



# 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

# VLIV PLAZMATEM AKTIVOVANÉ VODY NA KLÍČIVOST A KVALITU KUKUŘICE

INFLUENCE OF PLASMA ACTIVATED WATER ON SEED GERMINATION AND QUALITY OF CORN

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Martin Kovařík

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Zdenka Kozáková, Ph.D.

BRNO 2023

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1850/2022 Akademický rok: 2022/23  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Student: **Martin Kovařík**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie  
Studijní obor: bez specializace  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Zdenka Kozáková, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Vliv plazmatem aktivované vody na klíčivost a kvalitu kukuřice

### Zadání bakalářské práce:

1. Seznamte se s problematikou generace plazmatu v interakci s kapalinami.
2. Proveďte odbornou rešerši zaměřenou na přípravu, charakterizaci a využití plazmatem aktivované vody, zejména v zemědělství.
3. Připravte plazmatem aktivovanou vodu v různých plazmových systémech využívajících přímou i nepřímou interakci plazmatu v kapalině nebo s povrchem kapaliny.
4. Aplikujte plazmatem aktivovanou vodu na semena vybrané plodiny (kukuřice) a vyhodnoťte její vliv na klíčivost semen a kvalitu plodiny.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

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

-----  
Martin Kovařík  
student

doc. Ing. Zdenka Kozáková,  
Ph.D.  
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

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

## **ABSTRAKT**

Bakalářská práce se zabývá vlivem plazmatem aktivované vody na klíčivost kukuřice. Po kontaktu vody s plazmatem mění voda své chemické složení a získává tím nové vlastnosti, které jsou využitelné v zemědělství.

Teoretická část se dělí do dvou základních částí. Na začátku první části je stručně charakterizované plazma a poté se tato část již zabývá plazmatem aktivovanou vodou (PAW), její aktivací, fyzikálními a chemickými vlastnostmi a v závěru této části i jejím využití. Druhá část teoretické části se pak věnuje klíčivosti rostlin, vnějšími vlivy ovlivňujícími klíčivost a statistickému vyhodnocení klíčivosti. V závěru teoretické části se tato práce věnuje ekotoxicitě rostlin.

Náplní experimentální části byla příprava PAW, její následná aplikace na semena kukuřice a studium jejího vlivu na klíčivost a kvalitu rostliny. PAW byla vytvořena pomocí tří různých plazmových systémů z destilované a kohoutkové vody a efekt jednotlivých PAW na semena byl porovnáván s efektem jednotlivých kontrolních vzorků.

Zjištěné výsledky naznačují pozitivní vliv PAW na klíčení semen, ale konečná hypotéza by vyžadovala rozsáhlejší pokusy v různých prostředích, především v půdě.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Plazma, plazmatem aktivovaná voda, klíčivost, kukuřice

## **ABSTRACT**

The bachelor's thesis deals with the effect of plasma-activated water on corn germination. After water comes into contact with plasma, the water changes its chemical composition and thus, it acquires new properties that can be used in agriculture.

The theoretical part is divided into two basic parts. At the beginning of the first part, plasma is briefly characterized, and then this part deals with plasma-activated water, its formation, physical and chemical properties, and at the end of this part, its use. The second part of the theoretical part is devoted to the germination of plants, external influences affecting germination and statistical evaluation of germination. At the end of the theoretical part, this thesis deals with the ecotoxicity of plants.

The content of the experimental part was the preparation of PAW, its subsequent application to corn seeds and the study of its effect on germination and plant quality. PAW was created from distilled or tap water using three different plasma systems and the effect of each PAW on the seeds was compared with that of each control sample.

The obtained results indicate a positive effect of PAW on seed germination, but the final hypothesis would require more extensive experiments in different environments, especially in soil.

## **KEY WORDS**

plasma, plasma activated water, germination, corn

KOVAŘÍK, Martin. *Vliv plazmatem aktivované vody na klíčivost a kvalitu kukuřice*. Brno, 2023. 38 s. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/147915>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce doc. Ing. Zdenka Kozáková, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucí mé práce doc. Ing. Zdence Kozákové Ph.D. za její odborné vedení a cenné rady při zpracovávání bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat mé konzultantce Ing. Ludmile Čechové za její čas a pomoc při vykonávání experimentu a vyhodnocování výsledků.

## Obsah

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
	2.1 Plazma.....	8
	2.2 Plazmatem aktivovaná voda (PAW).....	8
	2.2.1 Příprava PAW.....	8
	2.2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti PAW.....	10
	2.2.3 Reaktivní částice kyslíku a dusíku (RONS).....	10
	2.2.4 Použití PAW.....	12
	2.3 Klíčivost rostlin.....	12
	2.3.1 Faktory ovlivňující klíčivost.....	13
	2.3.2 Statistické vyhodnocení klíčivosti.....	13
	2.3.3 Ekotoxicita rostlin.....	14
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	15
	3.1 Použité materiály, chemikálie a přístroje.....	15
	3.2 Příprava PAW.....	16
	3.3 Charakterizace složení PAW.....	18
	3.4 Příprava semen kukuřice.....	19
	3.5 Vyhodnocování.....	19
	3.5.1 Statistické vyhodnocení klíčivosti semen.....	19
	3.5.2 Vyhodnocení stimulace a inhibice kořenů a stonků.....	20
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	21
	4.1 Složení PAW.....	21
	4.2 Vliv PAW na klíčivost.....	22
	4.3 Vliv PAW na růst kořínků kukuřice.....	27
	4.4 Vliv PAW na růst stonku kukuřice.....	28
	4.5 Statistické vyhodnocení.....	29
5	ZÁVĚR.....	30
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	32
7	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	37

# 1 ÚVOD

Kvůli důsledku globálního oteplování dochází k celkovému růstu teploty na naší planetě. To ve výsledku způsobuje to, že se především tropické a subtropické podnebné pásy potýkají s čím dál častějšími extrémními suchy, což má neblahý následek na kvalitu půdy, která přestává být vhodná pro zemědělské účely a dochází k ovlivnění celkové zemědělské produkce, v nejextrémnějších případech dochází k hladomoru. Se špatnou kvalitou půdy a následným nedostatkem potravin úzce souvisí masová migrace způsobující globální ekonomické problémy. Proto je čím dál větší pozornost vědecké komunity soustředována na klíčivost semen zemědělských rostlin důležitých pro naši obživu. Zásadní pro rostliny je kromě klíčivosti také samotná rychlost klíčení. Tyto parametry ovlivňujeme pomocí syntetických hnojiv, které ale způsobují zasoňování půdy, která se postupně stává čím dál méně vhodná pro zemědělské využití. Z toho důvodu se začíná upřednostňovat používání alternativních hnojiv, které nemají na půdu takový negativní vliv, ale zároveň dokáží podpořit klíčení semen.

Jako vhodná pro tyto účely se jeví aplikace tzv. plazmatem aktivované vody (PAW, z anglického plasma activated water). Během působení plazmatu na vodu přechází do vody nejrůznější produkty, především reaktivní částice dusíku a kyslíku, které mění složení vody a poskytují jí vlastnosti, které jsou velmi výhodně využitelné právě v zemědělství pro podporu klíčivosti. Své využití ale získává plazmatem aktivovaná voda i v dalších oborech, např. v medicíně.

