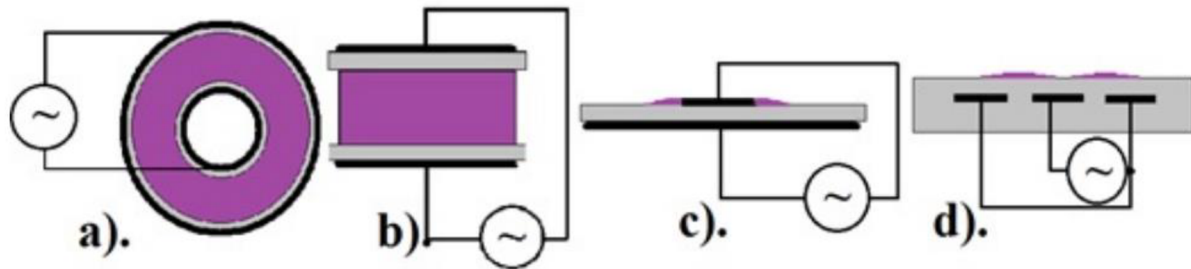
Taktiež hustota nabitých častíc má vplyv na charakter plazmy. Pri extrémnej hustote častíc sa plazma začne riadiť kvantovými zákonmi a hovoríme o tzv. degenerovanej plazme. Magnetické pole je viazané na plazmu, kamkoľvek sa pohne, tak magnetické pole ide s ním. Plazma so silným magnetickým polom je ťažko stlačiteľná a správa sa ako nestlačiteľná kvapalina. Pre plazmu je najtypickejším druhom pohybu vlnenie. V plazme sa môžu šíriť stovky najrôznejších vln vďaka nabitým iónom, ktoré sú nositeľmi zvuku. Šírenie zvuku je v plazme komplikovanejšie než v ostatných médiách kvôli tomu, že nabité ióny reagujú na elektrické a magnetické pole [8].

V prípade neizotermickej plazmy sú na vysokú teplotu excitované iba elektróny a ióny zostávajú na teplote blízkej okoliu. Teplota plynu teda zostáva relatívne nízka (menej než 40 °C), a vďaka tomu nachádza nízko teplotná plazma svoje uplatnenie pri úprave materiálov. Pozitívne účinky preukázala i v biomedicínskych aplikáciách pri dekontaminácii patogénnych mikroorganizmov, pri sterilizácii lekárskeho prístrojov alebo pri zlepšení hojenia rán [6]. Neizotermická plazma môže byť generovaná elektrickým výbojom v plynach pod nízkym tlakom alebo pri atmosférickom tlaku. Ako pracovný plyn sa najčastejšie používa vzduch, dusík, kyslík, vodík, argón, hélium alebo ich zmesi. Pri atmosférickom tlaku je plazma vyfukovaná do voľného priestoru pomocou prietoku plynu, kde sa zmieša s atmosférou v okolí. Vzniká neizotermická plazma, ktorá sa skladá z rôznych aktívnych častíc. Medzi elektrické zdroje, ktoré sa najčastejšie používajú na generovanie neizotermickej plazmy patrí: dielektrický bariérový výboj, korónový výboj, mikrovlnný výboj a plazmový horák [9].

### **1.2.1 Dielektrický bariérový výboj**

Elektródový systém dielektrického bariérového výboja je tvorený z dvoch vodivých elektród, ktoré sú napájané striedavým napätím. Elektródy sú oddelené jednou alebo viacerými dielektrickými vrstvami. Elektróda nemusí byť vždy kovová, ale stretávame sa i s prípadmi, kedy sú jedna alebo obe elektródy tvorené elektricky vodivou kvapalinou. Najčastejšie sa ako dielektrikum používa sklo, keramika, rôzne polyméry apod. Doba trvania dielektrického bariérového výboja je niekoľko desiatok nanosekúnd. Elektródami sú zvyčajne kovové dosky, a preto sa dielektrický bariérový výboj využíva na väčších plochách. Na základe geometrickej konfigurácie elektród a dielektrickej vrstvy, materiálových vlastností dielektrickej vrstvy a pracovného plynu môžeme dielektrické bariérové výboje rozdeliť na: objemové, povrchové a koplanárne. Elektródový systém objemového dielektrického bariérového výboja je tvorený paralelnými rovinnými alebo valcovitými elektródami. Medzi elektródami pokrytými dielektrickou vrstvou sa musí nachádzať medzera, v ktorej vzniká výboj. Ten sa dotýka elektród

iba v dvoch bodoch, a to na začiatku a na konci výbojového kanála. Elektródový systém povrchového dielektrického bariérového výboja je tvorený jednou planárnou elektródou pokrytou dielektrikom a druhou elektródou, ktorá sa nachádza na druhej strane dielektrika. Elektródový systém koplánárneho dielektrického bariérového výboja je tvorený dvomi alebo viacerými paralelnými elektródami umiestnenými priamo v dielektriku [9–11].



Obrázok 3 a) objemový dielektrický bariérový výboj v cylindrickom usporiadaní b) objemový dielektrický bariérový výboj s dvomi dielektrickými vrstvami c) povrchový dielektrický bariérový výboj d) koplánárny dielektrický bariérový výboj [10]

### 1.2.2 Korónový výboj

Inak nazývaný korónový efekt je elektrický výboj spôsobený ionizáciou tekutiny ako je vzduch obklopujúci vodič, ktorý je elektricky nabitý. Nastáva prirodzene vďaka skutočnosti, že vzduch nie je dokonalým izolantom, a teda za normálnych podmienok obsahuje množstvo voľných elektrónov a iónov. Keď sa medzi dvomi vodičmi vo vzduchu vytvorí elektrické pole, tak voľné ióny a elektróny budú vystavené sile, čím sa častice urýchľujú a pohybujú opačným smerom. Pri svojom pohybe sa nabité častice zrážajú navzájom i s pohybujúcimi sa nenabitými molekulami. Počet nabitých častíc sa zvyšuje a pri dostatočne silnom elektrickom poli dôjde k dielektrickému prierezu vzduchu a medzi vodičmi sa vytvorí oblúk. Korónový výboj sa najčastejšie prejavuje vo vysokonapäťových systémoch, kedy môžeme počuť syčanie alebo praskanie. Taktiež môže spôsobiť fialovú žiaru, produkciu ozónového plynu okolo vodiča, rádiové rušenie alebo stratu elektrickej energie. Pri nízkych hodnotách napätia sa nič nedeje až do momentu, keď sa potenciálový rozdiel zvýši nad určitú prahovú hodnotu nazývanú kritické rušivé napätie. Hodnota kritického rušivého napätia je približne pri 30 kV. S korónovým výbojom sa stretávali už námorníci pri plavbách na lodiach, avšak nazývali to Eliášovým svetlom. To sa prejavovalo ako svetielkujúci hrot sťažňov pred búrkou vďaka tomu, že elektrický náboj vzduchu vytváral dostatočné elektrické pole [6,11,12].



*Obrázok 4 Korónový výboj na vysokonapäťovom elektrickom vedení [6]*

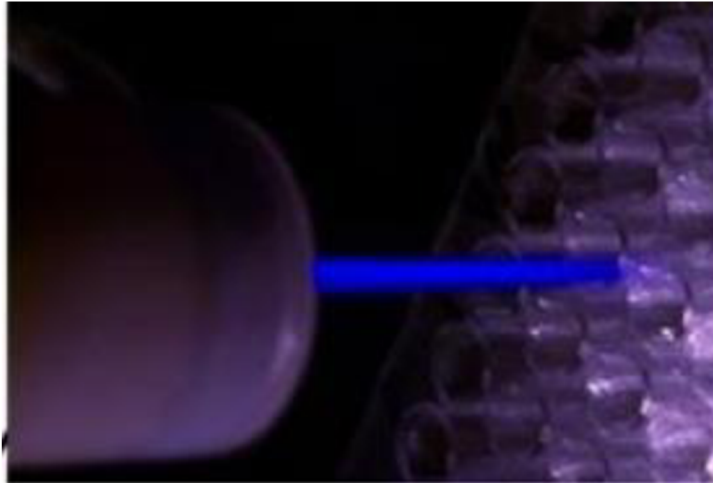
### **1.2.3 Mikrovlnný výboj**

Mikrovlnné výboje sú elektrické výboje generované elektromagnetickými vlnami o frekvenciách presahujúcich 300 MHz. V mikrovlnnom výboji má plazma desaťkrát vyššiu teplotu v porovnaní s plazmou získanou jednosmerným a vysokofrekvenčným výbojom. Vďaka vyššej teplote sa v plazme nachádza väčšie množstvo ionizovaných častíc, čím má mikrovlnný výboj veľký význam v chemickom priemysle. Svoje využitie našiel v laserovej technike či pri úprave povrchov materiálov. Experimentálne usporiadanie pre generovanie mikrovlnného plazmatu zahŕňa: zdroj mikrovlnnej energie zvyčajne generátor typu magnetronu, prvky pre ochranu magnetronu pred odrazeným výkonom, čo môže byť cirkulátor, meter pomeru stojatých vln, mikrovlnný aplikátor na plazmu a plazmový reaktor [13, 14].

### **1.2.4 Plazmová tryska**

Plazmová tryska za atmosférického tlaku generuje reaktívne častice kyslíka a dusíka s teplotou plynu blízkou izbovej teplote, čo je výhodné pre aplikáciu v medicíne, najmä pri liečbe kožných chorôb. Skladá sa z dvoch proti sebe sa nachádzajúcich elektród, medzi ktorými vzniká elektrický výboj. Plyn strháva častice plazmy do priestoru, a tým vytvára dojem plameňa [6, 15].

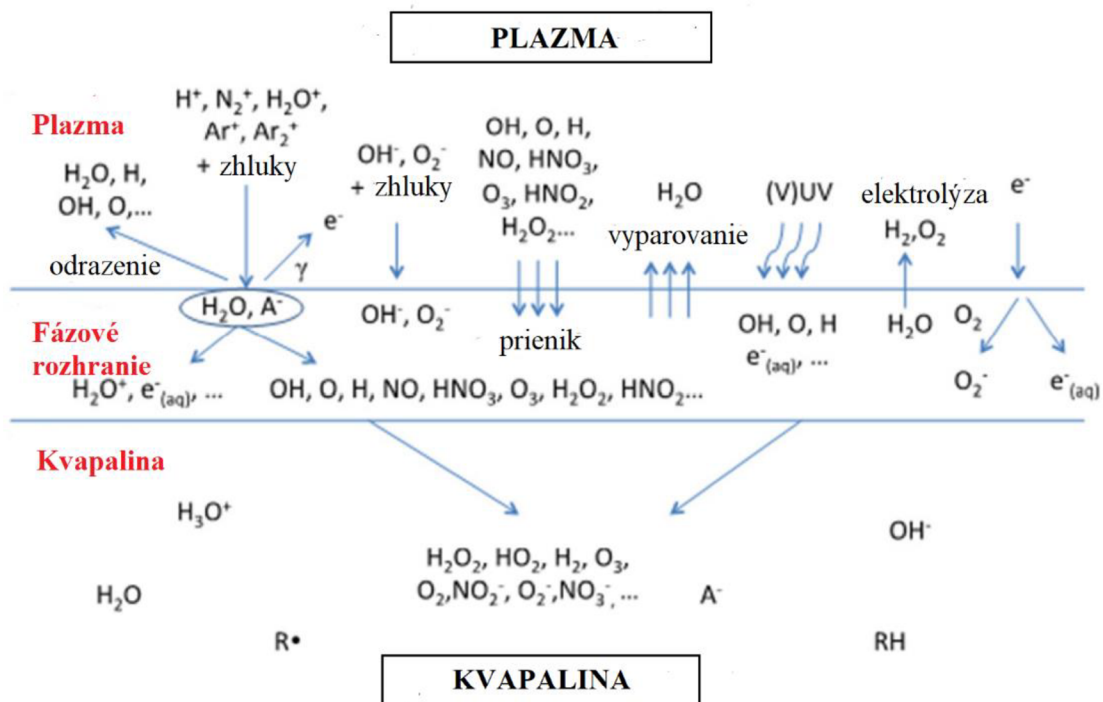




Obrázok 5 Plazmová tryska [6]

### 1.3 Plazmou aktivovaná voda

V posledných rokoch sa zvýšilo povedomie o plazmou aktivovanej vode vďaka jej vynikajúcim biologickým účinkom v biomedicínskych aplikáciách a v poľnohospodárstve. V biomedicíne nachádza svoje uplatnenie pri hojení rán, deaktivácii baktérií a vírusov, v stomatológii pri dezinfekcii a bielení zubov a v medicíne pri terapii rakoviny. V poľnohospodárstve sa využíva na zvýšenie rýchlosti klíčenia semien, pri inaktivácii rastlinných patogénov, pri liečbe rastlín napadnutých hubami či už ako náhrada za klasické dusíkaté hnojivá. Plazmou aktivovaná voda (*plasma activated water, PAW*) je generovaná plazmovou úpravou vody pomocou plazmového zdroja nad alebo pod vodnou hladinou. Ako plazmový zdroj môže byť použitý dielektrický bariérový výboj, korónový výboj, plazmová tryska atď. Častice generované plazmou interagujú s molekulami vody a na rozhraní plyn–kvapalina sa zaháji séria chemických reakcií, ktoré vedú k vzniku biochemicky reaktívnych častíc kyslíka a dusíka (*reactive oxygen and nitrogen species, RONS*). Vznikajúce častice delíme na častice s krátkou a dlhou dobou života. Medzi častice s krátkou dobou života patria hydroxylové radikály, oxid dusnatý, superoxid, peroxyhydrát a peroxydusitany. Medzi častice s dlhou dobou života patria dusičnany, dusitany, peroxid vodíka a ozón. Koncentrácia týchto častíc v plazmou aktivovanej vode závisí od typu plazmového zdroja, nosného plynu, konfigurácie elektród, použitého napätia a doby expozície vody plazme [16–18].



Obrázok 6 Séria reakcií prebiehajúcich na rozhraní plyn-kvapalina počas generovania plazmou aktivovanej vody [19]

### 1.3.1 Chemické vlastnosti

Peroxid vodíka patrí medzi reaktívne častice kyslíka s dlhou dobou života. Považuje sa za základnú molekulu určujúcu antimikrobiálne a protirakovinové vlastnosti plazmou aktivovanej vody. Vo veľkom sa využíva v lekárstve a poľnohospodárstve vďaka mnohým funkciám, ktoré zastáva v bunčných redoxných signálnych dráhach. Peroxid vodíka môže v plazmou aktivovanej vode vzniknúť buď jeho prenosom z plynnej fázy plazmy alebo priamou produkciou v kvapaline vďaka rekombinácii hydroxylových radikálov rozpustených z plynnej fázy:



Hydroxylový radikál pôsobí v plazmou aktivovanej vode ako prekursor vzniku peroxidu vodíka. Má silné oxidačné vlastnosti, je vysoko reaktívny a jeho životnosť sa pohybuje okolo 200  $\mu$ s v plynnej fáze a len niekoľko nanosekúnd v kvapaline. Jeho významnou úlohou je tvorba a prenos ďalších reaktívnych častíc, nakoľko koncentrácia hydroxylových radikálov je spojená s povahou a množstvom chemických látok produkovaných v kvapaline. Pre jeho

krátku dobu života je jeho prestup z plazmy do kvapaliny náročnejší, a teda jeho výskyt v plazme aktivovanej vode je výsledkom sekundárnych reakcií. Jeho dôležitosť pre biologickú aktivitu plazmy aktivovanej vody preukázali Park s kolektívom [20], kedy boli hydroxylové radikály účinné pri bakteriálnej inaktivácii aj napriek ich nízkej koncentrácii.



Medzi ďalšie reaktívne častice kyslíka s dlhou dobou života patrí ozón, ktorý je považovaný za silne antimikrobiálne oxidačné činidlo. V porovnaní s typickými oxidantmi, ako je chlór, peroxid vodíka a manganistan, má najvyšší oxidačne–redukčný potenciál [18].