Pozitivní efekt plazmatem aktivované vody byl již prokázán u řady rostlin. Cíl této práce byl prokázat příznivý efekt plazmatem aktivované vody i u semen kukuřice. Jelikož se složení plazmatem aktivované vody liší v závislosti na typu interakce plazmatu s vodou, byla plazmatem aktivovaná voda připravena třemi různými způsoby. Pro aktivaci byly použity následující plazmové systémy: systém generující plazma přímo v kapalině pomocí plazmatické trysky, systém aktivující vodu pomocí plazmatu generovaného nad kapalinou formou dielektrického bariérového výboje a systém připravující PAW probubláváním plynných produktů dielektrického výboje do kapaliny. Všechny tři druhy PAW byly připraveny jak z destilované, tak z kohoutkové vody. Výsledek byl porovnán s kontrolními vzorky destilované a kohoutkové vody.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Plazma

Plazma je často definováno jako čtvrté skupenství, jelikož nelze na základě jeho hustoty a teploty s jistotou zařadit do skupiny základních třech stavů. Jedná se o nejrozšířenější formu hmoty, tvoří až 99 % atomární hmoty ve vesmíru. V odlišných formách se vyskytuje například v blesku, polární záři či uvnitř zářivek. Plazma by se dalo definovat, jako látka podobná plynu, ve které je určitá část plynu ionizovaná. Základním předpokladem vzniku plazmatu je, že dodáním energie plynu dojde k disociaci jeho molekulárních vazeb a jejich následné přeměně na základní atomy plynu. Další zahřívání vede ke ztrátě elektronů (ionizaci) a následné přeměně plynu na plazma. Částice plazmatu se skládají z volně se pohybujících elektronů a iontů, jejich celkové hustoty náboje se vzájemně vyruší a plazma je díky tomu nábojově neutrální. Tuto velmi důležitou vlastnost označujeme jako kvazineutralita. Další důležitá vlastnost plazma je jeho vodivost, která záleží na stupni ionizace. Jako stupeň ionizace označujeme poměr elektricky nabitých částic (iontů) k celkovému počtu částic v systému. Na základě stupně ionizace rozdělujeme plazma na slabě a silně ionizované. Dalším parametrem, na základě kterého můžeme plazma dělit do dvou skupin, je teplota. Rozlišujeme vysokoteplotní a nízkoteplotní plazma. Teplota vysokoteplotního plazmatu se pohybuje řádově okolo  $10^6$  K a setkáme se s ním například ve hvězdách či při experimentech s řízenou termonukleární fúzí. U nízkoteplotního plazmatu mají ionty stejnou teplotu jako okolí a na vysokou energii jsou excitovány pouze elektrony. Právě proto je vhodné k úpravě teplotně citlivých povrchů materiálů a kapalin [1–3]

### 2.2 Plazmatem aktivovaná voda (PAW)

Z předchozího odstavce vyplývá, že na ošetření vody se tedy používá nízkoteplotní plazma. To je pro aktivaci vody výhodné, jelikož je ho možné vygenerovat za atmosférických podmínek pomocí poměrně jednoduchých zdrojů plazmatu. Generací plazmatu vznikají volné radikály, které následně interagují s molekulami vody za vzniku PAW. Plazmatem aktivovanou vodou se tedy rozumí, kapalina obsahující reaktivní molekuly, většinou kyslíku a dusíku, generované interakcí aktivního plazmatu s vodou. Interakcí vznikají reaktivní částice kyslíku (ROS = reactive oxygen species) a dusíku (RNS = reactive nitrogen species). Dohromady tyto částice nazýváme RONS a jsou detailněji popsány v kapitole 2.2.3 [4].

#### 2.2.1 Příprava PAW

Příprava PAW probíhá pomocí výboje atmosférického studeného plazmatu (CAP) ve třech základních kategoriích:

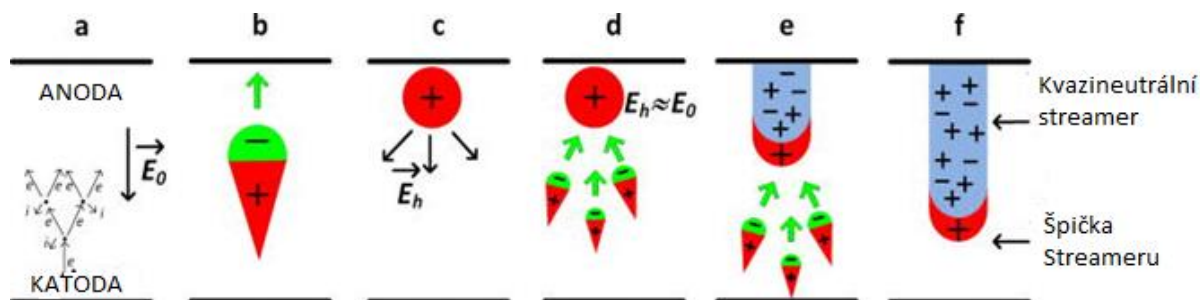
- i) přímý výboj v kapalině
- ii) výboj v plynné fázi nad povrchem kapaliny
- iii) vícefázový výboj (výboj v bublinách uvnitř kapaliny, kontaktní aerosolový sprej)

Vlastnosti PAW jsou přímo závislé na typu přípravy, jelikož různými přípravami vzniká různé množství RONS, od kterých se odvíjejí fyzikální i chemické vlastnosti kapaliny. Jako samotný zdroj plazmatu mohou být použity plazmová tryska, dielektrický výboj nebo korónový výboj. Podíl na koncentracích vznikajících RONS mají také doba působení výboje na kapalinu, chemické prostředí a velikost napětí [4–6].

#### Přímý výboj v kapalině

Kapalina v této přípravě zastává roli přídavné elektrody nacházející se v přímém kontaktu s plazmatem. K vytvoření elektrického výboje je zapotřebí dostatečně silné elektrické pole, díky kterému dochází k urychlení pohybu volných elektronů. Takto se produkuje značné množství volných elektronů způsobujících lavinu elektronů, která vede k průrazu vody a dochází ke vzniku plazmových kanálků, tzv. „streamerů“ (Obr. 1). Následkem urychlení elektronů dochází ke kolizím s molekulami vody, které se rozpadají. Disociací molekul vznikají chemicky nabitě částice, např. radikály ( $\bullet\text{O}$ ,  $\bullet\text{OH}$ ), které reagují

spolu či s jinými molekulami v kapalině nebo na jejím povrchu, čímž vzniká významné množství molekul peroxidu vodíku, jejichž zvýšená koncentrace je typickým rysem elektrických výbojů generovaných přímo ve vodě. [7–9].



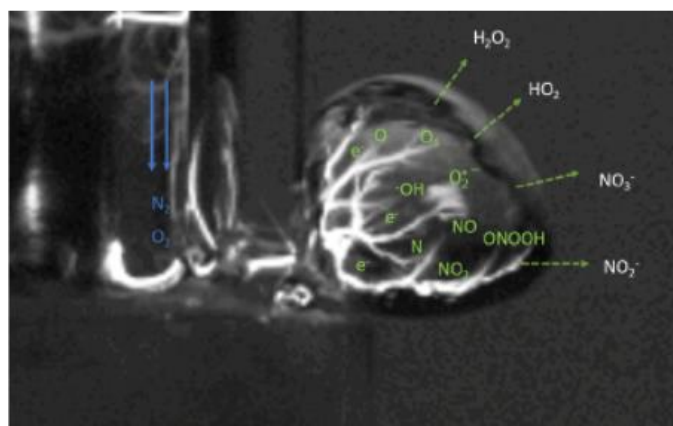
Obr. 1: Ilustrace kanálku mezi dvěma rovinnými elektrodami [6].

### Výboj v plynné fázi nad povrchem kapaliny

Při tomto typu přípravy dochází k vygenerování plazmatu v plynné podobě nad povrchem kapaliny. Vzduch (složení 78 % dusík, 21 % kyslík) a voda jsou v přímém kontaktu s plazmatem, ve kterém molekuly dusíku, kyslíku a vody vytváří již zmiňované RONS. Do skupiny RONS spadají například radikály ( $\bullet\text{OH}$ ,  $\bullet\text{NO}$ ,  $\bullet\text{O}$ ,  $\bullet\text{N}$ ), ionty ( $\text{H}^+$ ) či ozón ( $\text{O}_3$ ). Tyto částice, nacházející se v oblasti mezi elektrodami, následně reagují mezi sebou či s původními molekulami dusíku, kyslíku a vody. Ve výsledku je povrch kapaliny bombardován produkty těchto sekundárních reakcí, ale i samotnými RONS či původními molekulami. Přímě do kapaliny se dostávají pouze částice rozpustné ve vodě ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{O}_3$ ). Částice málo rozpustné a nerozpustné zůstávají na povrchu, kde mohou dále reagovat [9–12].