Dusitany a dusičnany patria medzi reaktívne častice dusíka s dlhou dobou života. Záujem vzbudili vďaka svojim antimikrobiálnym vlastnostiam a možnostiam využitia v poľnohospodárstve. Rastlinné enzýmy ich absorbujú v podobe živín, vďaka čomu sa využívajú ako alternatívy organických hnojív. Oxid dusnatý je všadeprítomná signálna molekula nachádzajúca sa v rôznych organizmoch. Lai a Shen [21, 22] s kolektívom uviedli, že oxid dusnatý je schopný indukovať tvorbu ďalších reaktívnych častíc dusíka a taktiež vedie k oxidatívnejmu poškodeniu proteínov počas klíčenia semien. Vplyvom koncentrácie oxidu dusnatého na bunkový rast *Saccharomyces cerevisiae* sa zaoberal Tian [23] s kolektívom. Pri vysokých koncentráciách oxidu dusnatého v plazme aktivovanej vode bol bunkový rast inhibovaný. Chemickou reakciou medzi dusitanmi a peroxidom vodíka dochádza k produkcii peroxydusitanu, ktorý je priamo zodpovedný za inaktiváciu baktérii [12, 18].

### 1.3.2 Fyzikálne vlastnosti

Reaktívne častice a ióny vytvorené v plazme aktivovanej vode vedú k zníženiu hodnôt pH až do acidickej oblasti, k zvýšeniu elektrickej vodivosti a zvýšeniu oxidačne–redukčného potenciálu. pH je mierou koncentrácie vodíkových iónov v roztoku. Počas generovania plazmy aktivovanej vody dochádza k produkcii reaktívnych častíc kyslíka a dusíka, ktoré sú schopné uvoľňovať vodíkové ióny do vodného roztoku, a tým sa pH vzniknutej vody znižuje. Na znižujúce sa pH má ale predovšetkým vplyv vznikajúce  $NO_3^-$  a  $NO_2^-$  molekuly. So zvyšujúcou sa dobou ošetrenia pH roztoku klesá, až v určitom bode dosiahne ustáleného stavu. Hodnota pH sa líši v závislosti od použitého napájacieho plynu a zdroja plazmy. Ma s kolektívom [24] pozorovali zníženie pH destilovanej vody zo 7 na 3,2 po 10 minútach

aktivácie pomocou atmosférickej plazmovej trysky. Bolo potvrdené, že so zvyšujúcim sa časom hodnota pH vody ďalej neklesala, ale zostala konštantná [17, 25].

Oxidačne–redukčný potenciál vyjadruje schopnosť roztokov oxidovať alebo redukovať látku. Pozitívne koreluje s inaktivačnou schopnosťou, je zodpovedný za zničenie membránovej integrity mikrobov a ovplyvňuje vnútorné a vonkajšie bunkové membrány. Za oxidačne–redukčný potenciál v plazmou aktivovanej vode je zodpovedný predovšetkým peroxid vodíka, ktorý sa môže správať ako oxidačné aj redukčné činidlo. S plazmovou úpravou vody sa ORP (*oxidation-reduction potential, oxidačne–redukčný potenciál*) zvyšuje, pričom čistá voda má hodnotu ORP medzi 200 a 300 mV. Xiang s kolektívom [26] namerali pre sterilnú deionizovanú vodu hodnotu ORP 286 mV, po ošetroení vody plazmou po dobu 30, 60 a 90 s namerali hodnoty 553, 578 a 581 mV. Hodnoty oxidačne–redukčného potenciálu plazmou aktivovanej vody taktiež závisia od použitého zdroja plazmy [17, 25].

Elektrická vodivosť je miera schopnosti vody viesť elektrický prúd. Reaktívne častice kyslíka a dusíka a voľné ióny, ktoré vznikajú počas generovania plazmou aktivovanej vody, zvyšujú jej vodivosť. Je priamo spojená s pH, pri poklese pH sa zvyšuje elektrická vodivosť roztoku. Vodivosť destilovanej vody sa pohybuje medzi 0,5 a 3  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Ma s kolektívom [24] namerali vodivosť destilovanej vody aktivovanej po dobu 20 minút pomocou plynového plazmového prúdu 450  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Tian s kolektívom [27] namerali vodivosť destilovanej vody ošetrenej po dobu 20 minút pomocou plazmového mikrojetu 18,8  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . V oboch prípadoch bol použitý podobný pracovný plyn, líšilo sa však použité napätie, ktoré spôsobilo tak rozdielne výsledky vodivosti. Vodivosť plazmou aktivovanej vody sa líši i v spôsobe generovania. Pri generovaní priamo vo vnútri vody je vodivosť vyššia v porovnaní s generovaním nad vodnou hladinou [17, 25].

## 2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

### 2.1 Klíčivost' semien a výnosnost' plodín

F. Judée s kolektívom [28] sa vo svojej práci zaoberali vplyvom plazmou aktivovanej vody na rýchlosť klíčivosti semien šošovice. Plazmou aktivovaná voda bola vyrobená pomocou dielektrického bariérového výboja, ktorému bola voda vystavená po dobu 15 minút. 50 ml kohútikovej vody bolo vystavených pôsobeniu výboja o napätí 12 kV s amplitúdou 500 Hz. Hodnotené boli semená zavlažované neupravenou kohútikovou vodou (*untreated tap water*, UTW) a plazmou aktivovanou kohútikovou vodou (*plasma activated tap water*, PATW). V oboch prípadoch bolo 100 semien umiestnených do malých sklenených nádob s viečkom a drenážnymi otvormi. Prvý deň boli semená úplne ponorené do 50 ml UTW a PATW na tri hodiny, nasledujúce dni boli semená zavlažované dvakrát denne po dobu troch minút. Experiment prebiehal pri izbovej teplote ( $22,5 \pm 0,5$ ) °C s relatívnou vlhkosťou 35–45 %. Po vyklíčení boli semená vystavené po dobu 16 h/deň žiareniu so stmievateľného záhradníckeho panelu, ktorého úlohou bolo nahrádzať slnečné žiarenie. V oboch prípadoch bol dosiahnutý proces klíčenia za menej ako 24 hodín s mierou klíčivosti 97 % pre UTW a 99 % pre PATW. Dva dni po vyklíčení bola priemerná dĺžka klíčkov semien ošetrených UTW ( $1,4 \pm 0,7$ ) cm. U semien ošetrených PATW ( $1,97 \pm 0,81$ ) cm, čo predstavuje nárast o 38,0 %. Tento trend bol potvrdený aj šiesty deň, kedy dĺžka klíčkov semien ošetrených UTW bola ( $1,87 \pm 0,95$ ) cm oproti ( $4,28 \pm 2,15$ ) cm pri PATW.

Tomy Abuzairi s kolektívom [29] sa venovali stimulácii klíčenia špenátu pomocou vody upravenej plazmovým lúčom za atmosférického tlaku. Semená boli zasadené do kvetináčov o priemere 10 cm s médiom Rockwool. Vzorky boli ošetrované 100 ml kontrolnej vody a plazmou aktivovanej vody. Následne boli umiestnené do tmavej miestnosti, vybrané parametre boli merané po štyroch dňoch. K výrobe plazmou aktivovanej vody bol použitý dvojelektrodový plazmový lúč za atmosférického tlaku. Zariadenie sa skladalo zo sklenenej trubice a dvoch medených elektród. Ako pracovný plyn bol použitý vzduch. Vzorka ošetrená plazmou aktivovanou vodou vykazovala rýchlejší proces klíčenia a väčšiu dĺžku klíčkov. Po 48 hodinovej inkubačnej dobe bola dĺžka rastliny ošetrenej plazmou aktivovanou vodou ( $27,29 \pm 5,51$ ) mm, viac než u kontrolného vzorku, ktorý mal ( $13,12 \pm 2,15$ ) mm. Po 96 hodinovej inkubácii dosiahla dĺžka rastlín ošetrených plazmou aktivovanou vodou cca 90 mm. Výsledky ukazujú, že aplikácia plazmou aktivovanej vody mala pozitívny vplyv na rýchlosť klíčenia.

Martina Darmanin s kolektívom [30] sa venovali účinkom plazmou aktivovanej vody na klíčivost' semien mungo fazúl. Plazmou aktivovaná voda bola vyrobená za atmosférického

tlaku v špeciálne navrhnutej zostave zloženej z dvoch elektrochemických článkov spojených do série cez pevný mostík. Plazmový výboj bol aplikovaný po dobu 3 hodín s vodou cirkulujúcou katódovým i anódovým elektrochemickým článkom súčasne. Počas plazmového výboja prechádzal elektródou filtrovaný vzduch s prietokom 125–150 dm<sup>3</sup>/hod. Skúmavky boli naplnené 9 g sklenených guľôčok, to umožňovalo koreňom prenikať pod ich povrch a stonke rásť nahor. Semená boli zavlažované 3 ml plazmou aktivovanej vody a sterilnej destilovanej vody. Skúmavky boli umiestnené do tmavej inkubačnej komory pri teplote (25±1) °C, inkubácia vzoriek prebiehala 96 hodín. Dĺžka stoniek výhonkov bola meraná ručne 3-4krát denne od 48 hodín. V tomto prípade nebol zistený žiadny rozdiel medzi rýchlosťou klíčivosti mungo fazúľ pri použití sterilnej destilovanej vody a plazmou aktivovanej vody.

Xiaoting Gao s kolektívom [31] študovali vplyv plazmou aktivovanej vody na rast semien hrachu. Na výrobu plazmou aktivovanej vody bol použitý dielektrický bariérový výboj. Pôsobeniu dielektrického bariérového výboja bolo vystavených vždy 50 ml kohútikovej vody po dobu 5 až 20 minút pri výkonoch od 60–164 W. Semená boli rozdelené do dvoch skupín a namočené v 1 dm<sup>3</sup> TW (*tap water*) a PATW (*plasma activated tap water*) po dobu 15 hodín. Následne boli semená umiestnené na filtračný papier v Petriho miske naplnenej 50 ml príslušnej vody. Semená boli zavlažované príslušnou vodou po dobu 12 hodín. Keď výhonky dosiahli výšku 1 cm, boli vystavené simulovanému slnečnému žiareniu po dobu 12 h denne. Celkový rastový cyklus trval 15 dní, po uplynutí tejto doby boli zmerané jednotlivé výšky rastlín. Pri použití plazmou aktivovanej vody bol rast semien vyšší než u kontrolnej vzorky. Výkon 60 W nebol dostatočný, aby podporil rast. Avšak pri výkonoch vyšších ako 60 W už boli pozorované rozdiely vo výškach rastlín v porovnaní s kontrolnou vzorkou. Najvyššiu výšku dosiahli rastliny pri výkone 73 a 122 W, a to 15,5 cm.

## 2.2 Inaktivácia baktérii

Plazmou aktivovaná voda sa taktiež používa k ošetrovaniu kontaminovaných potravín. Pri priamom ošetrovaní potravín plazmou dochádzalo k rozleptaniu povrchu a následnej degradácii, čo malo za následok stratu farby a živín [32]. Vďaka tomu sa začali vedci venovať ošetrovaniu kontaminovaných potravín pomocou plazmou aktivovanej vody. Antimikrobiálne vlastnosti plazmou aktivovanej vody sú pripisované reaktívnym časticiam kyslíka a dusíka, ktoré sa vytvoria počas pôsobenia plazmového výboja na vodu. Reaktívne častice dusíka reagujú s vodou za vzniku kyseliny dusitej, dusičnej a peroxydusitej, pričom vzniká hojné množstvo vodíkových iónov. Vodíkové ióny sa pomocou difúzie hromadia v mikroorganizmoch, čím narúšajú intracelulárny redoxný potenciál a destabilizujú homeostázu vnútri buniek,

čo nakoniec vedie k apoptóze. Reaktívne častice kyslíka spôsobujú oxidačný stres, ktorý poškodzuje membránu, intracelulárne proteíny a nukleové kyseliny, čo vedie k mikrobiálnej inaktivácii.

Účinku plazmou aktivovanej vody (*plasma activated water*, PAW) na inaktiváciu mezofilných aeróbných a koliformných baktérii na dusenom ryžovom koláči sa venovali J. H. Kang s kolektívom [33]. Sterilná destilovaná voda bola aktivovaná pomocou dielektrického bariérového výboja pri nastavení výboja 51,7 W, 14,4 kHz a 8 kV. Pre stanovenie vplyvu výboja na inaktiváciu baktérii bolo 80 g ryžového koláča ošetrené po dobu 20 minút v 1 dm<sup>3</sup> PAW pripravenej pôsobením plazmy po dobu 5, 10, 20 a 30 minút. Kontrolná séria vzoriek bola pripravená ošetrením 80 g ryžového koláča v 1 dm<sup>3</sup> sterilnej destilovanej vody po dobu 20 minút. Všetky vzorky boli ošetrené pripravenou PAW za neustáleho trepania pri 195 ot./min, teplota PAW pri ošetrení bola (33,7±0,4) °C. Približne 80 g ošetreného a neošetreného koláča bolo umiestnených do sterilných vreciek s 240 ml 0,1% sterilnej peptónovej vody a po dobu 3 minút miešané v mixéri. Po zmiešaní bol 1 ml desiatkovo zriedený za použitia sterilnej peptónovej vody. Vzorky boli nanosené na aeróbne a koliformné počítacie platne a inkubované pri (35±1) °C počas 24 a 48 hodín. Plazmou aktivovaná voda vykazovala vyššiu úroveň bakteriálnej inaktivácie v závislosti na dobe aplikovaného výboja. S dlhšou dobou aplikácie výboja sa zvyšuje koncentrácia reaktívnych častíc, čo má za následok zvýšenú mieru bakteriálnej redukcie.

Plazmou aktivovaná voda preukázala svoju schopnosť pri inaktivácii baktérii aj vďaka oxidačnému stresu, ktorý vyvolávajú reaktívne častice kyslíka vznikajúce počas generovania plazmy. Štúdiom oxidačného stresu vyvolaného u bakterie *Staphylococcus aureus* pomocou plazmou aktivovanej vody sa zaoberal Zhang s kolektívom [34]. Na prípravu plazmou aktivovanej vody (*plasma activated water*, PAW) bola použitá elektróda so striedavým prúdom, v ktorej bola sterilná destilovaná voda aktivovaná po dobu 20 min. Bakteriálna suspenzia bola zmiešaná s PAW skladovanou po dobu 24 h v chladničke pri teplote 4 °C a s PAW, ktorá nebola skladovaná. Roztoky boli nanosené na agarové kultivačné médiá a inkubované po dobu 24 hodín pri 37 °C. Baktérie *Staphylococcus aureus* boli inaktivované v oboch prípadoch, pričom pri PAW skladovanej po dobu 24 hodín bol pozorovaný nižší účinok. Na základe oxidačne–redukčného potenciálu je možné zhodnotiť, či v bunke došlo k oxidačnému stresu. Hlavným ukazovateľom zmeny redoxného stavu vnútorného prostredia bunky bakterie *Staphylococcus aureus* je staphyloxanthin, kedy je zmena redoxného stavu pozorovaná zmenou farby. Staphyloxanthin je triterpenoidný karotenoid, ktorý pôsobí ako antioxidant k ochrane

*Staphylococcus aureus* a zároveň je od neho odvodená zlatá farba tejto baktérie. Pri kontakte baktérii s PAW došlo k zmene farby zo zlatej na bielu, čo naznačuje oxidáciu staphyloxanthinu. Morfologické zmeny baktérie boli pozorované pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie, kedy pri ošetrovaní PAW mali bunky nepravidelný povrch s drsnými hranami, taktiež sa objavila medzera medzi membránou a bunkovou stenou.