### Vícefázový výboj

O přípravě plazmatem aktivované vody pomocí vícefázového výboje (Obr. 2) hovoříme ve dvou základních případech. Pokud se plazma nachází v plynné fázi s rozptýlenou kapalnou fází (aerosoly) nebo pokud je plynné plazma rozptýlené v plynné fázi (ve formě bublin) v kapalině. Poznatky ohledně interakce aerosolu s plynným plazmatem jsou stále značně omezené, tudíž je preferováno vyrábění plazmatem aktivované vody s využitím tzv. „probublávání“. To prakticky probíhá tak, že pomocí kapiláry je do kapaliny vstřikován stlačený vzduch, čímž v kapalině vznikají bubliny. Při dostatečně vysokém napětí se uvnitř kapky, ještě před oddělením od kapiláry, vytvoří plazma. Následuje reakce na pomezí kapalina-plyn mezi plynou směsí bubliny a molekulami vody. Množství reakcí je poté závislé na samotné velikosti bubliny, čím budou bubliny menší, tím bude jejich specifický povrch větší, tudíž bude probíhat více reakcí [9, 13].



Obr. 2: Přechod RONS do vody [13]

## 2.2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti PAW

### Konduktivita

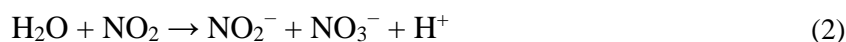
Konduktivitou se rozumí schopnost látek vést elektrický proud. Jak bylo uvedeno v první kapitole, velikost konduktivity je závislá na množství iontů vyskytujících se v systému. Během plazmového ošetření vznikají látky a ionty snadno rozpustné ve vodě, což způsobuje změnu konduktivity. Přítomnost RONS ve vodě zvyšují její vodivost. Konduktivita neboli měrná vodivost ( $\kappa$ ) se měří pomocí konduktometru v jednotkách microsiemens na centimetr a počítá se jako obrácená hodnota elektrického odporu vodiče ( $R$ ) a podílu délky ( $l$ ) a průřezu ( $S$ ) vodiče (1).

$$\kappa = \frac{1}{R} \cdot \frac{l}{S} \quad (1)$$

Se zvyšující se dobou působení plazmatu na vodu stoupá měrná vodivost vody. Korelace je zřejmá také mezi vodivostí vody a hodnotou pH. S klesající hodnotou pH stoupá vodivost. Dalším faktorem, jenž má vliv na vodivost, je typ přípravy PAW. Konduktivita roztoku vytvořeného výbojem přímo v kapalině je značně vyšší než toho vytvořeného výbojem v plynu nad kapalinou [14, 15].

### pH

V chemii značí pH koncentraci vodíkových iontů v roztoku. Z důvodu probíhajících reakcí RONS s molekulami vody dochází ke vzniku vodíkových iontů (2) a k nárůstu acidobazických vlastností vody.



Správná kombinace termického i neizotermického plazmatu pro generaci PAW vede k řízenému pH v rozmezí 0–7 [16]. S postupným časem se kyselost drasticky zvyšuje z důvodu vzniku silných kyselin až do momentu, kdy se hodnota pH ustálí. U dlouhodobě skladovaných PAW se pH nemění. Charakter PAW ovlivňuje samotný typ přípravy, ale i plyn ve kterém probíhá výboj při přípravě, jelikož typ plynu má vliv na vznikající RONS [14].

### Redoxní potenciál

Oxidačně redukční potenciál (ORP) nám značí schopnost látky oxidovat či redukovat jinou látku. Velikost ORP je závislá na koncentraci oxidačních/redukčních činidel a jejich síle. Redoxní potenciál nám poskytuje informaci o dezinfekčních schopnostech látky. Tato vlastnost je považovaná za důležitý faktor ovlivňující mikrobiální inaktivaci, která poškozuje buněčnou membránu mikrobů a jejich obranný mechanismus [14, 18].

S postupným časem se hodnota redoxního potenciálu u PAW zvyšuje. Vliv na ORP má také typ přípravy, kdy při aktivaci přímo v kapalině byla naměřena o 20 % vyšší hodnota ORP než při aktivaci vody nad povrchem [19]. Je to způsobené tím, že při aktivaci vody nad povrchem nevzniká takové množství peroxidů a u PAW má z látek s redoxními účinky zcela dominantní postavení právě peroxid vodíku, působící jako oxidační ( $E_0 = 1,77 \text{ V}$ ) i jako redukční činidlo ( $E_0 = -0,7 \text{ V}$ ). Dalším důvodem je, že u plazmatu elektrického výboje nad povrchem se setkáváme s nižší průraznou silou, hustotou a vodivostí atmosférického plynu. Podobně jako u pH nemá skladovací teplota vliv na ORP [14].

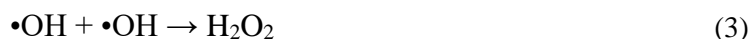
## 2.2.3 Reaktivní částice kyslíku a dusíku (RONS)

Jak bylo zmíněno v kapitole 2.2.1, reaktivní částice kyslíku a dusíku mají zásadní vliv na vlastnosti kapaliny a jejich koncentrace je klíčový parametr celé PAW. To, jaké množství RONS v systému vznikne, ovlivňuje mnoho faktorů, např. plynné médium, použité napětí, průtok plynu, objem roztoku či doba působení plazmatu. Zásadně se však na koncentracích podílí typ samotné přípravy, jelikož ke vzniku dochází buď na rozhraní kapalina-plyn nebo přímo v kapalině. Při aktivaci přímo v kapalině bylo pozorováno v PAW větší množství peroxidu vodíku, naopak při aktivaci v plynu nad kapalinou převažovala koncentrace dusitanových a dusičnanových iontů. Na základě životnosti částic v roztoku by se dali rozdělit do dvou základních skupin. Mezi ty s delší životností řadíme dusičnany, dusitany,

peroxid vodíku a ozón a tyto látky se zpravidla formují přímo v PAW. Do druhé skupiny s krátkou životností patří spíše částice formující se na rozhraní kapalina-plyn např. hydroxylové radikály, oxid dusnatý, superoxid, peroxodusičnan a peroxodusitan [20, 21].

### **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

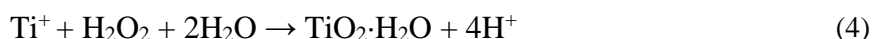
Peroxid vodíku je jednou z reaktivních forem ROS v plazmatem aktivované vodě. Při působení plazmatu nad hladinou vody dochází k jeho formování interakcí elektronů s molekulami vody na rozhraní kapalina-plyn. Pokud ale k aktivaci dochází přímo v kapalině, probíhá jeho tvorba rekombinací hydroxylových radikálů přímo v kapalině (3). Výhodou peroxidu vodíku je jeho dobrá stabilita v PAW (v závislosti na přípravě a pH).



Peroxid vodíku má mnoho funkcí v buněčných redoxních signálních drahách a proto je jeho vyšší koncentrace výhodná pro případné využití v lékařských či zemědělských odvětvích. V medicíně se využívá jeho antibakteriálního efektu a pro léčbu rakoviny. V zemědělství má příznivý vliv na rozvoj a růst rostlin, jelikož napomáhá klíčivosti semen a snižuje projevy příznaků onemocnění [22, 23].

### **Stanovení H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Ke stanovení koncentrace peroxidu vodíku se používá selektivní kolorimetrická reakce s titanovým činidlem (TiSO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Titanové činidlo reaguje s peroxidem vodíku za vzniku kyseliny peroxotitaničité (4).



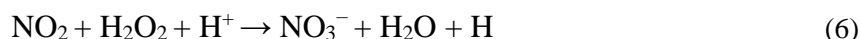
Po přidání činidla dojde ke vzniku žlutě zbarveného stálého (při pokojové teplotě až 6 hodin) vzorku, jehož intenzita absorbance je přímo úměrná koncentraci vzorku a stanovuje se pomocí spektroskopie UV-VIS při  $\lambda=407$  nm, která je založená na Lambert-Beerově zákoně (5) udávající nám vztah mezi absorbancí (*A*) a koncentrací:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (5)$$

kde  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient [ $\text{dm}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ], *l* je tloušťka kyvety [cm] a *c* je koncentrace vzorku [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ]. Měření probíhá pomocí spektrofotometru a pro finální výpočet se používá kalibrační přímka [24, 25].

### **NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>**

Dusitanové a dusičnanové ionty jsou nejdůležitějším zástupci RNS v PAW, na jejich vzniku se výrazně podílí oxidy dusíku. K formaci oxidů dusíku dochází disociací molekul dusíku a kyslíku ve vzdušné plazmě. Oxidy následně reagují s vodou, což vede k tvorbě dusitanových iontů, které mohou reagovat s peroxidem vodíku za vzniku dusičnanových iontů (6).



Při generaci plazmy nad hladinou v přítomnosti vzduchu se setkáváme s vyšší koncentrací dusičnanů a dusitanů než při generaci přímo v kapalině. RNS a rozpouštění oxidů dusíku má vliv na nízkou hodnotu pH PAW. Po výbojové reakce mezi dusitanovými ionty a peroxidem vodíku mají za následek vznik peroxydusitanu u kterého se setkáváme s výrazným antibakteriálním efektem. Dusičnanové ionty rozšiřují antimikrobiální aktivitu při skladování. Dusitanové a dusičnanové ionty zapříčiňují příznivý vliv, který má PAW na růst rostlin [14, 26, 27].

## Stanovení dusitanových a dusičnanových iontů

K dokazování dusitanových a dusičnanových iontů se podobně jako u peroxidu vodíku nejčastěji využívá kolorimetrická reakce, na níž následně navazuje spektrofotometrie, která má za úkol stanovit koncentraci RNS v PAW. Nejrozšířenější metoda pro důkaz dusitanů se nazývá Griessův test, který funguje na principu diazotační reakce dusitanů se sulfanilamidem v kyselém prostředí kyseliny fosforečné. Výsledná diazoniová sůl následně podléhá kopulaci s dihydrochloridem N-(1-naftyl)-1,2-diaminoetanu a vzniká roztok růžového zbarvení. Koncentrace je určena spektrofotometricky UV-VIS při  $\lambda=540$  nm. Při stanovení dusičnanů je potřeba na začátku redukce  $\text{NO}_3^-$  na  $\text{NO}_2^-$ , k čemuž se dá využít chlorid vanaditý. Následně probíhá stanovení na principu Griessova testu. Jedinými odlišnostmi jsou, že zreagováním látek nám vznikne hnědé zbarvení a následné stanovení koncentrace probíhá při  $\lambda=526$  nm. Dále lze stanovovat RNS pomocí například HPLC nebo plynovou chromatografií [21, 28].

### 2.2.4 Použití PAW

Jedna ze zásadních oblastí, kde PAW nachází své využití, je zemědělství. V posledních letech byl vědci dokázán příznivý vliv, jak na klíčivost semen rostlin, ale i na jejich samotný růst. K zlepšení klíčivosti rostlin přispívají především reaktivní formy kyslíku a dusíku. ROS přispívají k popraskání obalu semen, což napomáhá asimilaci vody a živin. To vede ke zlepšení rychlosti klíčení, indexu vitality a indexu klíčení. RNS slouží jako živiny pro růst klíčku semena. Dále některé RONS, zejména peroxid vodíku a dusičnany působí v PAW jako signální molekula pro stimulaci klíčení semen, zahrnující změny na proteomické, transkriptomické a hormonální úrovni [21, 29].

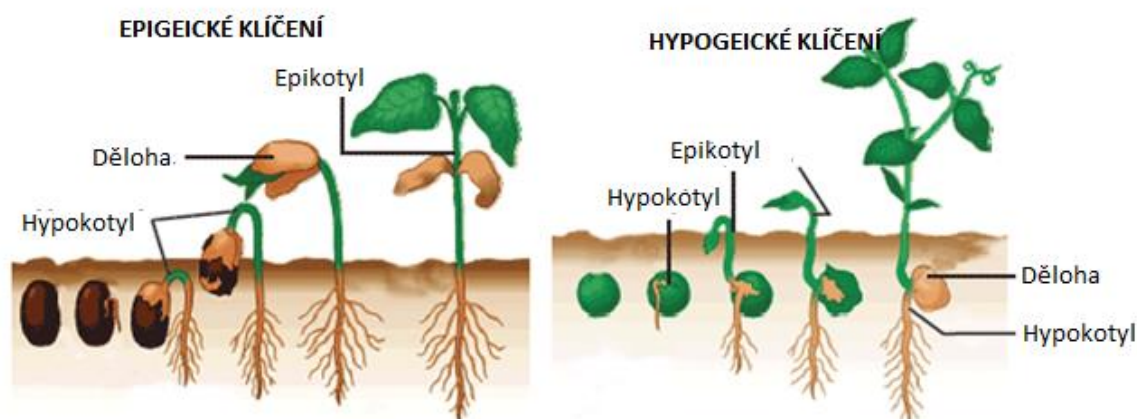
Příznivý vliv na růst rostlin je pozorován u RNS, především u dusičnanů. Dusičnany se vstřebávají do rostlinných buněk, kde jsou postupně redukovány nitrátreduktázou a nitritreduktázou. Eventuálně dochází ke vzniku amonných iontů, které vstupují do aminokyselin, tak aby vytvořili živiny pro stimulaci růstu rostlin [21, 29].

PAW by také mohla nahrazovat pesticidy ve hnojivech, jelikož disponuje schopností zabíjet patogenní bakterie na povrchu rostlin a může také sloužit jako induktor rezistence rostlin a spouštět jejich obranný mechanismus proti škůdcům a chorobám, což by vzhledem k často negativnímu efektu pesticidů na životní prostředí a nižší ceně bylo velmi výhodné. Nicméně využití PAW v zemědělství je stále málo zkoumáno a k širšímu použití PAW chybí dostatečné vědecké podklady [21, 29].

Na rozdíl od zemědělství, v medicíně je PAW běžně využívána ve větším objemu. Důležitá je její schopnost bakteriální inaktivace, která napomáhá hojení ran či ošetření pleti. Jejím působením nedochází k poškození tkání a využívá se například k dezinfekci povrchů, lékařských nástrojů či pitné a užitkové vody. Známa je také schopnost PAW selektivně zabíjet karcinogenní buňky [30, 31].

## 2.3 Klíčivost rostlin

Klíčení semene je definováno jako proces, při kterém ze semena (zárodku) vyrůstá klíček. Ke vzniku semen u vyšších rostlin dochází v plodu po spojení samičích a samčích pohlavních buněk. Doba, během které začne semeno klíčit, se u jednotlivých rostlin výrazně liší. Některé semena rostlin začínají klíčit téměř okamžitě a s postupujícím časem jejich klíčivost klesá. U většiny rostlin, však semeno zprvu musí překonat tzv. období klidu, během kterého semeno překonává nepříznivé podmínky pro klíčení. Po této době proniká kořínek klíčku ze slupky semena a obrací se okamžitě směrem do půdy vlivem zemské tíže. Zanedlouho se začíná vyvíjet i stonek opačným směrem. Na konci klíčku rostlin vznikají tzv. vzrůstné body, které jsou pokryté ochranným pletivem. Z nich později vyrůstají postranní kořeny. Rozlišujeme dva základní typy klíčení (Obr. 3), epigeické (nadzemní) a hypogeické (podzemní) klíčení. Při epigeickém klíčení proráží děloha pomocí děložních listů a ty se účastní fotosyntézy, po určité době, ale většinou usychají či odpadají. Mezi rostliny s nadzemním typem klíčení řadíme jehličnaté a většinu listnatých stromů, cibule či slunečnice. U hypogeických semen zůstávají dělohy v půdě pod povrchem a fotosyntézy se přímo neúčastní, následně z plumuly vyrůstá nad povrch epikotyl nesoucí listy. S tímto typem klíčení se setkáváme například u kukuřičných semen a hrachu [33–35].



Obr. 3: Epigeické klíčení (vlevo) a hypogeické klíčení (vpravo) [32].