Medzi jeden z najbežnejších patogénov patrí *Escherichia coli*, jej deaktiváciou na povrchu šampiňónov sa venoval Zitong Zhao s kolektívom [32]. Plazmou aktivovaná voda (*plasma activated water*, PAW) bola vyrobená pomocou dielektrického bariérového výboja, kedy bola voda vystavená výboju po dobu 5, 10, 15, 20 a 25 minút. Šampiňóny boli pred samotným experimentom sterilizované pomocou 75% etanolu, aby došlo k odstráneniu prirodzenej mikroflóry z ich povrchu. Pre inokuláciu šampiňónov bola použitá metóda ponorenia, kedy boli huby ponorené do suspenzie *Escherichia coli* po dobu 30 minút. Naočkované huby boli následne na 10 minút ponorené do 400 ml PAW. Každé 3 dni bola prevedená analýza húb. So zvyšujúcou sa dobou aktivácie vody bol pozorovaný pokles koncentrácie *Escherichia coli* nachádzajúcej sa na povrchu húb. Ošetrovanie pomocou PAW taktiež preukázalo pozitívny vplyv pri spomalení enzymatického hnednutia a mäknutia šampiňónov pri ich skladovaní. Dôležitým faktorom antimikrobiálneho účinku PAW je jej kyslý charakter. Hodnota pH klesla až na 3,11, čo sa pripisuje vzniknutým dusičnanom a dusitanom. Oxidačne–redukčný potenciál sa v priebehu aktivácie vody zvyšoval a maximum bolo dosiahnuté po 25 minútach aktivácie pri 257,24 mV. Elektrická vodivosť je ukazovateľom schopnosti vody viesť elektrický prúd, po 20 minútach aktivácie sa vodivosť zvýšila z 1,59 na 42  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Peroxid vodíka pôsobí ako prostriedok proti mikrobiálnemu rastu. Jeho koncentrácia sa s dobou aktivácie vody zvyšovala, pričom rýchlosť tvorby  $\text{H}_2\text{O}_2$  klesala s rastúcou dobou aktivácie. Po 5 minútach bola koncentrácia  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,42  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  a po 25 minútach 1,35  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

V súčasnej dobe je snaha v poľnohospodárstve znížiť spotrebu klasických pesticídov, ktoré sú síce účinné pri ochrane plodín, avšak ich zvyšky zostávajú na rastlinách a následne sa dostávajú do pôdy, čím dochádza k jej kontaminácii a zároveň k ohrozeniu ľudského zdravia. Paradajky patria medzi zeleninu, ktorá býva najčastejšie kontaminovaná zvyškami pesticídov. Ich dekontamináciou sa zaoberali M. Ali s kolektívom [35]. Plazmou aktivovaná voda (*plasma activated water*, PAW) bola pripravená pomocou plazmovej trysky. Doba aktivácie bola 1, 3, 5 a 10 minút. Do pripravenej PAW boli ponorené plody paradajok po dobu 15 s, následne boli sušené po dobu 2 hodín pri izbovej teplote 25 °C. Kontrolný experiment bol prevedený s ultračistou destilovanou vodou. PAW preukázala výrazné zníženie obsahu zvyškov pesticídov



v porovnaní s kontrolnou vzorkou. S dlhšou dobou aktivácie vody boli pozorované lepšie výsledky. V štúdiu bol hodnotený nielen dekontaminačný účinok PAW, ale taktiež jej vplyv na kvalitu paradajok. Hodnotená bola farba, pH, obsah kyseliny askorbovej a fenolických látok. Výsledky potvrdili, že PAW mala len nepatrný vplyv na fyzikálne–chemické vlastnosti. Jej použitím prišlo k redukcii fungicídov a zároveň zostali zachované nutričné vlastnosti paradajok.

M. Ali s kolektívom [36] sa taktiež venovali degradácii fungicídov na paradajkách pomocou plazmou aktivovanej vody (*plasma activated water*, PAW) v kombinácii s ultrazvukom. Chlorothalonil je fungicíd, ktorý sa používa pri liečbe chorôb zeleniny, okrasných rastlín, ale predovšetkým sa používa pri ochrane paradajok proti hubovým chorobám. Na prípravu PAW bol použitý netepelný rádiofrekvenčný plazmový tryskový systém. Destilovaná voda bola vystavená plazmovému výboju po dobu 1, 3, 5, a 10 minút. Boli použité dve metódy, individuálne ošetrenie a kombinované. Pri individuálnom ošetrení ultrazvukom boli paradajky ponorené do destilovanej vody a následne sonifikované pomocou ultrazvukového prístroja po dobu 15 minút. Pri ošetrení PAW boli paradajky 15 minút premývané vodou rôznej doby vystavenia plazmovému výboju. Pri kombinovanom ošetrení boli paradajky ponorené do PAW vystavenej rôznej dlhej dobe pôsobenia plazmového výboja a podrobené ultrazvuku po dobu 15 minút. Pre kontrolnú vzorku boli plody ponorené do destilovanej vody. Zníženie koncentrácie chlorothalonilu bolo pozorované ako pri individuálnej tak pri kombinovanej metóde. Ultrazvukom sa znížila koncentrácia chlorothalonilu z pôvodných 100 % na 51,24 %. Pri použití PAW sa koncentrácia znižovala so zvyšujúcou sa dobou aktivácie vody. Najvyššie zníženie koncentrácie bolo pozorované pri kombinovanej metóde PAW s ultrazvukom, aj v tomto prípade bola účinnejšia voda vystavená dlhšiemu pôsobeniu plazmového výboja. Zníženie koncentrácie chlorothalonilu bolo o 89,29 %. Po ošetrení paradajok pomocou PAW spolu s ultrazvukom neboli pozorované zmeny v kvalite danej plodiny.

*Fusarium graminearum* je huba, ktorá spôsobuje vznik plesne na pšenici a obilii. Spôsobuje nielen straty na výnose a kvalite plodín, ale taktiež kontaminuje obilie mykotoxínami, ktoré sú nevhodné pre potravinársky priemysel. Štúdiom účinnosti plazmou aktivovanej vody (*plasma activated water*, PAW) na *Fusarium graminearum* sa zaoberal J. Guo s kolektívom [37]. Sterilná destilovaná voda bola aktivovaná pôsobením plazmy po dobu 15, 30, 45 a 60 minút. Pri teste fungicídnych aktivít *in vivo* boli klasy bodovo naočkované 20 µl suspenzie spor zmiešanej s PAW, následne boli klasy ponechané ku kultivácii po dobu 72 h. V porovnaní s kontrolou bol pozorovaný úbytok patogénu na klasoch pri použití PAW. PAW preukázala podobnú účinnosť ochrany ako syntetické fungicídy, avšak má kratšiu účinnú dobu. Účinnosť

PAW sa zvyšovala so zvyšujúcou sa dobou aktivácie pomocou plazmy. Pre test rastu mycélia boli v skúmavkách zmiešané 2 ml PAW a 0,5 ml suspenzie spor *Fusarium graminearum*. Po 1 hodine bolo odobratých 10 µl suspenzie a naočkované na agarové platne, ktoré boli inkubované pri teplote 28 °C. Priemery kolónii boli merané každých 12 h po dobu 5 dní. Výsledky preukázali inhibíciu rastu kolónii pri použití PAW v porovnaní s kontrolnou vzorkou. Produkcia biomasy sa znížila približne o 30 % v porovnaní s neošetrenými vzorkami. Čím bola voda vystavená dlhšiemu pôsobeniu plazmy, tým boli huby účinnejšie inaktivované. Celková mikrobiálna aktivita spor bola stanovená pomocou fluorescenčnej mikroskopie. Spory ošetrené PAW vykazovali znížený podiel fluorescencie, čo odpovedá zníženiu celkovej mikrobiálnej aktivity spor. PAW v tejto štúdií preukázala potenciál pri kontrole plesňovej kontaminácie.

V súčasnej dobe sú klíčky čoraz viac obľúbené vďaka svojej nutričnej hodnote a preukázanými prínosmi pre celkové zdravie. Predovšetkým klíčky brokolice sú považované za novodobú superpotravinu. Brokolicové klíčky bývajú často kontaminované baktériou *Escherichia coli*, ktorá patrí medzi gram–negatívne tyčinkovité baktérie. D. Zhang s kolektívom [38] sa zaoberali baktericidným účinkom plazmou aktivovanej vody (*plasma activated water*, PAW) na *Escherichia coli* nachádzajúcu sa na klíčkoch brokolice. Klíčky brokolice boli sterilizované pomocou etanolu a následne vysušené. Takto pripravené klíčky boli ponorené do 600 ml suspenzie *Escherichia coli* po dobu 30 minút. Následne boli vzorky ponechané po dobu 1 h v sušiarňi. PAW bola pripravená generovaním plazmového výboja nad vodnou hladinou po dobu 30, 60, 90 a 120 s. Naočkované klíčky brokolice boli za pravidelného miešania pri 130 ot/min ponorené do 50 ml sterilnej deionizovanej vody a PAW. V tejto štúdií PAW preukázala účinnú schopnosť deaktivácie baktérie *Escherichia coli*. Najvyššiu schopnosť deaktivácie mala PAW vystavená plazmovému výboju po dobu 60 s. Morfológické zmeny baktérie boli pozorované pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie. Pred ošetrením pomocou PAW mala baktéria tyčinkový tvar, hladký a neporušený povrch. Po ošetrení bolo pozorované poškodenie povrchu a baktéria už nemala pravidelný tvar. Poškodenie membrány baktérie bolo potvrdené aj pomocou prietokovej cytometrie. Kvalita brokolicových klíčkov nebola ovplyvnená pôsobením PAW.

Inaktivácii grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií pomocou atmosferickej studenej plazmy sa venoval L. Han s kolektívom [39]. Kľúčovú úlohu pri inaktivácii hrajú reaktívne častice kyslíka, ktoré počas generovania plazmy vznikajú. Tie spôsobujú bunkám oxidačný stres, kedy dochádza k inaktivácii enzýmov a štepeniu DNA. Ako modelové patogény boli použité *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*, nakoľko sú významné pre potravinársky

priemysel. Bakteriálne bunky boli kultivované po dobu 18 h pri 37 °C, následne boli oddelené centrifugáciou od média a resuspendované vo fosfátovom pufre za vzniku bunecnej suspenzie. V tejto štúdií bol využitý systém vysokonapät'ovej autologickej kondiciovanej plazmy (*High Voltage Autologous Conditioned Plasma*, HVACP) s dielektrickou bariérou. Výboj bol generovaný medzi dvomi hliníkovými elektródami oddelenými dvomi dielektrickými vrstvami z plexiskla. Medzi týmito vrstvami sa nachádzala polypropylénová nádoba, ktorá slúžila ako držiak vzorku. Suspenzia bakteriálnych buniek bola ošetroená pomocou HVACP pri 80 kV po dobu 1, 3, a 5 minút. Ošetroené vzorky boli skladované pri izbovej teplote po dobu 24 hodín. Výsledky preukázali účinnosť plazmy pri inaktivácii oboch baktérií so zvyšujúcou sa dobou expozície. Plazma mala vplyv na integritu bunkovej membrány, kedy meraním absorbancie pri 260 a 280 nm bolo pozorované zvýšenie absorbancie už po 1 minúte ošetroenia pre vzorky *Escherichia coli*. V prípade *Staphylococcus aureus* nebolo pozorované významné zvýšenie absorbancie ani po 5 minútach ošetroenia. Výraznejšie poškodenie membrány buniek *Escherichia coli* bolo pozorované i pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie. U baktérie *Staphylococcus aureus* plazma spôsobila nepravidelný tvar a zmenšenie buniek. Pri generovaní plazmy vznikajú reaktívne častice kyslíka (*reactive oxygen species*, ROS), ktoré napádajú bunkový obal aj intracelulárne zložky. U gramnegatívnych baktérií ROS spôsobujú narušenie bunkového obalu, čo vedie k úniku intracelulárnych zložiek. U grampozitívnych baktérií spôsobujú vážne poškodenie intracelulárnych zložiek, ale nedochádza k narušenie bunkového obalu.

Štúdiu priamej interakcie plazmy s grampozitívnymi a gramnegatívnymi baktériami sa venoval aj O. Lunov s kolektívom [40]. Ten využil okrem *Escherichia coli* aj *Pseudomona aeruginosa* ako zástupcov gramnegatívnych baktérií. Ako zástupcovia grampozitívnych baktérií boli zvolené *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*. K štúdiu baktericidného účinku plazmy boli použité dve zariadenia na generovanie plazmy, a to vysokonapät'ové (*high voltage*, HV) a nízkonapät'ové (*low voltage*, LV). U HV i LV plazmy bol pozorovaný antibakteriálny účinok, pričom pri dlhších expozičných časoch preukázala HV plazma lepší účinok. Pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie bol pozorovaný vplyv plazmy na bunkovú membránu a intracelulárny materiál. Dlhšia doba expozície viedla k poškodeniu všetkých zástupcov bakteriálnych kmeňov, pričom HV malo významný účinok už pri kratšej dobe expozície. Grampozitívne baktérie preukázali väčšiu odolnosť voči fyzikálnej deštrukcii steny, ktorá má silnú peptidoglykanovú vrstvu a bunkovú membránu, zatiaľ čo u gramnegatívnych baktérií sa stena skladá z dvoch bunkových membrán a tenkej peptidoglykanovej vrstvy.

### 3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

#### 3.1 Použité chemikálie

- MQuent Nitrite Test 0,8 – 1,0 mg·l<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>;
- MColortest Nitrate Test 10 -150 mg·l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>;
- Dusičnan draselný p.a., Lach-Ner s.r.o., Neratovice;
- Dusitan sodný p.a., Lach-Ner s.r.o., Neratovice;
- Síran amonný, Penta s.r.o., Praha;
- Chlorid draselný, Lachema n. p. Brno, Neratovice;
- Síran horečnatý, Penta s.r.o., Praha;
- Síran manganatý, Chemicals unlimited;
- Síran železnatý, Lachema s.r.o. Brno, Neratovice;
- Agar, Himedia;
- Kvasinky, Himedia;
- Glukóza, Lach-Ner s.r.o., Neratovice;
- Fosforečnan vápenatý, Penta s.r.o., Praha;
- Deionizovaná voda;
- Folin-Ciocalteuovo činidlo;
- Roztok uhličitanu sodného;
- Síran titaničitý v H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;
- Gelové červené farbivo, Dr. Oetker, Kladno
- TOC-VCSH & TNM-1, Shimadzu Scientific Instruments, Inc., USA

#### 3.2 Použité prístroje

- UV/VIS spektrofotometer, Hitachi U3900H;
- pH meter, Mettler Toledo;
- zdroj dielektrického bariérového výboja;
- konduktometer, Mettler Toledo

#### 3.3 Príprava laboratórnych nádobových experimentov

Pri experimente bola využitá pôda z oblastí, ktorú využíva Mendelova univerzita v katastri obce Žabčice (49.017809,16.590496). Pred použitím bola pôda preosiata cez 2 mm sito. Do dvanástich kvetináčov o rozmeroch 13x13x13 cm bolo navážené 1,2 kg pôdy. Pôda bola na začiatku zaliata 200 ml príslušnej vody. Ako zálievka bola použitá destilovaná voda a plazmou aktivovaná voda, ktorá bola vyrobená pomocou dielektrického bariérového výboja

po dobu expozície 2, 5 a 10 minút. Ako modelová rastlina bol vybraný hlávkový šalát (*Lactuca sativa*). Pred samotnou sadbou bolo potrebné nechať semená naklíčiť. Na filtračný papier v Petriho miske bolo daných cca 25 semien dostatočne ďaleko od seba. Tie boli následne zaliate 15 ml destilovanej vody, priklopené druhým filtračným papierom a ponechané ku klíčeniu v tmavej miestnosti pri izbovej teplote po dobu 4 až 5 dní. Do každého kvetináča bol zasadený jeden klíček šalátu. Rastliny boli pravidelne zalievané príslušnou vodou po dobu 90 dní podľa tabuľky 11. S pôdou bolo pracované podľa ďalších postupov. Do rohov kvetináčov boli pridané čajové vrecká zeleného a rooibos čaju, na ktorých bola sledovaná rýchlosť dekompozície organických látok v pôde.

### **3.4 Príprava plazmou aktivovanej vody**

K príprave plazmou aktivovanej vody bol použitý systém s dielektrickým bariérovým výbojom. Ten bol zložený zo spodnej časti Petriho misky s vonkajšou grafitovou elektródou vyrobenou pomocou grafitového laku. Druhá elektróda, umiestnená na Petriho miske, bola vyrobená z keramickej dosky z oxidu hlinitého s PVD (*physical vapour deposition, nanášanie odparením z pevnej fázy*) vyrobenou hornou striebornou elektródou. Elektródy boli pripojené ku zdroju, ktorý bol symetricky konštruovaný, teda žiadna elektróda nebola uzemnená. Zdroj pracoval na frekvencii 11 kHz a vrcholové napätie bolo 16 kV. Medzi hladinou vody a hornou elektródou sa nachádzala plynná medzera o veľkosti 3,2 mm. Celková dodaná energia z elektrickej siete bola  $(36 \pm 2)$  W [16]. Z odmerného valca bolo preliatych 75 ml destilovanej vody do Petriho misky upevnenej k zdroju dielektrického bariérového výboja. Na destilovanú vodu bol aplikovaný výboj v 15 sekundových intervaloch po dobu 2, 5 a 10 minút. Medzi ošetreniami bol systém otváraný, aby prišlo k odvetraniu vzniknutých plynov a prívodu čerstvého vzduchu. Postup bol niekoľkokrát opakovaný pre získanie dostatočného množstva PAW.