### 2.3.1 Faktory ovlivňující klíčivost

Klíčivost je závislá na vnějších podmínkách okolí a mezi nejzásadnější faktory ovlivňující klíčivost patří kyslík, teplota, vlhkost a množství světla. Každé semeno reaguje na tyto podmínky rozdílným způsobem.

Dostatek kyslíku je důležitý pro správné fungování metabolismu rostlin. Při aerobním dýchání slouží kyslík jako zdroj energie, dokud tuto roli nepřevzou listy rostliny. Nепropustnost půdy či některé obaly zamezují přístupu kyslíku k semenu a tudíž zpomalují celkový proces klíčení. Negativní efekt na správné okysličení semena má i vyšší vlhkost [36, 37].

Teplota u klíčení ovlivňuje rychlost buněčného metabolismu a u jednotlivých rostlin se zásadně liší. Velké množství rostlin klíčí při pokojové teplotě (18–24 °C), některé až při vyšších teplotách a u specifické skupiny rostlin se setkáváme s klíčením již při teplotě lehce nad bodem mrazu. U většiny polnohospodářských rostlin se teplota klíčení pohybuje mezi 24 °C až 32 °C [37, 38].

Další esenciální podmínkou pro klíčení semen je dostatek vody. Na rozdíl od dalších částí rostlin je semeno velmi suché. Po styku s vodou dochází k bobtnání semene a k následnému rozrušení semenného obalu, což umožňuje samotné klíčení. Nasátí vody semenem také vede k aktivaci hydrolytických enzymů, které rozkládají potravinové zdroje (bílkoviny, škrob) na metabolicky důležité látky, ze kterých rostlina čerpá energii pro svůj vývoj. Po vyčerpání těchto látek poskytuje potřebnou energii fotosyntéza.

Většina semen nejsou ovlivněné světlem či tmou a hlavní role světla přichází až v momentě fotosyntézy. Najdou se však i výjimky např. lesní rostliny, které začínají klíčit až v moment, kdy mají dostatek světla.

Klíčivost se stářím semene postupně klesá a pouze zlomek semen dosáhne příznivých podmínek pro samotné vyklíčení [37, 38].

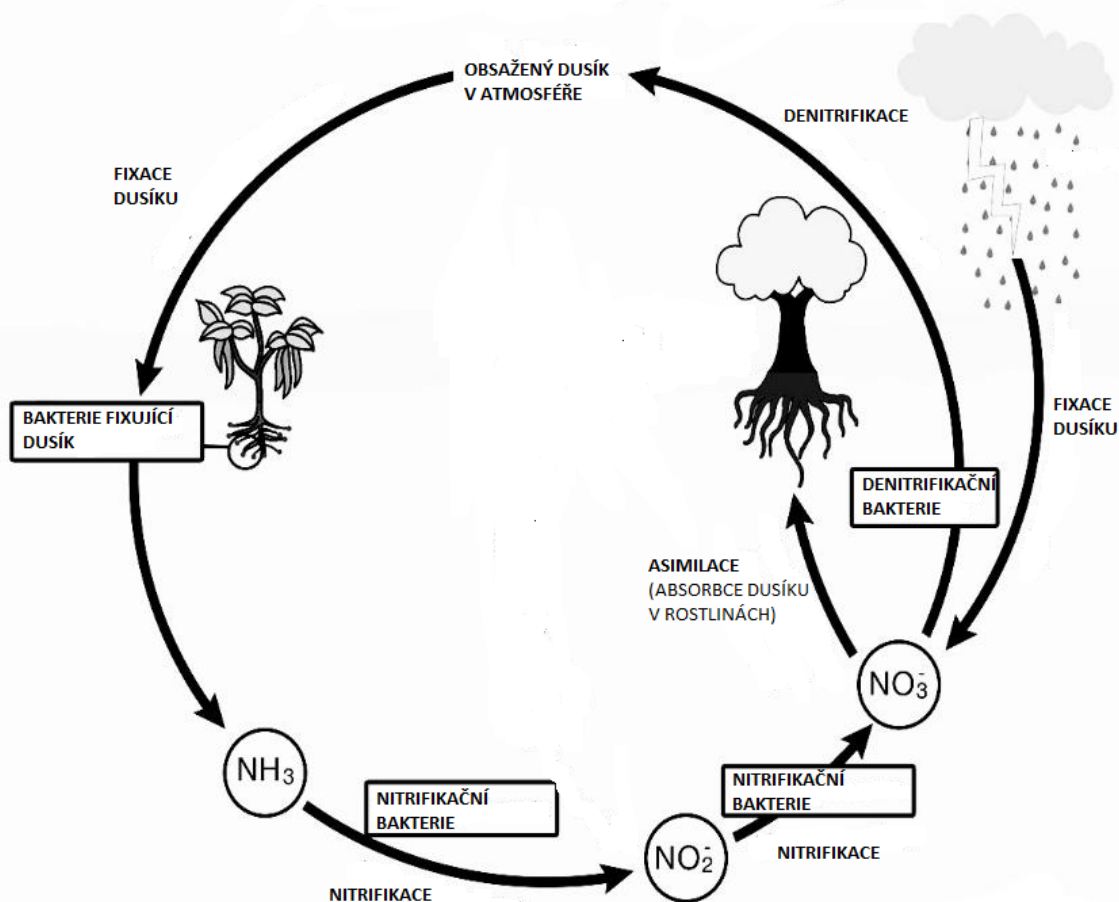
### 2.3.2 Statistické vyhodnocení klíčivosti

Pro popis klíčivosti semen je využitelné poměrně široké spektrum statistických metod. K vyhodnocování výsledků vlivu plazmatem aktivované vody na klíčivost semen, kde nejčastěji pracujeme s dvojicemi hodnot pro semena ošetřená PAW a kontrolními vzorky, se dá výhodně využít párového a dvouvýběrového t-testu. Párový t-test umožňuje ověřit hypotézu, jestli normální rozdělení, ze kterého získáváme určitý náhodný výběr, má konkrétní střední hodnotu. Oproti tomu nepárový t-test umožňuje ověřit hypotézu, zda dvě normální rozdělení stejného rozptylu (neznámého), ze kterého pochází dva nezávislé náhodné výběry, mají stejné střední hodnoty. Výsledkem t-testů je hodnota P, která udává, zda je rozdíl hodnot statisticky významný. Pokud platí  $P > 0,05$ , což odpovídá 5 %, nejedná se o statisticky významný rozdíl [39].

V případě toho, že veličiny  $X$  a  $Y$  neodpovídají Gaussovu normálnímu rozdělení, lze využít neparametrických testů např. Mann-Whitney U test. U toho testujeme hypotézu, že veličina  $X$  vystavená pokusu A a veličina  $Y$  vystavená pokusu B mají totožné rozdělení pravděpodobností [40].

### 2.3.3 Ekotoxicita rostlin

Růst a vývoj semen rostlin je závislý na množství živin, nejdůležitější látky pro rostliny v tomto ohledu jsou sloučeniny dusíku. Původní zdroj dusíku pro rostliny pochází z atmosféry, ze které se pomocí gravitační síly a bakterií dostává do půdy, kde vznikají ve spolupráci s dalšími typy bakterií a obsaženému vodíku sloučeniny amoniaku. Toxický amoniak reaguje s kyslíkem za vzniku dusitanů a dusičnanů. Následně dochází k asimilaci těchto látek rostlinami (Obr. 4). Zbylý dusík se vrací zpět do atmosféry v procesu zvaném denitrifikace nebo je odnesen vodou [41].



Obr. 4: Dusíkatý cyklus [42].