Obrázok 7 Zdroj dielektrického bariérového výboja

### 3.5 Fyzikálne-chemická charakterizácia plazmou aktivovanej vody

#### 3.5.1 Spektrofotometrické stanovenie dusičnanov

Na prípravu 1000 ml zásobného roztoku dusičnanov o koncentrácii  $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  bol použitý dusičnan draselný. Na analytických váhach bolo naváženených  $0,1630 \text{ mg}$  dusičnanu draselného, ktorý bol následne kvantitatívne prenesený do odmernej banky a doplnený 1000 ml destilovanej vody. Následne bola pripravená kalibračná rada riedením zásobného roztoku. Zásobný roztok bol riedený do 50 ml odmerných baniek podľa požadovanej koncentrácie (tabuľka 1). Každý roztok bol napipetovaný do 4 skúmaviek po 5 ml a boli k nemu pridané dve odmerky činidla MColortest Nitrate Test  $10\text{--}150 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Následne bola zmeraná absorbancia na UV/VIS spektrofotometry v kremennej kyvete pri vlnovej dĺžke 380 nm.

Tabuľka 1 Riedenie zásobného roztoku pre zhotovenie kalibračnej krivky dusičnanov

$\text{CN}_3^- \text{ [mg}\cdot\text{l}^{-1}]$	$V_{\text{zás.roz}} \text{ [ml]}$
10,0	5,00
12,5	6,25
25,0	12,50
37,5	18,75
50,0	25,00
75,0	37,50
100,0	50,00

Na stanovenie koncentrácie dusičnanov bol použitý MColortest Nitrate Test 10–150 mg·l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ktorý obsahuje kyselinu boritú, sulfanilovú a kadmiový prášok. K 5 ml vzorku v skúmavke boli pridané dve odmerky činidla. V prítomnosti dusičnanov sa vzorky sfarbili do slabo oranžova. Následne bola zmeraná absorbanca v kremennej kyvete pri 380 nm.

### 3.5.2 Spektrofotometrické stanovenie dusitanov

Na prípravu 1000 ml zásobného roztoku dusitanov o koncentrácii 100 mg·l<sup>-1</sup> bol použitý dusitan sodný. Na analytických váhach bolo navážených 0,1500 mg dusitanu sodného, ktorý bol kvantitatívne prenesený do odmernej banky a doplnený 1000 ml destilovanej vody. Zásobný roztok bol nariadený podľa tabuľky 2 do 50 ml odmerných baniek. Roztoky boli následne rozdelené po 5 ml do 4 skúmaviiek, kde bola pridaná 1 odmerka činidla MQuant Nitrite Test 0,08–1,0 mg·l<sup>-1</sup>. Absorbancia bola zmeraná na UV/VIS spektrofotometri v plastovej kyvete pri vlnovej dĺžke 543 nm.

Tabuľka 2 Riedenie zásobného roztoku pre zhotovenie kalibračnej krivky dusitanov

<b>CNO<sub>2</sub>- [mg·l<sup>-1</sup>]</b>	<b>V<sub>zás.roz</sub> [ml]</b>
0,05	0,025
0,10	0,050
0,15	0,075
0,20	0,100
0,25	0,125
0,50	0,250
0,75	0,375
1,00	0,500

Koncentrácia dusitanov bola stanovená pomocou MQuant Nitrite Test 0,08–1,0 mg·l<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ktorý obsahuje kyselinu sulfanilovú. Roztoky boli pripravené zmiešaním 5 ml vzorku s jednou odmerkou činidla. V prítomnosti dusitanov sa vzorky sfarbili do rúžovej. Absorbancia bola zmeraná v plastovej kyvete pri 543 nm.

### 3.5.3 Spektrofotometrické stanovenie peroxidu vodíka

Na prípravu zásobného roztoku peroxidu vodíka bol použitý 30% roztok peroxidu vodíka o hustote 1,11 kg·l<sup>-1</sup> a molárnej hmotnosti 34,0147 g·mol<sup>-1</sup>. 0,5 ml tohto roztoku bolo zriedeného destilovanou vodou do 100 ml odmernej banky. Kalibračná rada bola pripravená ďalším riedením zásobného roztoku podľa požadovaných koncentrácií (tabuľka 3). Roztoky

boli rozdelené do 4 skúmaviek po 2 ml, ku ktorým bol pridaný 1 ml titaničitého činidla. Hodnoty absorbancie boli zmerané v plastovej kyvete pri vlnovej dĺžke 407 nm.

Tabuľka 3 Riedenie zásobného roztoku pre zhotovenie kalibračnej krivky peroxidu vodíka

<b>c [mmol·l<sup>-1</sup>]</b>	<b>V<sub>zás.roz</sub> [μl]</b>
0,25	255
0,50	511
0,75	766
1,00	1021
1,25	1277
1,50	1532
1,75	1787
2,00	2043
2,25	2298
2,50	2553

Peroxid vodíka bol stanovený pomocou síranu titaničitého v kyseline sírovej. Do skúmavky boli odpipetované 2 ml vzorku a 1 ml činidla. Roztok sa sfarbil do slabo žltá v prítomnosti peroxidu vodíka. Absorbancia bola zmeraná v plastovej kyvete pri 407 nm.

### **3.6 Charakterizácia pôdy**

#### **3.6.1 Fumigačne-extrakčná metóda**

Fumigačne–extrakčná metóda slúži k stanoveniu obsahu celkovej mikrobiálnej biomasy pôd. Jej výhodou je stanovenie priamo vo vzorke bez nutnosti separácie mikroorganizmov. Pri fumigovaných vzorkách bolo do Petriho misiek pomocou analytických váh navážených 25 g pôdy. Petriho miska bola spolu s mokrým filtračným papierom, 30 ml chloroformu, zmesou sorbentov hydroxidu sodného a hydroxidu draselného, hydroxidom vápenatým a vodou umiestnená do exsikátora. Exsikátor bol evakuovaný pomocou membránovej vývevy a ponechaný k inkubácii po dobu 24 hodín v tme. Po 24 hodinách bola fumigovaná pôda zmiešaná s 200 ml 0,5M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a ponechaná k 45 minútovej extrakcii. Následne bola vzorka prefiltrovaná pomocou skladaného filtru. V prípade nefumigovaných vzoriek bolo 25 g pôdy priamo zmiešaných s 200 ml 0,5M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a následne ponechaná k 45 minútovej extrakcii a prefiltrovaná cez skladaný filter. Všetky vzorky boli následne analyzované pomocou TOC/TN. Táto analýza sa využíva k stanoveniu celkového organického uhlíka a dusíka vo vzorke pomocou TOC/TN analyzátora. V analyzátore sú vzorky unášané nosným plynom do pyrolýznej kyvety a spálené pri vysokých teplotách. Počas spaľovania vzoriek dochádza k premene viazaného uhlíka a dusíka na ich oxidy, ktoré sú následne s nosným plynom unášané



do detektoru [41]. Pre analýzu bolo odobratých 5 ml vzorku, ktorý bol následne prefiltrovaný cez 0,2  $\mu\text{m}$  filter. U takto pripraveného vzorku bola premeraná celková koncentrácia organického uhlíka a dusíka TOC/TN analyzátorom. Obsah uhlíka a dusíka bol stanovený automaticky na základe externej kalibračnej krivky uloženej v softvare TOC/TN analyzátora. Zo získaných dát bol dopočítaný celkový obsah organického uhlíka a dusíka.

### 3.6.2 Stanovenie pH pôdy

Na analytických váhach bolo navážených 5 g pôdy, ktorá bola následne zmiešaná s 25 ml 1M KCl. Vzorky boli 5 minút trepané a následne ponechané odstáť po dobu 2 hodín. Po uplynutí danej doby bolo zmerané pH suspenzie pôdy v KCl pomocou pH metru.

### 3.6.3 Rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde

Rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde bola sledovaná na dvoch druhoch čaju, a to zelenom a rooibos čaji. Zelený čaj predstavuje ľahko rozložiteľný organický materiál, zatiaľ čo rooibos čaj predstavuje horšie sa rozkladajúci a rozkladu odolnejší organický materiál. Čajové vrecká boli vysušené v sušiarňi, zvážené na analytických váhach a následne dané do rohov kvetináčov. Do každého kvetináča boli dané z každého druhu po dve vrecká. Po 90 dňoch boli vrecká vybrané, očistené od pôdy, vysušené a zvážené na analytických váhach. Zo získaných dát bol vypočítaný stabilizačný faktor  $S$  a rýchlostná konštanta dekompozície  $k$  organickej hmoty v pôde na základe rovníc z predchádzajúcej štúdie Keuskampa s kolektívom [42]:

$$W(t) = ae^{-kt} + (1 - a) \quad (9)$$

$$S = 1 - \frac{a_g}{H_g} \quad (10)$$

kde  $W(t)$  je hmotnosť substrátu po dobe inkubácie  $t$ ,  $a$  je labilná frakcia,  $S$  predstavuje stabilizačný faktor,  $a_g$  je rozložiteľná frakcia a  $H_g$  je hydrolyzovateľná frakcia.

### 3.6.4 Stanovenie celkového obsahu vodou extrahovateľných polyfenolických látok

Pre stanovenie celkového obsahu polyfenolických látok bolo potrebné najskôr zhotoviť kalibračnú krivku kyseliny gallovej. Z príslušného zásobného roztoku bolo do odmerných baniek odpipetované požadované množstvo kyseliny podľa tabuľky 4 a doplnené deionizovanou vodou po rysku. Do sklenenej skúmavky bol následne odpipetovaný 1 ml Folin–Ciocalteuova činidla, 1 ml deionizovanej vody, 50  $\mu\text{l}$  štandardu kyseliny gallovej a 1 ml

nasýteného roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Takto pripravená kalibračná rada bola ponechaná stáť po dobu 2 hodín. Absorbancia bola zmeraná v plastovej kyvete pri vlnovej dĺžke 750 nm.

Tabuľka 4 Riedenie zásobného roztoku pre zhotovenie kalibračnej krivky kyseliny gallovej

$c$ [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]	$V_{\text{zás.roz}}$ [ $\text{cm}^3$ ]
50	1,25
100	2,50
200	5,00
250	6,25
300	7,50
400	10,00
500	12,50

Celkové polyfenoly boli stanovované zo vzoriek zeleného čaju. Z každého vzorku čajového vrečka bolo na analytických váhach zvážených 100 mg do vialiek. Navážky boli zaliate 20 ml vriacej deionizovanej vody a ponechané lúhovať po dobu 24 hodín. Po uplynutí doby lúhovania boli vzorky prefiltrované cez 0,45  $\mu\text{m}$  membránový filter. Do sklenenej skúmavky bol odpipetovaný 1 ml Folin–Ciocalteuova činidla, 1 ml deionizovanej vody, 50  $\mu\text{l}$  vzorku a 1 ml nasýteného roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Po dvoch hodinách bola zmeraná absorbancia v plastovej kyvete pri vlnovej dĺžke 750 nm.

### 3.7 Kultivácia fosfor rozpúšťajúcich baktérií

#### 3.7.1 Príprava kultivačného média

Na základe literárnych rešerší bol ako kultivačné médium zvolený Pikovskaya agar, ktorý je určený pre fosfor rozpúšťajúce baktérie. Na analytických váhach boli do reagenčných fliaš zvážené všetky komponenty podľa priloženej tabuľky 5. Reagenčné fľaše boli doplnené 500 ml destilovanej vody, uzatvorené a jemným krúžením boli rozpustené všetky pridané komponenty. Pripravené média boli následne umiestnené do tlakového hrnca, kde prebehla sterilizácia po dobu 45 minút pri teplote 120 °C. Po uplynutí danej doby bolo ešte horúce médium naliate do Petriho misiek. Pri zopakovaní experimentu bolo pre lepšie pozorovanie kolónii do média pridané prírodné červené potravinárske farbivo.

Tabuľka 5 Zloženie kultivačného média

Chemikálie	Navážka [mg]
kvasinky	250
glukóza	5500
fosforečnan vápenatý	2500
síran amónny	250
chlorid draselný	100
síran horečnatý	102
síran manganatý	0,05
síran železnatý	0,092
agar	7500

### 3.7.2 Príprava vzoriek

Pomocou analytických váh bolo do Erlenmeyerových baniek zvážených 5 g pôdy z každého kvetináča. K pôde bolo pridaných 45 ml sterilnej destilovanej vody a takto pripravené suspenzie boli ponechané 1 h na trepačke. Následne boli suspenzie nariadené do skúmaviek, kedy k 0,5 ml pôvodného vzorku bolo pridaných 4,5 ml sterilnej destilovanej vody. Rovnakým postupom bola pripravená rada riedení až do 1000vého riedenia.

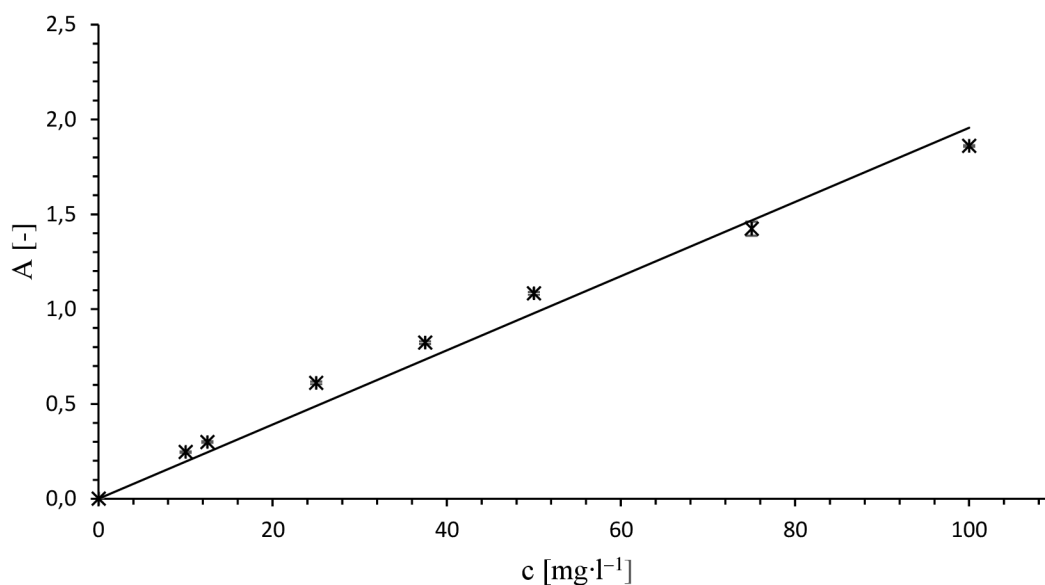
### 3.7.3 Očkovanie a kultivácia mikroorganizmov

Po stuhnutí kultivačného média bol na každú Petriho misku naočkovaný 1 ml pripravených vzoriek. Koncentrácie použité na očkovanie boli  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  a  $10^{-3}$ , kedy koncentráciu  $10^{-2}$  bola zaočkovaná na dvojnásobný počet misiek. Zaočkované boli aj pôvodné suspenzie, aby sme mali možnosť overiť prítomnosť mikroorganizmov v danej vzorke. Zaočkované Petriho misky boli následne kultivované v termostate po dobu 24 hodín pri 37 °C.

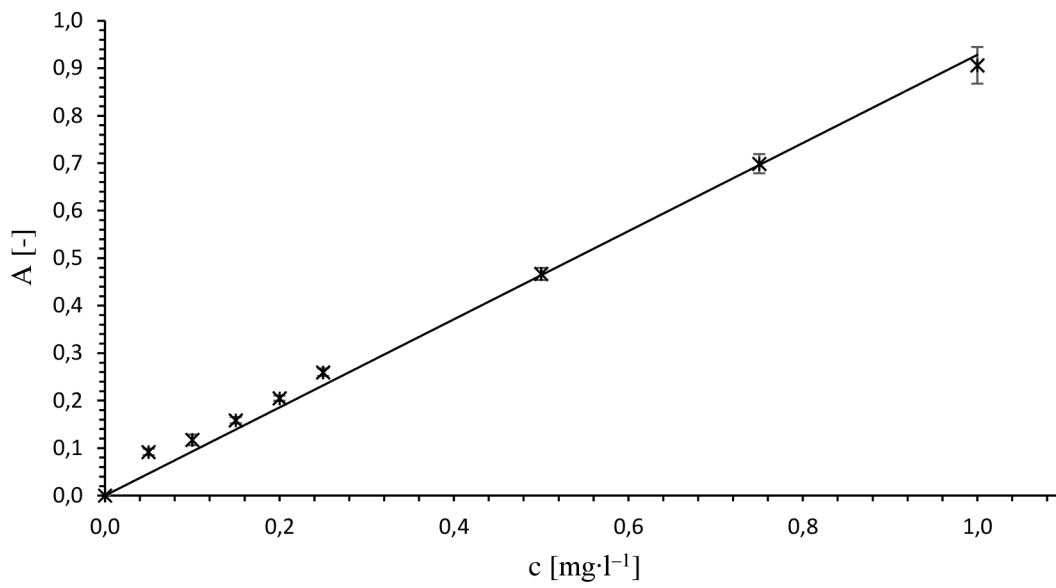
## 4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 4.1 Charakterizácia plazmou aktivovanej vody

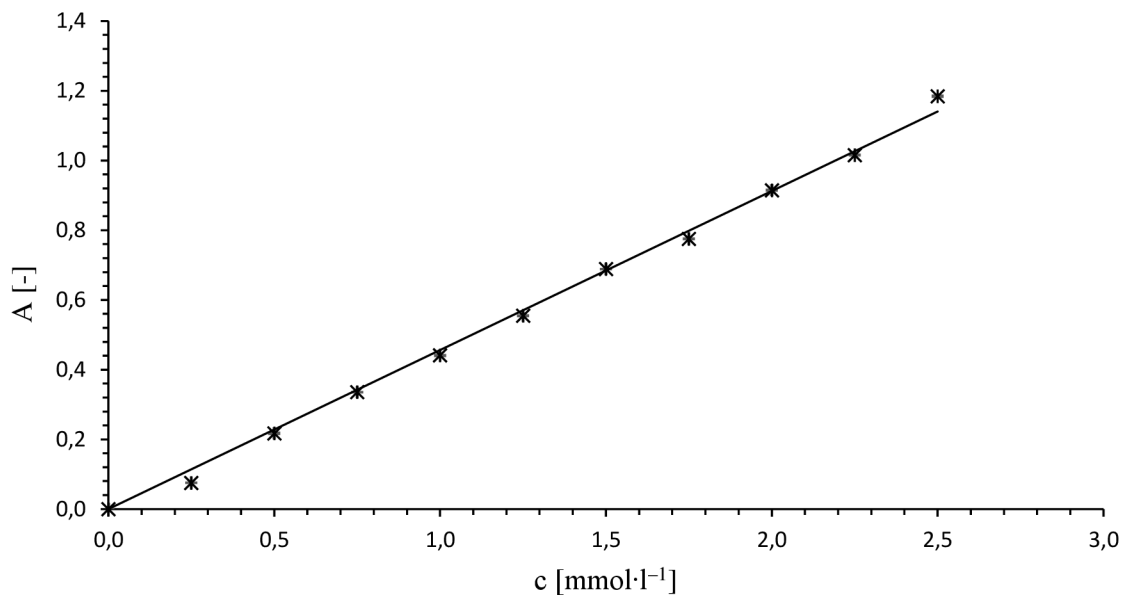
Za špecifické vlastnosti plazmou aktivovanej vody sú zodpovedné reaktívne častice kyslíka a dusíka, ktoré počas plazmovej úpravy vody vznikajú. Aby bolo možné vyhodnotiť účinok plazmou aktivovanej vody na pôdne mikroorganizmy je najskôr potrebné charakterizovať jej fyzikálne–chemické vlastnosti. Medzi tieto vlastnosti, ktoré boli stanovované patrí vodivosť, pH, koncentrácia dusičnanov; dusitanov a peroxidu vodíka. Ich obsah bol stanovovaný spektrofotometricky pomocou činidiel MQuent Nitrite Test, MColortest Nitrate Test a titaničitého činidla. Následne na základe rovníc kalibračných kriviek (obrázok 8, 9 a 10) bola vypočítaná ich koncentrácia.



Obrázok 8 Kalibračná krivka pre stanovenie dusičnanov



Obrázok 9 Kalibračná krivka pre stanovenie dusitanov



Obrázok 10 Kalibračná krivka pre stanovenie peroxidu vodíka

Tabuľka 6 Priemerné hodnoty pH, vodivosti a koncentrácie RONS pre jednotlivé typy vôd

	pH	$\sigma$ [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]	c [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]		
			$\text{NO}_3^-$	$\text{NO}_2^-$	$\text{H}_2\text{O}_2$
DW	7,2±0,3	40±3	0,00	0,00	0,00
PAW <sub>2</sub>	5,9±0,2	55±3	6,78±0,10	0,07±0,04	6,27±0,01
PAW <sub>5</sub>	4,1±0,2	80±1	6,02±0,05	0,12±0,11	7,84±0,01
PAW <sub>10</sub>	3,7±0,2	190±2	10,82±0,29	0,14±0,16	7,15±0,01

Na základe tabuľky 6 môžeme vidieť, že hodnota pH plazmou ošetrenej vody sa znižovala so zvyšujúcou sa dobou expozície vody dielektrickému bariérovému výboju. To je spôsobené produkciou reaktívnych častíc kyslíka a dusíka, ktoré sú schopné uvoľňovať vodíkové ióny do vodného prostredia. Produkcia reaktívnych častíc kyslíka a dusíka zvyšuje prítomnosť nabitých častíc vo vode, čím dochádza k zvýšeniu vodivosti plazmou aktivovanej vody. So zvyšujúcou sa dobou expozície vody dielektrickému bariérovému výboju sa zvyšovala koncentrácia dusičnanov, dusitanov a peroxidu vodíka. Dusíkaté zlúčeniny sú dôležité pre správny rast rastlín, tie ich dokážu prijímať z pôdy i v podobe  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  iónov. Pôdne mikroorganizmy prijímajú dusík prevažne z organických zlúčenín ako sú aminokyseliny alebo pútajú vzdušný dusík, ktorý ďalej premieňajú na formy využiteľné pre rastliny. Naopak peroxid vodíka je spolu s nízkym pH označovaný za hlavný dôvod antimikrobiálnych účinkov plazmou aktivovanej vody.

#### 4.2 pH pôdy

Hodnota pH pôdy má zásadný vplyv na dostupnosť živín pre rastlinu, a tým nepriamo ovplyvňuje i mikroorganizmy nachádzajúce sa v pôde. Optimálne pH pôdy pre rast väčšiny plodín sa pohybuje v rozmedzí 6–7,0. Vyššie hodnoty pH pôdy znižujú dostupnosť živín pre rastliny. Príliš kyslé pH pôdy má za následok znižovanie počtu mikroorganizmov v pôde. Znižuje sa počet baktérii, ktoré sú schopné rozkladať organickú hmotu a jej hromadením sa znižuje prístupnosť živín pre rastliny [43].

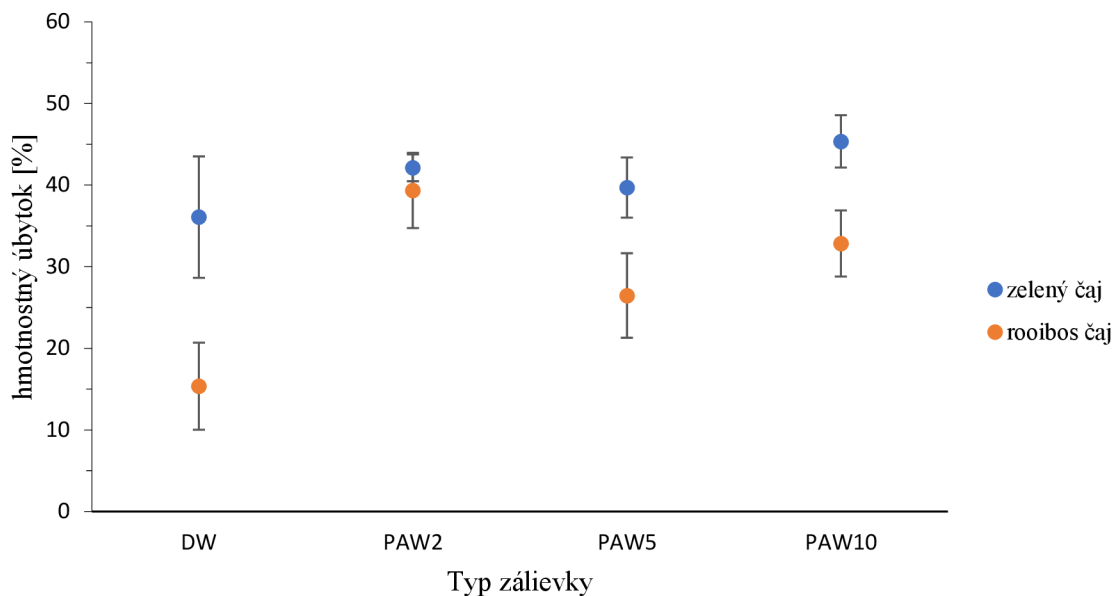
Tabuľka 7 Namerané hodnoty pH pôdy v KCl

	pH			výsledné pH
DW	5,65	5,70	5,73	5,69±0,04
PAW <sub>2</sub>	5,45	5,82	5,78	5,68±0,20
PAW <sub>5</sub>	5,86	6,04	6,28	6,06±0,21
PAW <sub>10</sub>	5,90	5,35	5,55	5,60±0,28

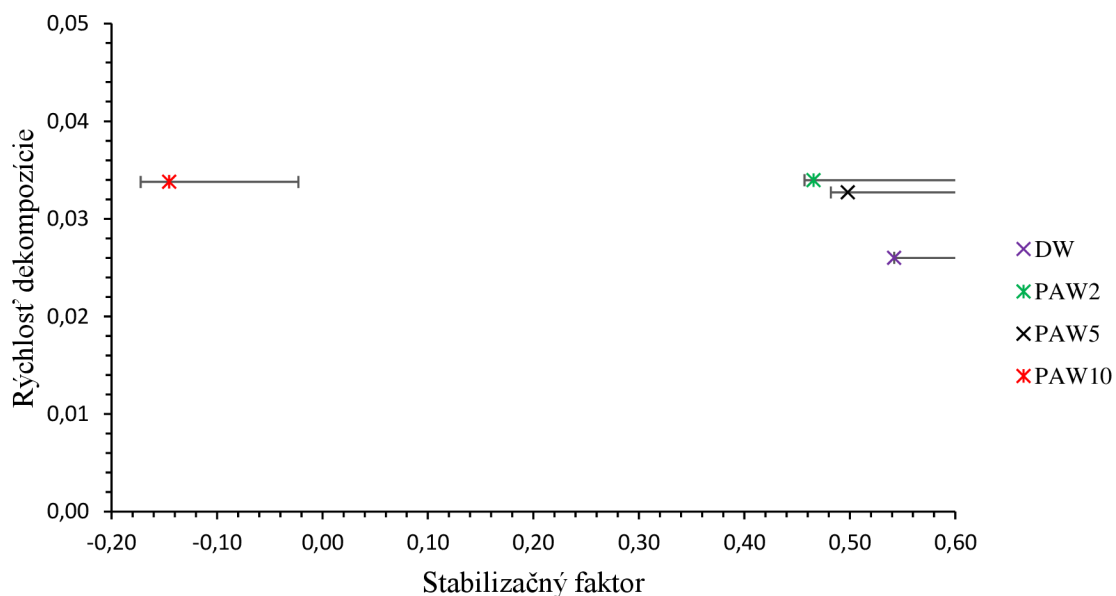
Na základe tabuľky 7 môžeme vidieť, že aplikáciou plazmou aktivovanej vody na pôdu nedošlo k veľkému poklesu pH pôdy. V prípade destilovanej vody bola priemerná hodnota pH (5,69±0,04). Najnižšia hodnota bola nameraná pri použití plazmou aktivovanej vody, ktorej doba expozície výboju bola 10 minút, a to (5,60±0,28). Namerané výsledky ukazujú, že aplikácia plazmou aktivovanej vody nemá negatívny vplyv na fyzikálne–chemické vlastnosti pôdy, a tým ani na rast rastlín a mikroorganizmy nachádzajúce sa v pôde.

#### 4.3 Rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde

Dekompozícia organickej hmoty v pôde je dôležitým krokom v uhlíkovom cykle, ktorý ovplyvňuje zmenu klímy. Rozkladom organickej hmoty uvoľňuje pôda do vzduchu CO<sub>2</sub>, ktorý patrí medzi skleníkové plyny, a tým pôsobí na zmenu klímy. Vplyv plazmou aktivovanej vody na rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde bola sledovaná pomocou metódy čajových vreciek. V tomto experimente boli použité dva druhy čaju, zelený čaj a rooibos čaj. Zelený čaj predstavoval ľahko rozložiteľný organický materiál, nakoľko je zložený predovšetkým z celulózy. Naopak rooibos čaj zastupoval ťažšie rozložiteľný organický materiál, v ktorom je viac zastúpený lignín. Ako môžeme vidieť na obrázku 11, pri zálievke v podobe destilovanej vody bol zaznamenaný vyšší hmotnostný úbytok pri zelenom čaji, a to 36,08 %. V prípade použitia plazmou aktivovanej vody na zelený čaj nebol zaznamenaný rapidný hmotnostný úbytok. Naopak pri rooibos čaji, na ktorý bola aplikovaná destilovaná voda predstavoval hmotnostný úbytok 15,35 %. V tomto prípade bol pri použití plazmou aktivovanej vody pozorovaný vyšší hmotnostný úbytok takmer o polovicu. Na základe získaných dát môžeme tvrdiť, že plazmou aktivovaná voda mala vplyv na rýchlosť dekompozície organickej hmoty, hlavne v prípade rooibos čaju.