Problém nastává v případě intenzivního používání syntetických hnojiv, kdy se velké množství hnojiv obsahující především dusík či fosfor dostává do vodních ploch, kde způsobují zvýšenou intenzitu biologických procesů vedoucí k nežádoucímu rozvoji nomenklatur a zarůstání vodních těles. Tento proces nazýváme eutrofizace. Volné molekuly dusíku pocházející z hnojiv se také poměrně lehce dostávají do atmosféry, kde podporují vznik oxidu dusného, jenž se podílí na skleníkovém efektu. Další nežádoucí vedlejší vliv hnojiv spočívá v tom, že velké množství čistého kyslíku obsaženém v půdě narušuje houby přichycené ke kořenům rostlin, které mají za úkol dostávat živiny směrem ke kořenům nebo drasticky mění pH, což má za důsledek vytvoření nehostinných podmínek pro bakterie. Půda je pak méně úrodná, chudá na minerály a k pěstování plodin je zapotřebí dodávat krom většího množství

hnojiva ještě speciální minerální hnojivo. To je nevýhodné z finančního hlediska, vypěstované plodiny mají horší nutriční vlastnosti a má to značný negativní dopad na životní prostředí [43,44].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem práce bylo připravit plazmatem aktivovanou vodu (PAW) a následně ji aplikovat na semena kukuřice a pozorovat její vliv na klíčivost semen. Při experimentu byla PAW vytvořena z destilované i kohoutkové vody pomocí tří různých plazmových systémů, produkující PAW o odlišném složení. Výsledky byly porovnávány s kontrolními vzorky neaktivované vody, přičemž byl použita vždy stejný typ vody jako při tvorbě PAW. Kapalína byla vždy aplikovaná na 25 semen ve čtyřech sériích. Po vyklíčení semen probíhalo vyhodnocování vlivu PAW na klíčivost semen. Bylo vždy spočítané množství vyklíčených semen v pokusu a byla změřena délka kořínků a stonků vyklíčených semen. V první sadě pokusů probíhalo vyhodnocování vlivu různě připravené PAW v 6. den pokusu (začátek pokusu v 0. den). V druhé sadě pokusů bylo spočítané množství vyklíčených/nevyklíčených semen 3. den a celkové vyhodnocení i s měřením kořínků a stonků proběhlo 6. den pokusu.

#### 3.1 Použité materiály, chemikálie a přístroje

##### Chemikálie a materiál:

- Destilovaná voda (FCH)
- Kohoutková voda (Brněnské vodárny a kanalizace a.s.)
- Kukuřice
- Kolorimetrický test dusitanů
- Kolorimetrický test dusičnanů
- Činidlo oxysulfát titaničitý ( $\text{TiOSO}_4$ ) – roztok kyseliny sírové na detekci  $\text{H}_2\text{O}_2$

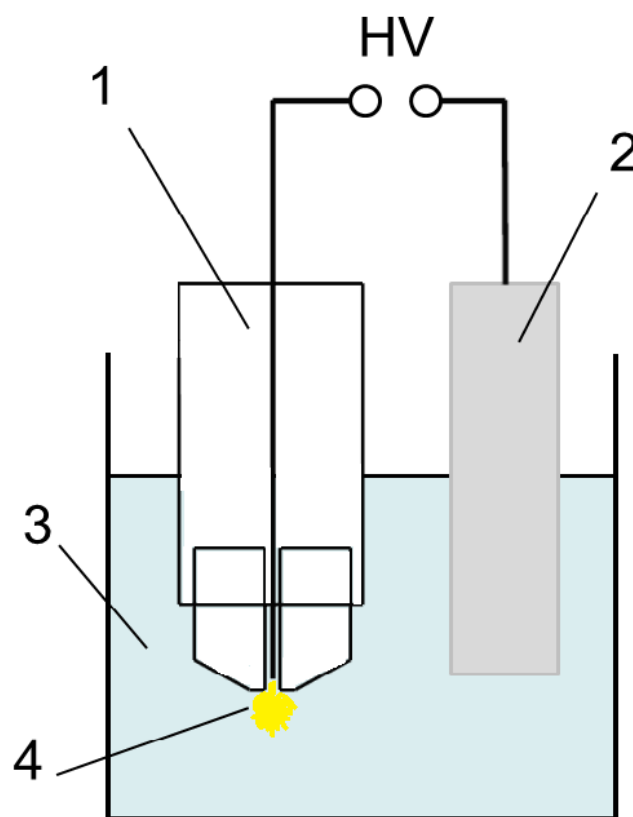
##### Přístroje

- Plazmový DBD reaktor s tekutou elektrodou (Laboratoř plazmových procesů, Fakulta chemická, vlastní výroba)
- Ozonizátor (Lifetech)
- Plazmová tryska na generaci plazmatu v kapalině (Laboratoř plazmových procesů, Fakulta chemická, vlastní výroba, patent [45,46])
- Zdroj vysokofrekvenčního vysokého napětí (Lifetech)
- Hmotnostní průtokoměry (Omega)
- Zdroj střídavého vysokofrekvenčního napětí (Lifetech)
- UV-VIS spektrofotometr (Helios Omega, Unicam)

## 3.2 Příprava PAW

### Příprava PAW plazmovou tryskou ve vodě

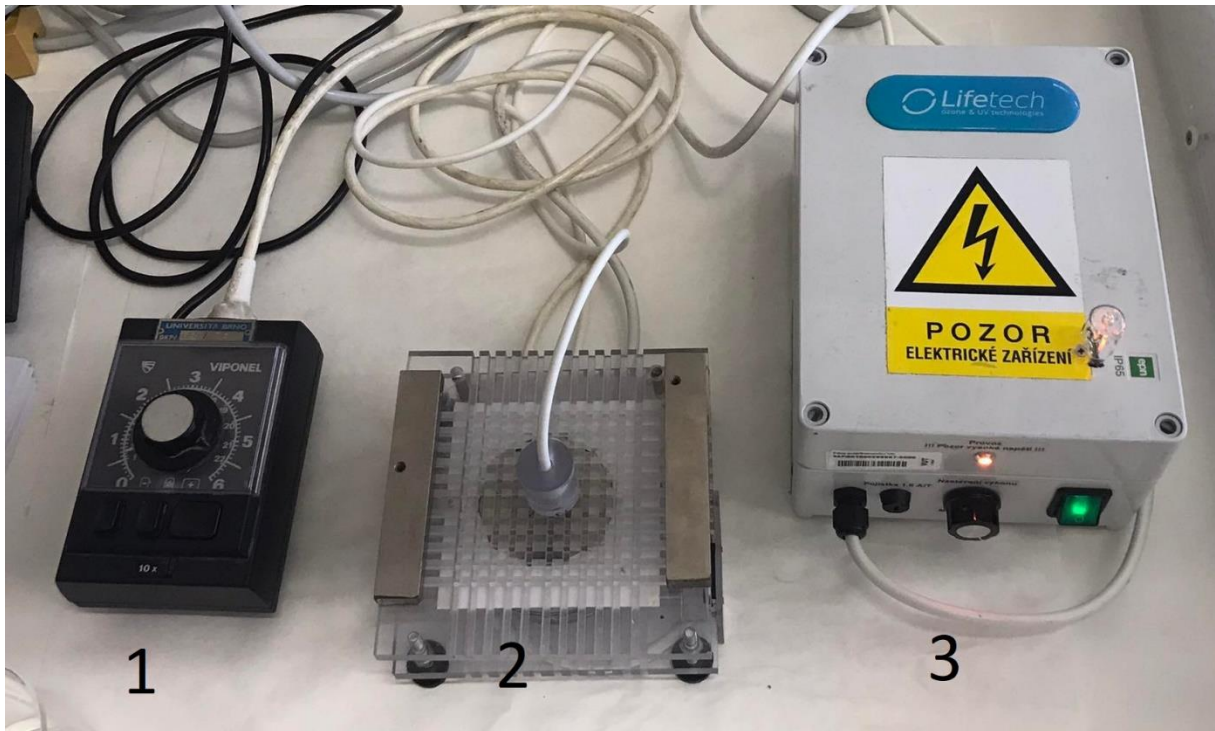
Systém je složen z hlavní plazmové trysky (č.1), hliníkové elektrody (č.2) a z ošetřovaného roztoku (č.3)(Obr. 5)[45–47]. Hlavní proudová elektroda byla vyrobena z wolframového drátu, který byl vložen do dielektrické válcové keramické tyče. Pro zvýšení intenzity elektrického pole v mezeře dielektrické tyče je v keramice vytvořen malý otvor o průměru 1,2 mm. Druhá protielektroda vystupuje v této aparatuře v podobě hliněné destičky. Plazmový výboj vzniká přímo v kapalině po dodání elektrické energie pomocí zdroje střídavého vysokofrekvenčního napětí do systému (frekvence 15 kHz, výkon 40 W). Tímto způsobem docházelo k vzniku produktů plazmatu (RONS) přímo v kapalině. Doba přípravy trvala 2 minuty a tímto způsobem bylo připraveno 150 ml PAW. Příprava probíhala dvakrát, kdy jednou byla použita jako ošetřovaný roztok destilovaná voda a podruhé kohoutková voda.