Obrázok 11 Graf hmotnostného úbytku v závislosti na typu zálievky



Obrázok 12 Rýchlosť dekompozície a stabilizačný faktor pre čajové vrecká ošetrované rôznym typom zálievky po dobu 90tich dní

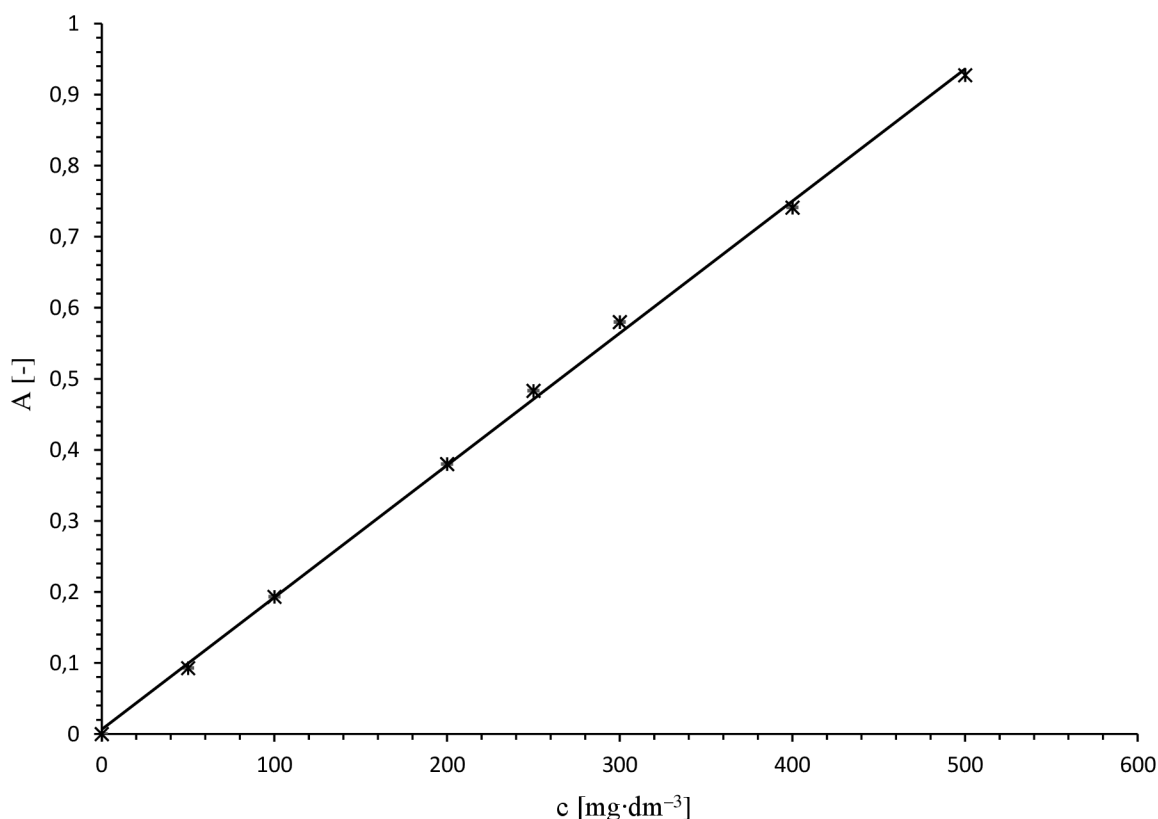
Stabilizačný faktor  $S$  udáva stupeň, do ktorého sa labilná frakcia prítomná v zelenom čaji rozložila. Rýchlosť dekompozície  $k$  udáva rýchlosť, ktorou prišlo k rozkladu labilnej frakcie vo vzorke. Hodnoty stabilizačného faktora boli veľmi podobné pri použití destilovanej vody a plazmou aktivovanej vody po dobu 2 a 5 minút. Pri plazmou aktivovanej vode po dobu 10 minút dosiahol stabilizačný faktor zápornej hodnoty. Môžeme predpokladať, že v tomto prípade



začalo dochádzať i k rozkladu v ostatných vzorkách inak stabilizovaného jednoducho hydrolyzovateľného organického materiálu. Priemerná hodnota konštanty rýchlosti dekompozície bola stanovená na  $(0,03 \pm 0,01) \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{deň}^{-1}$ . Podobnú hodnotu konštanty dekompozície zistili i Laurent s kolektívom [44], ktorí sa zaoberali rýchlosťami rozkladu čajových vreciek na 60 miestach pozdĺž riek Coaticook a Massawippi v Quebecu, jej hodnotu stanovili na  $(0,02 \pm 0,01) \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{deň}^{-1}$ .

#### 4.4 Stanovenie celkového obsahu vodou extrahovateľných polyfenolických látok

Polyfenolické látky patria medzi silné antioxidanty, ktoré chránia rastliny pred patogénnymi organizmami a oxidatívnym stresom, čím prispievajú k zdraviu rastliny. Tieto látky sú schopné regulovať fyziologické a metabolické procesy v rastlinách, ako je fotosyntéza, asimilácia dusíka či koreňový rast. Ako antioxidanty sú významné i pre ľudí, kedy pomáhajú znížiť riziká niektorých typov rakoviny, podporujú zdravie srdca a imunitu [45]. Polyfenoly sú podľa polyfenolovej teórie označované ako jeden z prekursorov vzniku humínových látok [46]. Na základe rovnice kalibračnej krivky bola vypočítaná koncentrácia polyfenolických látok vo vzorke (obrázok 13).



Obrázok 13 Kalibračná krivka pre stanovenie obsahu polyfenolických látok

Tabuľka 8 Obsah polyfenolických látok v pôvodnej vzorke zeleného čaju a v kontakte s destilovanou vodou a plazmou aktivovanou vodou po dobu 2, 5 a 10 minút

	c[mg·g <sup>-1</sup> ]
<b>Pôvodná vzorka zeleného čaju</b>	576,8±6·10 <sup>-4</sup>
<b>DW</b>	51,6±0·10 <sup>-3</sup>
<b>PAW<sub>2</sub></b>	11,1±2·10 <sup>-3</sup>
<b>PAW<sub>5</sub></b>	16,2±2·10 <sup>-3</sup>
<b>PAW<sub>10</sub></b>	19,3±2·10 <sup>-3</sup>

Z výsledkov môžeme vidieť, že po 90tich dňoch prišlo k značnému úbytku koncentrácie polyfenolických látok v zelenom čaji. Pri porovnaní destilovanej vody (DW) s plazmou aktivovanou vodou (PAW) bol úbytok koncentrácie niekoľkonásobne väčší. Aplikáciou PAW prišlo pravdepodobne k podpore a urýchleniu procesov súvisiacich s dekompozíciou organickej hmoty, čo bolo možné pozorovať na hmotnostnom úbytku vzoriek i na stanovení celkových vodou extrahovateľných polyfenolických látok.

#### 4.5 Stanovenie celkového obsahu mikrobiálnej biomasy v pôde

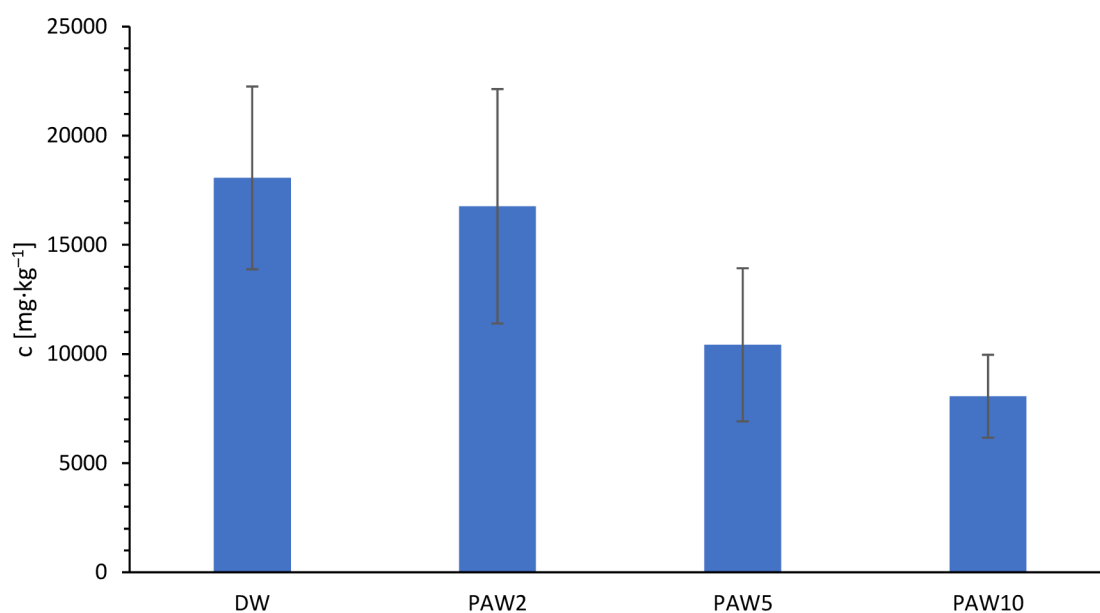
Vzorky pre stanovenie celkového obsahu mikrobiálnej biomasy v pôde boli pripravené fumigačne–extrakčnou metódou. Počas fumigácie dochádza k lýze buniek mikroorganizmov a uvoľneniu organického materiálu. Zo vzoriek bol následne analyzovaný celkový organický uhlík (*total organic carbon*, TOC) a celkový dusík (*total nitrogen*, TN), výsledky sú zobrazené v tabuľke 9 a na obrázku 14 a obrázku 15. TOC a TN poskytujú dôležité informácie pre určenie množstva živín, ktoré sú v ekosystéme k dispozícii a môžu byť využité rastlinami a inými organizmami. Taktiež poskytujú informácie o kvalite pôdy. Medzi TOC patria organické zlúčeniny obsahujúce uhlík vrátane odumretých rastlín, živočíchov a mikroorganizmov. Medzi TN patria organické a anorganické formy dusíka. Pôda získava organický uhlík a dusík nielen rozkladom rastlín a živočíchov, ale aj z antropogénnych zdrojov, ako sú hnojivá alebo chemické kontaminanty [47]. Výsledná koncentrácia uhlíka a dusíka bola stanovená na základe rovníc z predchádzajúcej štúdie Dalala [48]. Konštanty boli použité pri teplote 22 °C, hodnota  $k_C = 0,41$  a  $k_N = 0,50$ .

$$C = (C_{fumig} - C_{nefumig})/k_C \quad (11)$$

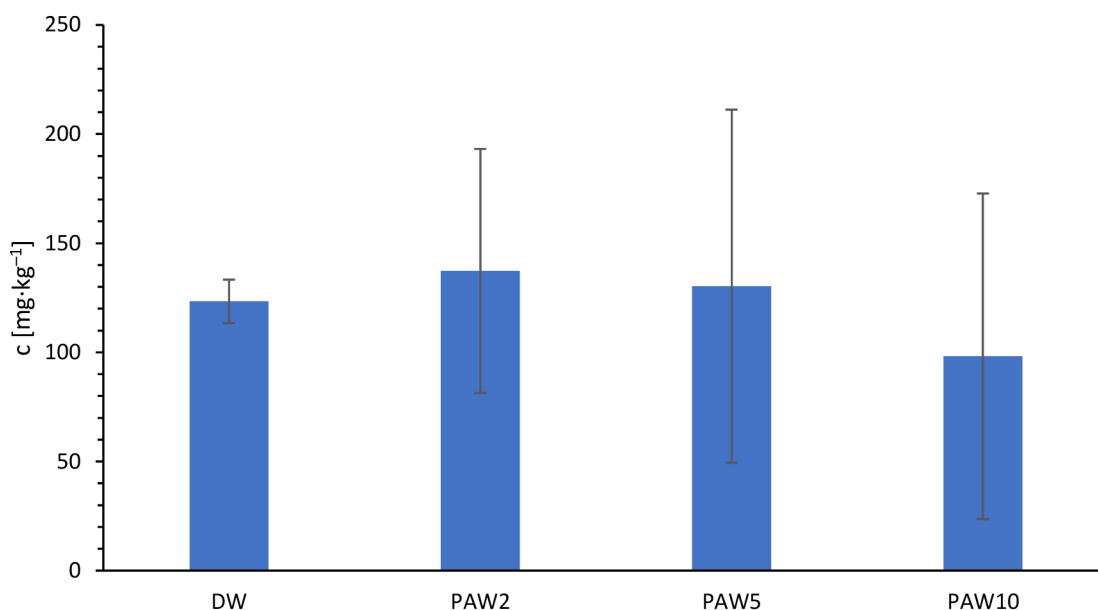
$$N = (N_{fumig} - N_{nefumig})/k_N \quad (12)$$

Tabuľka 9 Koncentrácia organického uhlíka a dusíka uvoľneného z mikrobiálnej biomasy počas fumigačne-extrakčnej metódy

	c [mg·kg <sup>-1</sup> ]	
	C	N
<b>DW</b>	18068±4186	123±10
<b>PAW<sub>2</sub></b>	16768±5369	137±56
<b>PAW<sub>5</sub></b>	10422±3508	130±81
<b>PAW<sub>10</sub></b>	8063±1900	98±75



Obrázok 14 Stanovenie celkového organického uhlíka vo vzorke pomocou TOC/TN analyzátora



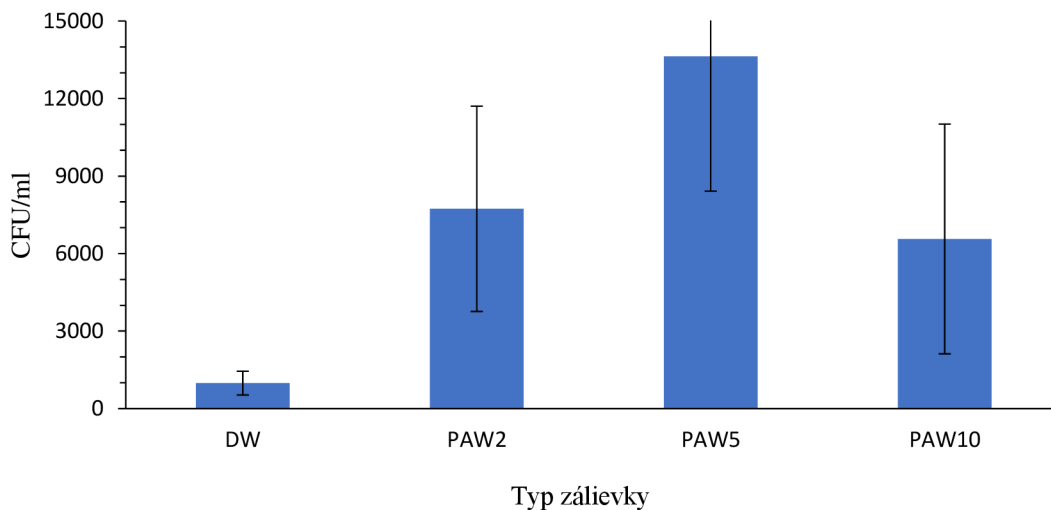
Obrázok 15 Stanovenie celkového dusíka vo vzorke pomocou TOC/TN analyzátora

Z výsledkov je možné pozorovať, že pri použití plazmou aktivovanej vody ako zálievky prišlo k značnému poklesu v koncentrácii organického uhlíka v pôde, ktorý odpovedá celkovej mikrobiálnej biomase. Najvyšší pokles bol zaznamenaný pri použití plazmou aktivovanej vody s dobou expozície plazme 10 minút. To mohlo byť spôsobené tým, že tento typ zálievky obsahoval najvyššiu koncentráciu reaktívnych častíc ako je zobrazené v tabuľke 6. Domnievame sa, že plazmou aktivovaná voda na základe fumigačne–extrakčnej metódy inhibovala rast mikroorganizmov, čím prišlo k spomaleniu degradácie organickej hmoty mikroorganizmami. Na druhej strane stabilizačný faktor, rýchlostná konštanta a celkový obsah polyfenolických látok ukazujú, že plazmou aktivovaná voda podporila dekompozíciu organickej hmoty. Dá sa z toho vyvodiť, že plazmou aktivovaná voda podnecuje rozklad organickej hmoty bez účasti pôdných mikroorganizmov.

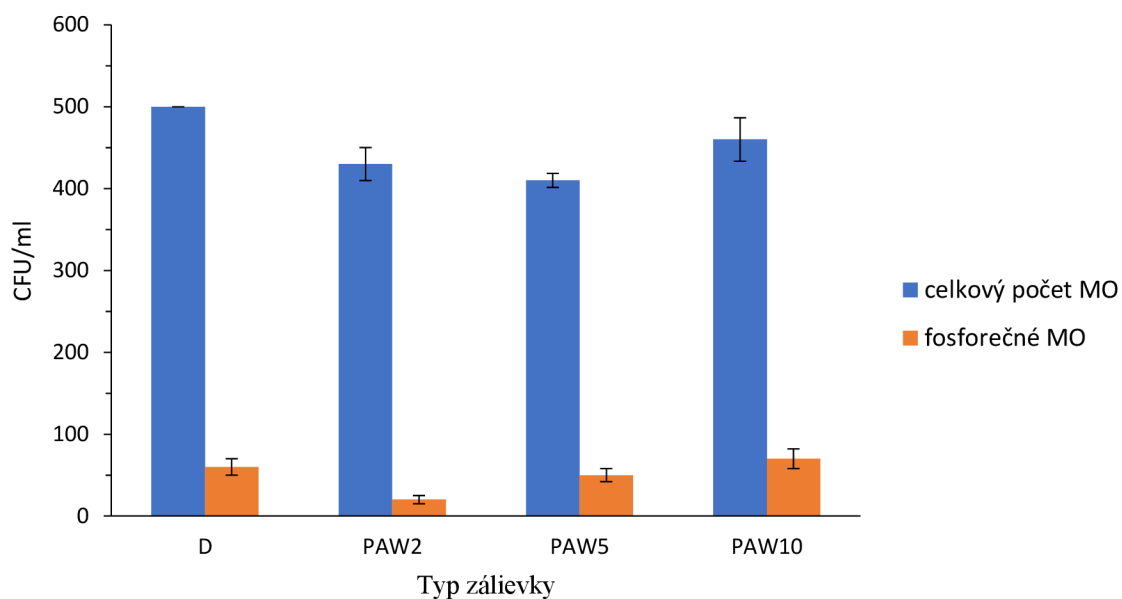
#### 4.6 Kultivácia fosfor rozpúšťajúcich pôdných baktérií

Po 24 hodinách kultivácie pri 37 °C bolo možné spočítať kolónie pri najnižšom riedení. Pri zvyšných dvoch riedeniach boliisky prerastené kolóniami baktérií, ktorých počet nebol stanoviteľný. Spočítané boli kolónie, ktoré mali priesvitnú farbu ako bolo uvedené v použitej metodike práce [49]. Treba podotknúť, že išlo o pilotné meranie, ktoré nezahŕňa veľký set dát, a preto nemožno formulovať určité závery. Čo však môžeme s istotou tvrdiť je, že pri použití plazmou aktivovanej vody nebol pozorovaný negatívny vplyv na fosfor rozpúšťajúce baktérie, avšak fumigačne–extrakčnou metódou bol zistený pokles mikrobiálnej biomasy. Na obrázku 16 môžeme vidieť porovnanie počtu mikroorganizmov v závislosti

na použitej vode. Na prvý pohľad sa môže zdať, že plazmou aktivovaná voda v porovnaní s vodou destilovanou podporuje rast fosforečných baktérii. V prípade zalievania pôdy plazmou aktivovanou vodou možno pozorovať omnoho väčší výskyt mikroorganizmov než v prípade destilovanej vody ( $p=0,29$ ). Avšak toto tvrdenie nebolo potvrdené pri opakovanom meraní, čo môžeme vidieť na obrázku 17, kde sa počet mikroorganizmov v jednotlivých pôdnych suspenziách líšil len veľmi málo ( $p=0,95$ ). Na základe týchto meraní teda nemožno stanoviť presné závery. Výsledkom týchto experimentov sú však optimalizované metódy, ktoré môžu byť využité pri ďalších testovaniach. Komplexné výsledky počtov kolónii v jednotlivých miskách možno vidieť v tabuľke 10. Štatistické výsledky boli spočítané pomocou programu MS Excel.