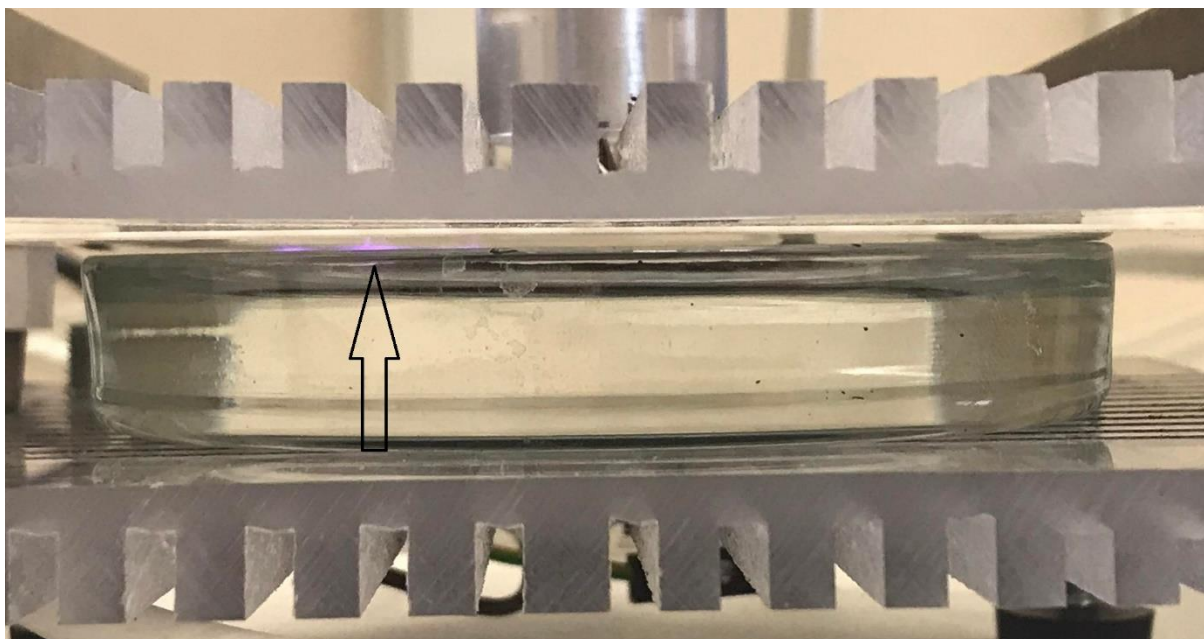
Obr. 5: Systém pro přípravu PAW pomocí plazmové trysky ve vodě, 1. - plazmová tryska, 2 - hliníková elektroda, 3 - ošetřovaný roztok (voda) a 4 - aktivní oblast plazmatu [47].

### **Příprava PAW pomocí dielektrického bariérového výboje (DBD) s tekutou elektrodou**

Systém pro přípravu PAW s využitím DBD s tekutou elektrodou se skládá ze spínacích hodin (č.1), DBD reaktoru s Petriho miskou (č.2) a vysokofrekvenčního zdroje napětí (č.3)(Obr. 6). Do Petriho misky s grafitovou elektrodou bylo odměřeno 75 ml vody a byl zapnut vysokofrekvenční zdroj napětí (36 W). Plazmový výboj byl patrný na fázovém rozhraní v Petriho misce (Obr. 7), ve výboji docházelo k difúzi RONS do kapaliny. Příprava proběhla za 2 minuty, výboj trval 15 sekund a byl 8x opakován. K získání potřebných 150 ml PAW proběhla celá aktivace dvakrát. Vzorky byly vytvořeny z destilované i kohoutkové vody.



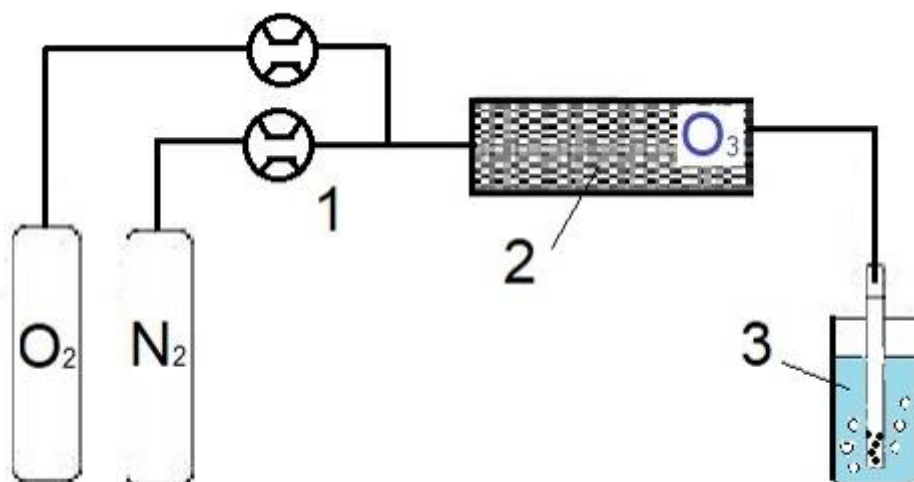
Obr. 6: Systém pro přípravu PAW pomocí dielektrického bariérového výboje s tekutou elektrodou, kde 1 - spínací hodiny, 2 - DBD reaktor s Petriho miskou a 3 - vysokofrekvenční zdroj napětí.



Obr. 7: Výboj v DBD reaktoru při přípravě PAW pomocí DBD s tekutou elektrodou.

### Příprava PAW probubláváním produktů dielektrického bariérového výboje (DBD) do vody

Systém pro přípravu probubláváním produktů DBD do vody obsahuje přívod kyslíku a dusíku (č.1), ozonizátor (č.2) a odměrný válec s kapalinou (č.3)(Obr. 8). Do odměrného válce se 150 ml vody byl vložen vzduchovací kamen a byl zapnut přívod kyslíku a dusíku v poměru 1:4. V ozonizátoru (výkon 32 W) hořel výboj na principu DBD a následně došlo k transportu produktů výboje teflonovou hadičkou z ozonizátoru do probublávacího nástavce, kde došlo k difúzi produktů z bublin do vody probubláváním. Příprava trvala 2 minuty a proběhla aktivace destilované i kohoutkové vody.



Obr. 8: Schéma systému pro přípravu PAW probubláváním produktů DBD do vody, 1 - přívod plynů kyslíku a dusíku, 2 - ozonizátor a 3 - odměrný válec s aktivující se kapalinou.

### 3.3 Charakterizace složení PAW

Při charakterizaci PAW bylo zkoumáno množství jednotlivých RONS obsažených v roztoku PAW. Jejich přítomnost byla dokazována pomocí důkazových činidel kolorimetrickou reakcí, na kterou navazovala analýza pomocí UV-VIS spektrofotometrie při vhodné vlnové délce. Jako slepý vzorek pro kalibraci přístroje byla použita destilovaná voda s přidávanými činidly. Množství RONS poté bylo dopočítáno z hodnoty absorbance a kalibrační křivky. Měření proběhlo u tří vzorků a výsledek byl

z těchto hodnot následně zprůměrován a proběhlo pro vzorky aktivované z destilované i kohoutkové vody.