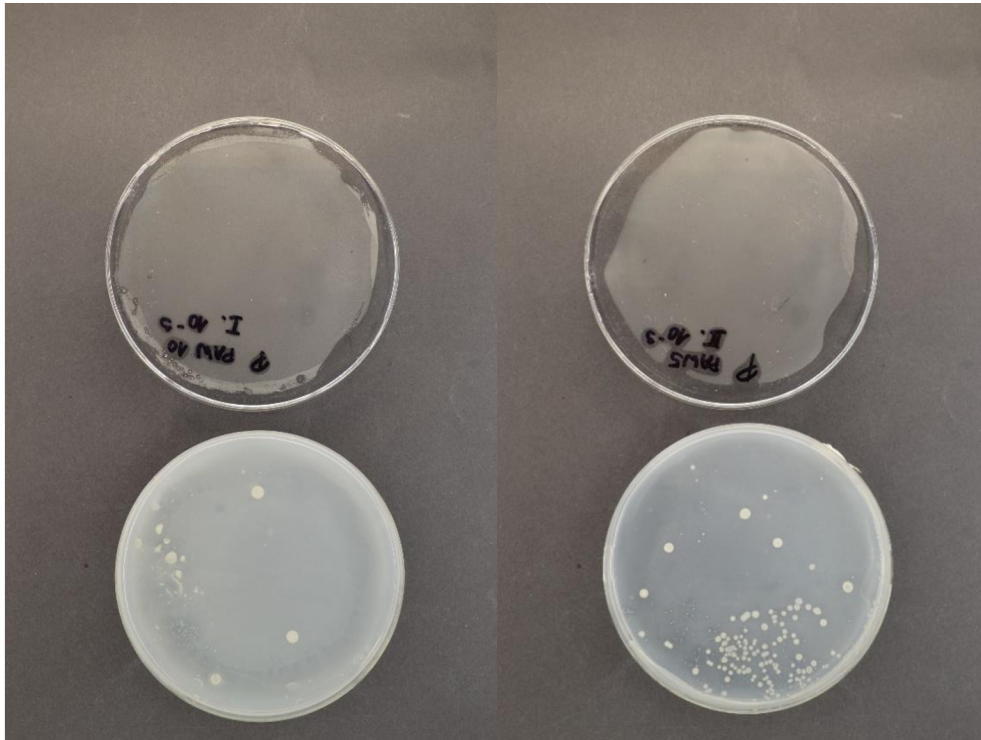
Obrázok 16 Graf závislosti počtu kolónii na použitej zálievke pri koncentrácii  $10^{-3}$



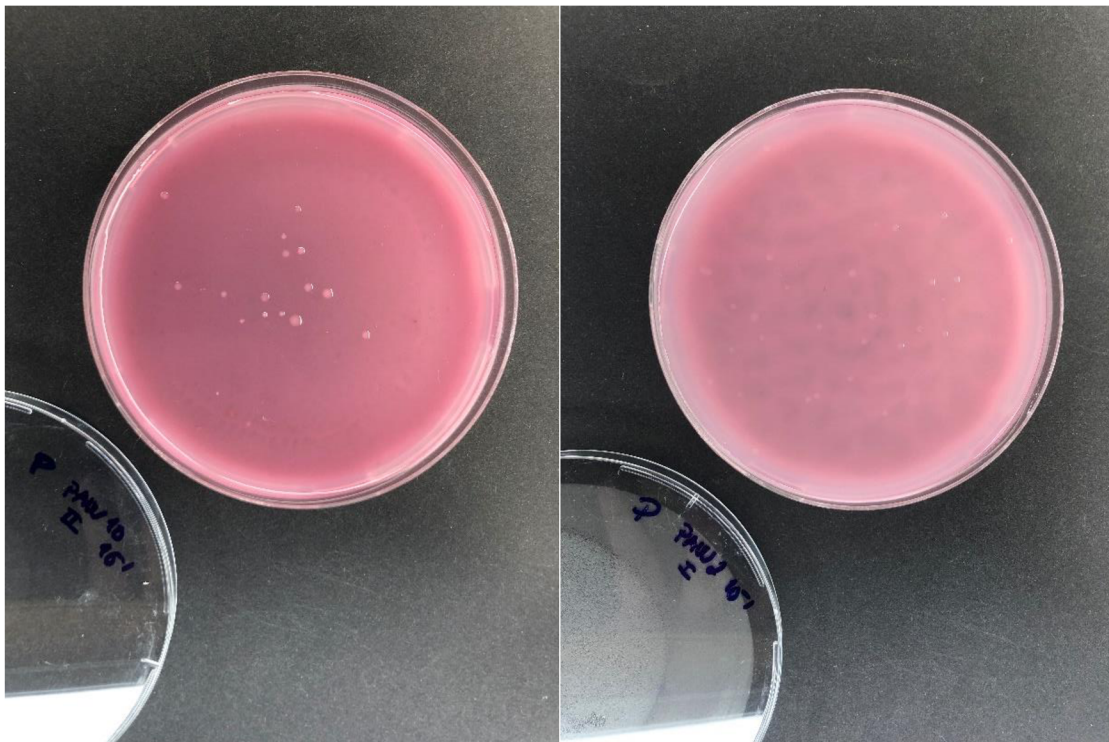
Obrázok 17 Graf celkového počtu kolónií mikroorganizmov k počtu kolónií fosforečných mikroorganizmov

Tabuľka 10 Počet kolónií na jednotlivých miskách

	počet kolónií	priemer	počet kolónií	priemer
<b>D</b>	876		50	
	592	987±460	50	50±0
	1492		50	
<b>PAW<sub>2</sub></b>	11200		40	
	3400	7733±3971	24	43±20
	8600		64	
<b>PAW<sub>5</sub></b>	14600		50	
	18300	13633±5217	33	41±8
	8000		41	
<b>PAW<sub>10</sub></b>	11700		40	
	4100	6567±4446	75	46±26
	3900		23	



Obrázok 18 Kolónie fosfor rozpúšťaajúcich baktérii pri koncentrácii  $10^{-3}$  u plazmou aktivovanej vody po dobu 5 minút (vpravo) a plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút (vľavo)



Obrázok 19 Kolónie fosfor rozpúšťaajúcich baktérii pri koncentrácii  $10^{-1}$  u plazmou aktivovanej vody po dobu 2 minút (vpravo) a plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút (vľavo)

Na obrázku 18 môžeme vidieť, že dáta z grafu na obrázku 16 korelujú s tým, čo sa nachádzalo na Petriho miskách. Pri opakovanom experimente (obrázok 19) nebol pozorovaný signifikantný rozdiel medzi počtom kolónii v jednotlivých miskách. Pri obrázku 19 si môžeme všimnúť ružové sfarbenie kultivačného média, čo je spôsobené prídavkom prírodného červeného potravinárskeho farbiva. To bolo pridané do média kvôli lepšiemu pozorovaniu kolónii fosforečných baktérií, nakoľko mali veľmi podobnú farbu ako použité médium, čo vyvolávalo problém najmä u menších buniek. Problémom bolo tiež, že nie všetky zložky použitého živného média sú dobre rozpustné vo vode, čo sa prejavilo ako tvorba malých bielych zrazenín v naliatych agaroch, čo značne komplikovalo rozlíšenie buniek od zrazených zložiek média. Využitie farbiva nám teda umožnilo zvýšiť kontrast medzi stanovovanými baktériami a médium. Kvôli časovej tiesni nebolo možné uskutočniť ďalšie merania, ktoré by viedli k špecifickejšiemu výsledkom, ale bol položený základ pre merania podobného typu, na ktorý možno nadviazať v ďalších experimentoch.



## ZÁVER

Cieľom diplomovej práce bolo stanoviť obsah celkovej mikrobiálnej biomasy v pôde pri aplikácii plazmou aktivovanej vody ako zálievky. Pre tento účel bola zvolená fumigačne–extrakčná metóda, kedy celkový organický uhlík (*TOC*) a celkový dusík (*TN*) odpovedajúci mikrobiálnej biomase bol stanovený pomocou *TOC/TN* analyzátora. Pre získanie komplexnejších výsledkov boli stanovené fyzikálne–chemické vlastnosti plazmou aktivovanej vody a pôdy. Na základe *tea bag* metódy bola sledovaná rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde a celkový obsah vodou extrahovateľných polyfenolických látok.

Počas charakterizácie fyzikálne–chemických vlastností vody bol pozorovaný pokles hodnôt *pH* plazmou aktivovanej vody so zvyšujúcou sa dobou expozície vody dielektrickému bariérovému výboju. Najnižšia hodnota *pH* bola nameraná u plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút, a to  $(3,7 \pm 0,2)$ . Naopak so zvyšujúcou sa dobou expozície vody výboju sa zvyšovala vodivosť roztoku, kedy najvyššia vodivosť dosiahla hodnotu  $(190 \pm 2) \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Za pokles *pH* a zvýšenie vodivosti sú zodpovedné reaktívne častice kyslíka a dusíka, ktoré vznikajú pri plazmovej úprave vody nad alebo pod vodným povrchom. So zvyšujúcou sa dobou expozície vody dielektrickému bariérovému výboju sa zvyšovala koncentrácia dusičnanov, dusitanov a peroxidu vodíka. V prípade hodnôt *pH* pôdy nebol pozorovaný veľký rozdiel medzi použitím destilovanej vody a plazmou aktivovanej vody ako zálievky. U destilovanej vody činila priemerná hodnota *pH* pôdy  $(5,69 \pm 0,04)$ , zatiaľ čo u plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút  $(5,60 \pm 0,28)$ .

Vplyv plazmou aktivovanej vody na rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde bola sledovaná pomocou *tea bag* metódy, kedy boli použité dva druhy čaju, a to zelený a rooibos čaj. Zelený čaj predstavoval ľahko rozložiteľný organický materiál, naopak rooibos čaj zastupoval ťažšie rozložiteľný organický materiál. Vyšší hmotnostný úbytok bol pozorovaný pri zelenom čaji až  $(36,08 \pm 7,44) \%$  v porovnaní s rooibos, kde hmotnostný úbytok predstavoval  $(15,35 \pm 5,34) \%$ . Vplyvom plazmou aktivovanej vody nebola pozorovaná zmena hmotnostného úbytku u zeleného čaju, čo sa však nedá povedať v prípade rooibos čaju. V tomto prípade bol hmotnostný úbytok vyšší takmer o polovicu pri plazmou aktivovanej vode po dobu 10 minút, a to  $(32,85 \pm 4,05) \%$ . V poslednom rade bol stanovený stabilizačný faktor a rýchlostná konštanta dekompozície labilnej frakcie prítomnej v zelenom čaji. Hodnoty stabilizačného faktora boli veľmi podobné pri destilovanej vode a plazmou aktivovanej vode po dobu 2 a 5 minút. U plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút bola hodnota stabilizačného faktora záporná, na základe čoho predpokladáme, že začalo dochádzať i k rozkladu v ostatných

vzorkách inak stabilizovaného jednoducho hydrolyzovateľného organického materiálu. Konštanta rýchlosti dekompozície bola stanovená na  $(0,03 \pm 0,01) \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{deň}^{-1}$ . Na základe stanovenia úbytku koncentrácie vodou extrahovateľných polyfenolických látok v zelenom čaji bol pozorovaný niekoľkonásobne väčší úbytok koncentrácie pri použití plazmou aktivovanej vody. Koncentrácia polyfenolických látok vo vzorke pri použití plazmou aktivovanej vody po dobu 10 minút činila  $(19,3 \pm 2 \cdot 10^{-3}) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  v porovnaní s destilovanou vodou, kde koncentrácia bola stanovená na  $(5768 \pm 6 \cdot 10^{-4}) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ .

Na základe práce je možné tvrdiť, že pri použití plazmou aktivovanej vody ako zálievky nebol pozorovaný negatívny vplyv na fyzikálne–chemické vlastnosti pôdy. Môžeme sa však domnievať, že podporuje rýchlosť dekompozície organickej hmoty v pôde, čo bolo potvrdené stanovením stabilizačného faktora, rýchlostnou konštantou a celkovým obsahom vodou extrahovateľných polyfenolických látok tzv. *tea bag* metódou. Napriek tomu, že plazmou aktivovaná voda vyrobená pomocou toho istého dielektrického bariérového výboja preukázala inaktivačný účinok na *Escherichia Coli* [50], tak v pôde pravdepodobne dochádza ku komplexnejším procesom, a teda inaktivačný účinok v našom experimente nebol potvrdený. Toto tvrdenie bolo preukázané pomocou kultivačných metód, kedy bola stanovovaná prítomnosť fosfor rozpúšťajúcich pôdnych baktérií.

## PRÍLOHY

*Tabuľka 11 Pravidelná zálievka rastlín*

<b>dátum</b>	<b>V [ml]</b>
03.10.2022	100
05.10.2022	100
07.10.2022	50 + 100 do podmisky
10.10.2022	100
12.12.2022	100
14.10.2022	50 + 100 do podmisky
17.10.2022	100
19.10.2022	100
21.10.2022	50 + 100 do podmisky
24.10.2022	100
26.10.2022	100
28.10.2022	50 + 100 do podmisky
31.10.2022	100
02.11.2022	100
04.11.2022	50 + 100 do podmisky
07.11.2022	100
09.11.2022	100
11.11.2022	50 + 100 do podmisky
14.11.2022	100
16.11.2022	100
18.11.2022	50 + 100 do podmisky
21.11.2022	100
23.11.2022	100
25.11.2022	50 + 100 do podmisky

<b>dátum</b>	<b>V [ml]</b>
30.11.2022	100
02.12.2022	50 + 100 do podmisky
05.12.2022	100
07.12.2022	100
09.12.2022	50 + 100 do podmisky
12.12.2022	100
14.12.2022	100
16.12.2022	50 + 100 do podmisky
19.12.2022	100
21.12.2022	100
23.12.2022	50 + 100 do podmisky
27.12.2022	100
29.12.2022	100
02.01.2023	100

## ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] JANDÁK, Jiří, Alois PRAX a Eduard POKORNÝ. *Půdoznalství*. Dotisk 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-061-9.
- [2] ŠIMEK, Miloslav, ed. *Živá půda*. Vydání první. Praha: Academia, 2019. ISBN 978-80-200-2976-8.
- [3] POKORNÝ, Eduard, Bořivoj ŠARAPATKA a Květuše HEJÁTKOVÁ. *Hodnocení kvality půdy v ekologicky hospodařícím podniku: metodická pomůcka*. Vyd. 1. Náměšť nad Oslavou: ZERA - Zemědělská a ekologická regionální agentura, 2007. ISBN 978-80-903548-5-2.
- [4] ŠANTRŮČKOVÁ, Hana, Eva KAŠTOVSKÁ, Jiří BÁRTA, Ladislav MIKO a Karel TAJOVSKÝ. *Ekologie půdy*. Vydání první. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2018. ISBN 978-80-7394-695-1.
- [5] ŠIMEK, Miloslav. *Základy nauky o půdě. 3., Biologické procesy a cykly prvků*. Vyd. 1. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Biologická fakulta, 2003. ISBN 978-80-7040-630-4.
- [6] *Vladimír Scholtz: Nízkoteplotná plazma I: Čo je to plazma?* [online]. [vid. 2023-03-04]. Dostupné z: [https://www.aldebaran.cz/bulletin/2012\\_22\\_pla.php](https://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_22_pla.php)
- [7] MARTIŠOVIŠ, Viktor. *Základy fyziky plazmy: učebný text pre magisterské štúdium*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2006. ISBN 80-223-1983-X.
- [8] KULHÁNEK, Petr. *Stručný průvodce plazmatem: vzdělávací a metodický materiál vydaný v rámci projektu Vědou a technikou ke společnému rozvoji*. Valašské Meziříčí: Hvězdárna Valašské Meziříčí, 2014. ISBN 978-80-86298-21-4.
- [9] ŠÍPOŠOVÁ, Nikola, Katarína VIZÁROVÁ, Radko TIŇO a Barbora KALIŇÁKOVÁ. *Dezinfekčné účinky nízkoteplotnej atmosférickej plazmy na papierové nosiče informácií a dedičstva* [online]. B.m.: ODCP FCHPT STU v Bratislave. 2017. Dostupné z: [https://educell.sk/wp-content/uploads/2020/02/Dezinfek%C4%8Dn%C3%A9-%C3%BA%C4%8Dinky-n%C3%ADzkoteplotnej-atmosf%C3%A9rickej-plazmy-na-papierov%C3%A9-nosi%C4%8De-inform%C3%A1ci%C3%AD-a-dedi%C4%8Dstva\\_STU-2017.pdf](https://educell.sk/wp-content/uploads/2020/02/Dezinfek%C4%8Dn%C3%A9-%C3%BA%C4%8Dinky-n%C3%ADzkoteplotnej-atmosf%C3%A9rickej-plazmy-na-papierov%C3%A9-nosi%C4%8De-inform%C3%A1ci%C3%AD-a-dedi%C4%8Dstva_STU-2017.pdf)
- [10] ŠTAHEL, Pavel. *Bariérové výboje a jejich aplikace* [online]. Brno, 2012. Habilitační práce. Msarykova univerzita. Dostupné z: [https://is.muni.cz/do/rect/habilitace/1431/Stahel/habilitace/Barierove\\_vyboje\\_a\\_jejich\\_aplikace3final.pdf?lang=en](https://is.muni.cz/do/rect/habilitace/1431/Stahel/habilitace/Barierove_vyboje_a_jejich_aplikace3final.pdf?lang=en)
- [11] MIAO, Yu, Alexandre YOKOCHI, Goran JOVANOVIĆ, Suping ZHANG a Annette VON JOUANNE. Application-oriented non-thermal plasma in chemical reaction engineering: A review. *Green Energy and Resources* [online]. 2023, **1**(1), 100004. ISSN 2949-7205. Dostupné z: doi:10.1016/j.gerr.2023.100004

- [12] Corona Discharge: What is the Corona Effect? | Electrical4U. <https://www.electrical4u.com/> [online]. 26. říjen 2020 [vid. 2023-03-07]. Dostupné z: <https://www.electrical4u.com/corona-effect-in-power-system/>
- [13] LEBEDEV, Yu A. Microwave discharges at low pressures and peculiarities of the processes in strongly non-uniform plasma. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2015, **24**(5), 053001. ISSN 0963-0252. Dostupné z: doi:10.1088/0963-0252/24/5/053001
- [14] ELIEZER, Yaffa a Shalom ELIEZER. *The fourth state of matter: an introduction to plasma science*. 2nd ed. Bristol, UK ; Philadelphia: IOP, 2001. ISBN 978-0-7503-0740-6.
- [15] LU, XinPei, DaWei LIU, YuBin XIAN, LanLan NIE, YingGuang CAO a GuangYuan HE. Cold atmospheric-pressure air plasma jet: Physics and opportunities. *Physics of Plasmas* [online]. 2021, **28**(10), 100501. ISSN 1070-664X. Dostupné z: doi:10.1063/5.0067478
- [16] 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, **12**(9), 2357. ISSN 2073-4441. Dostupné z: doi:10.3390/w12092357
- [17] ZHAO, Yi-Ming, Apurva PATANGE, Da-Wen SUN a 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, **19**(6), 3951–3979. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12644
- [18] ZHOU, Renwu, Rusen ZHOU, Peiyu WANG, Yubin XIAN, Anne MAI-PROCHNOW, Xinpei LU, P. J. CULLEN, Kostya (Ken) OSTRIKOV a Kateryna BAZAKA. Plasma-activated water: generation, origin of reactive species and biological applications. *Journal of Physics D: Applied Physics* [online]. 2020, **53**(30), 303001. ISSN 0022-3727. Dostupné z: doi:10.1088/1361-6463/ab81cf
- [19] BRUGGEMAN, P. J., M. J. KUSHNER, B. R. LOCKE, J. G. E. GARDENIERS, W. G. GRAHAM, D. B. GRAVES, R. C. H. M. HOFMAN-CARIS, D. MARIC, J. P. REID, E. CERIANI, D. Fernandez RIVAS, J. E. FOSTER, S. C. GARRICK, Y. GORBANEV, S. HAMAGUCHI, F. IZA, H. JABLONOWSKI, E. KLIMOVA, J. KOLB, F. KRČMA, P. LUKES, Z. MACHALA, I. MARINOV, D. MARIOTTI, S. Mededovic THAGARD, D. MINAKATA, E. C. NEYTS, J. PAWLAT, Z. Lj PETROVIC, R. PFLIEGER, S. REUTER, D. C. SCHRAM, S. SCHRÖTER, M. SHIRAIWA, B. TARABOVÁ, P. A. TSAI, J. R. R. VERLET, T. von WOEDTKE, K. R. WILSON, K. YASUI a G. ZVEREVA. Plasma–liquid interactions: a review and roadmap. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2016, **25**(5), 053002. ISSN 0963-0252. Dostupné z: doi:10.1088/0963-0252/25/5/053002
- [20] PARK, Dayonna P., Kevin DAVIS, Samid GILANI, Christal-Anne ALONZO, Danil DOBRYNIN, Gary FRIEDMAN, Alexander FRIDMAN, Alexander RABINOVICH a Gregory FRIDMAN. Reactive nitrogen species produced in water by non-equilibrium plasma increase plant growth rate and nutritional yield. *Current Applied Physics* [online].

- 2013, **13**, Special Issue: SPB 2012, S19–S29. ISSN 1567-1739. Dostupné z: doi:10.1016/j.cap.2012.12.019
- [21] SHEN, Jin, Ying TIAN, Yinglong LI, Ruonan MA, Qian ZHANG, Jue ZHANG a Jing FANG. Bactericidal Effects against *S. aureus* and Physicochemical Properties of Plasma Activated Water stored at different temperatures. *Scientific Reports* [online]. 2016, **6**(1), 28505. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep28505
- [22] LAI, Tongfei, Boqiang LI, Guozheng QIN a Shiping TIAN. Oxidative Damage Involves in the Inhibitory Effect of Nitric Oxide on Spore Germination of *Penicillium expansum*. *Current Microbiology* [online]. 2011, **62**(1), 229–234. ISSN 1432-0991. Dostupné z: doi:10.1007/s00284-010-9695-1
- [23] *The potential regulatory effect of nitric oxide in plasma activated water on cell growth of Saccharomyces cerevisiae: Journal of Applied Physics: Vol 122, No 12* [online]. [vid. 2023-04-07]. Dostupné z: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4989501>
- [24] MA, Ruonan, Guomin WANG, Ying TIAN, Kaile WANG, Jue ZHANG a Jing FANG. Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2015, **300**, 643–651. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2015.07.061
- [25] THIRUMDAS, Rohit, Anjinelyulu KOTHAKOTA, Uday ANNAPURE, Kaliramesh SILIVERU, Renald BLUNDELL, Ruben GATT a Vasilis P. VALDRAMIDIS. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2018, **77**, 21–31. ISSN 0924-2244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2018.05.007
- [26] XIANG, Qisen, Chaodi KANG, Liyuan NIU, Dianbo ZHAO, Ke LI a Yanhong BAI. Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis* CM2. *LWT* [online]. 2018, **96**, 395–401. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2018.05.059
- [27] TIAN, Ying, Ruonan MA, Qian ZHANG, Hongqing FENG, Yongdong LIANG, Jue ZHANG a Jing FANG. Assessment of the Physicochemical Properties and Biological Effects of Water Activated by Non-thermal Plasma Above and Beneath the Water Surface. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2015, **12**(5), 439–449. ISSN 1612-8869. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.201400082
- [28] JUDÉE, F., S. SIMON, C. BAILLY a T. DUFOUR. Plasma-activation of tap water using DBD for agronomy applications: Identification and quantification of long lifetime chemical species and production/consumption mechanisms. *Water Research* [online]. 2018, **133**, 47–59. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2017.12.035
- [29] ABUZAIRI, Tomy, Nji Raden POESPAWATI, Retno Wigajatri PURNAMANINGSIH a Dicky APRIADY. Preliminary study of plasma-treated water for germination stimulation of agricultural seeds. In: *2017 15th International Conference on Quality in Research (QiR) : International Symposium on Electrical and Computer Engineering: 2017 15th International Conference on Quality in Research (QiR) : International Symposium on Electrical and Computer Engineering* [online]. 2017, s. 128–131. Dostupné z: doi:10.1109/QIR.2017.8168467

- [30] DARMANIN, Martina, Dmytro KOZAK, Jefferson DE OLIVEIRA MALLIA, Renald BLUNDELL, Ruben GATT a Vasilis P. VALDRAMIDIS. Generation of plasma functionalized water: Antimicrobial assessment and impact on seed germination. *Food Control* [online]. 2020, **113**, 107168. ISSN 0956-7135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2020.107168
- [31] GAO, Xiaoting, Ai ZHANG, Paul HÉROUX, Wolfgang SAND, Zhuyu SUN, Jiaxun ZHAN, Cihao WANG, Siyu HAO, Zhenyu LI, Zhenying LI, Ying GUO a Yanan LIU. Effect of Dielectric Barrier Discharge Cold Plasma on Pea Seed Growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2019, **67**(39), 10813–10822. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.9b03099
- [32] ZHAO, Zitong, Xiangyou WANG a Tingjun MA. Properties of plasma-activated water with different activation time and its effects on the quality of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *LWT* [online]. 2021, **147**, 111633. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.111633
- [33] KANG, Joo Hyun, Jin-Young HAN, Ho Seon LEE, Seungmin RYU, Seong Bong KIM, Sangwoo CHO, Dong-Hyun KANG a Sea C. MIN. Plasma-activated water effectively decontaminates steamed rice cake. *LWT* [online]. 2022, **157**, 112838. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.112838
- [34] ZHANG, Qian, Yongdong LIANG, Hongqing FENG, Ruonan MA, Ying TIAN, Jue ZHANG a Jing FANG. A study of oxidative stress induced by non-thermal plasma-activated water for bacterial damage. *Applied Physics Letters* [online]. 2013, **102**(20), 203701. ISSN 0003-6951. Dostupné z: doi:10.1063/1.4807133
- [35] ALI, Murtaza, Jun-Hu CHENG a Da-Wen SUN. Effect of plasma activated water and buffer solution on fungicide degradation from tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit. *Food Chemistry* [online]. 2021, **350**, 129195. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.129195
- [36] ALI, Murtaza, Da-Wen SUN, Jun-Hu CHENG a Okon JOHNSON ESUA. Effects of combined treatment of plasma activated liquid and ultrasound for degradation of chlorothalonil fungicide residues in tomato. *Food Chemistry* [online]. 2022, **371**, 131162. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.131162
- [37] GUO, Jian, Jiaoyu WANG, Hui XIE, Junlong JIANG, Chunyuan LI, Wanting LI, Ling LI, Xingquan LIU a Fucheng LIN. Inactivation effects of plasma-activated water on *Fusarium graminearum*. *Food Control* [online]. 2022, **134**, 108683. ISSN 0956-7135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2021.108683
- [38] ZHANG, Di, Yanbing LIU, Xiaodan LI, Junxia XIAO, Jingxin SUN a Liping GUO. Inactivation of *Escherichia coli* on broccoli sprouts via plasma activated water and its effects on quality attributes. *LWT* [online]. 2022, **154**, 112761. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.112761
- [39] HAN, L., S. PATIL, D. BOEHM, V. MILOSAVLJEVIĆ, PJ CULLEN a P. BOURKE. Mechanisms of Inactivation by High-Voltage Atmospheric Cold Plasma Differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2016, **82**(2), 450–458. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.02660-15



- [40] LUNOV, Oleg, Vitalii ZABLITSKII, Olexander CHURPITA, Ales JÄGER, Leoš POLÍVKA, Eva SYKOVÁ, Alexandr DEJNEKA a Šárka KUBINOVÁ. The interplay between biological and physical scenarios of bacterial death induced by non-thermal plasma. *Biomaterials* [online]. 2016, **82**, 71–83. ISSN 0142-9612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2015.12.027
- [41] AVRAMIDIS, Pavlos a Vlasoula BEKIARI. Application of a catalytic oxidation method for the simultaneous determination of total organic carbon and total nitrogen in marine sediments and soils. *PLOS ONE* [online]. 2021, **16**(6), e0252308. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0252308
- [42] KEUSKAMP, Joost A., Bas J. J. DINGEMANS, Taru LEHTINEN, Judith M. SARNEEL a Mariet M. HEFTING. Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution* [online]. 2013, **4**(11), 1070–1075. ISSN 2041-210X. Dostupné z: doi:10.1111/2041-210X.12097
- [43] *The Effect of Soil pH on Plants* [online]. 21. říjen 2021 [vid. 2023-05-04]. Dostupné z: <https://www.southlandorganics.com/blogs/news/the-effect-of-soil-ph-on-plants>
- [44] SAINT-LAURENT, Diane a Lisane ARSENAULT-BOUCHER. Soil properties and rate of organic matter decomposition in riparian woodlands using the TBI protocol. *Geoderma* [online]. 2020, **358**, 113976. ISSN 0016-7061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2019.113976
- [45] PANDEY, Kanti Bhooshan a Syed Ibrahim RIZVI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009, **2**(5), 270–278. ISSN 1942-0900.
- [46] SKOKANOVÁ, Marianna a Katarína DERCOVÁ. Humínové kyseliny, pôvod a štruktúra. *Chemické listy*. 2023, **2008**(102), 262–268. ISSN 1213-7103.
- [47] AVRAMIDIS, Pavlos, Konstantinos NIKOLAOU a Vlasoula BEKIARI. Total Organic Carbon and Total Nitrogen in Sediments and Soils: A Comparison of the Wet Oxidation – Titration Method with the Combustion-infrared Method. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* [online]. 2015, **4**, Efficient irrigation management and its effects in urban and rural landscapes, 425–430. ISSN 2210-7843. Dostupné z: doi:10.1016/j.aaspro.2015.03.048
- [48] DALAL, Ram. Soil microbial biomass—what do the numbers really mean? *Australian Journal of Experimental Agriculture - AUST J EXP AGR* [online]. 1998, **38**. Dostupné z: doi:10.1071/EA97142
- [49] Mikroorganismy jako indikátory stavu půdního prostředí. *Mendelova univerzita* [online]. [vid. 2023-04-24]. Dostupné z: [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=3415&typ=html](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=3415&typ=html)
- [50] LIŠKOVÁ, Kateřina, Ludmila ČECHOVÁ, Frantisek KRCMA, Zdenka KOZÁKOVÁ a Jan ČERVENÝ. *STUDY OF RONS FORMATION IN AQUAEUS SOLUTIONS USING DIELECTRIC BARRIER DISCHARGE AND ITS BACTERICIDAL EFFECTS*. 2022.