#### **Stanovení dusitanů**

K dokazování dusitanů bylo použito 5 ml PAW do které byla přidána 1 lžička činidla pro kolorimetrický důkaz dusitanů. Vzorek byl důkladně protřepáván, dokud nedošlo k úplnému rozpuštění činidla a byl měřen na spektrofotometru při vlnové délce 540 nm. Množství dusitanů ve vzorku bylo vyhodnoceno z hodnoty absorbance pomocí kalibrační křivky (7).

$$y = 0,7172x \quad (7)$$

#### **Stanovení dusičnanů**

Stanovování dusičnanů probíhalo podobně jako dusitanů s tím rozdílem, že k PAW byly přidány dvě lžičky důkazového činidla pro dusičnany a vzorky byly měřeny pomocí spektrofotometru při vlnové délce 380 nm. Vyhodnocení množství dusičnanů proběhlo pomocí kalibrační křivky (8) z hodnoty absorbance naměřené na spektrofotometru.

$$y = 0,0318x \quad (8)$$

#### **Stanovení peroxidu vodíku**

Pro důkaz peroxidu vodíku v PAW bylo použito titanové činidlo v poměru s PAW 1:2. Vzorky byly následně ihned analyzovány na spektrofotometru při vlnové délce 407 nm a vyhodnocení proběhlo pomocí kalibrační křivky (9).

$$y = 0,459x \quad (9)$$

### **3.4 Příprava semen kukuřice**

Semena kukuřice byla aplikována na čtyřvrstvý filtrační papír, který byl nasáklý destilovanou vodou. Na filtrační papír bylo rovnoměrně rozmístěno 25 semen, tak aby se semena vzájemně nedotýkali a papír byl sbalen do ruličky, tak aby vznikla vzduchová kapsa, ve které tak vznikl prostor pro klíčení semen. Sbalený filtrační papír byl vložen společně s dalšími třemi stejně vytvořenými vzorky do květináče, kde na něj byla aplikována PAW. V každém květináči se tak nacházelo 100 semen kukuřice. Následně byl květináč přikryt, aby byl chráněn před světlem a byl vložen na tmavé místo, kde semena klíčila při teplotě 22 °C 5 dní. Tímto způsobem byly v jedné sérii pokusů vytvořeny 4 květináče, ve dvou byla aplikována PAW z destilované a kohoutkové vody a ve zbylých dvou se nacházely jejich kontroly.

### **3.5 Vyhodnocování**

Vyhodnocování klíčivosti semen kukuřice probíhalo ve 3. a 6. den pokusu. Po třech dnech byl každý filtrační papír opatrně rozmotán a bylo spočítáno, kolik semen ze 100 vyklíčilo. Následně byly filtrační papíry smotány a vloženy zpět do květináče, kde pokračovalo klíčení semen další tři dny. 6. den pokusu byl opět přepočítán počet vyklíčených semen a u jednoho filtračního papíru z květináče (25 semen) byly u každého semene změřeny rozměry kořínku a stonku.

#### **3.5.1 Statistické vyhodnocení klíčivosti semen**

Vyhodnocování vyklíčených semen probíhalo 3. a 6. den pokusu. Byla spočítána vyklíčená semena v každém květináči a počet vyklíčených semen v květináčích, do nichž byl aplikován stejný typ PAW či její kontrola byl zprůměrován a použit do následujících vztahů, podle kterých byly vypočítané jednotlivé parametry klíčivosti. Klíčivost semen (G) byla vyhodnocena jako procento semen, jenž

vyklíčilo v optimálních podmínkách za určitý čas, v tomto případě 6 dní. Výpočet proběhl dle vztahu (10):

$$G = \frac{G_f}{S} \cdot 100 \quad (10)$$

kde  $G_f$  je průměrný počet vyklíčených semen 6. den pokusu a  $S$  je celkový počet semen.

Dalším vyhodnocovaným parametrem byla energie klíčení (GE), která udává procentuální množství vyklíčených semen v určitý den mezi začátkem a ukončením pokusu, v našem případě se jednalo o třetí den pokusu. Výpočet energie klíčení proběhl dle vzorce (11):

$$GE = \frac{G_t}{S} \cdot 100 \quad (11)$$

kde  $G_t$  je počet vyklíčených semen určitý den pokusu, v našem případě se jednalo o 3. den a  $S$  je počet celkových semen na začátku pokusu.

$S$  parametrem energie klíčení souvisí další parametr rychlost klíčení (GR), který udává procentuální poměr mezi počtem semen vyklíčených v určitý den průběhu pokusu a celkovým počtem vyklíčených semen při ukončení pokusu. Výpočet proběhl podle vzorce (12):

$$GR = \frac{G_t}{G_f} \cdot 100 \quad (12)$$

kde  $G_t$  je počet vyklíčených semen 3. den pokusu a  $G_f$  je počet vyklíčených semen při ukončení pokusu.

Posledním parametrem, kterým byla popsána klíčivost semen,

je relativní rychlost klíčení (RGR). Jedná se o procentuální poměr rychlosti klíčení semen ošetřených pomocí PAW a rychlosti klíčení kontrolních vzorků. Výpočet proběhl dle vzorce (13):

$$RGR = \frac{GR_{PAW}}{GR_K} \cdot 100 \quad (13)$$

kde  $GR_{PAW}$  je rychlost klíčení vzorku ošetřených PAW a  $GR_K$  je rychlost klíčení kontrolních vzorků [48].

### 3.5.2 Vyhodnocení stimulace a inhibice kořenů a stonků

Pro vyhodnocení inhibice či stimulace kořenů byl využit screeningový test klíčivosti [49]. Pro výpočet průměrné délky kořenů pro každou skupinu byla změřena délka kořenů více naklíčených semen a hodnoty byly zprůměrovány. Rozdíl mezi průměrnou délkou kořene kontrolní skupiny ( $L_c$ ) a průměrnou délkou kořene skupiny PAW ( $L_v$ ) byl použit ke stanovení, zda látka měla inhibiční nebo stimulační účinek na růst kořínků a stonků. Výsledek testu byl daný dle vzorce (14):

$$I = \frac{L_c - L_v}{L_c} \cdot 100 \quad (14)$$

kde  $L_c$  je délka kořene/stonku kontroly a  $L_v$  je délka kořene/stonku ošetřeného pomocí PAW. Samotný výsledek testu nám udává hodnota  $I$ . Pokud je hodnota  $I$  větší než 0, znamená to inhibici, látka měla negativní vliv na růst kořenů. Naopak, pokud je  $I$  menší než 0, znamená to stimulaci, látka měla pozitivní vliv na růst kořenů. Stejným způsobem byla vyhodnocena stimulace a inhibice stonků vyklíčených semen.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V experimentální části byl zkoumán vliv jednotlivých PAW na klíčivost semen kukuřice a její efekt na kvalitu rostliny. Získaná data byla porovnávána s kontrolními vzorky, které byly ošetřeny pomocí čisté kohoutkové a destilované vody. Čísla v tabulkách jsou průměrné hodnoty, jelikož celý experiment byl dvakrát opakován a probíhal na širším spektru semen pro rozšíření celkového statistického souboru.

### 4.1 Složení PAW

Tabulka 1 obsahuje hodnoty koncentrace jednotlivých RONS v určitých PAW, které byly použity na ošetření semen kukuřice. Hodnoty koncentrace peroxidu ve vzorcích byla z mmol/l přepočítána na mg/l. Nejnižší koncentrace peroxidu byla zjištěna v roztocích aktivovaných pomocí probublávání DBD produktů do vody, kdy docházelo pouze ke vzniku nepatrného množství peroxidů, naopak zvýšené množství koncentrace těchto iontů byla zjištěna u zbylých dvou aktivací. U PAW připravené z kohoutkové vody je řádově vyšší koncentrace dusičnanů než u PAW aktivované z destilované vody, což je způsobeno poměrně vysokou koncentrací dusičnanů v samotné kohoutkové vodě, jejíž koncentrace byla zjištěna z webových stránek Brněnských vodáren. Nejvyšší přírůstek koncentrace dusičnanů byl změřen u vody aktivované pomocí plazmové trysky. U většiny systémů platí, že větší koncentraci RONS obsahuje PAW vytvořená z kohoutkové vody, jediná výjimka je aktivace plazmovou tryskou, kde byla zjištěna vyšší koncentrace dusitanů u PAW z destilované vody, jelikož v případě kohoutkové vody obsahující velké množství oxidačních látek dochází k oxidaci dusitanů na dusičnany.

Tabulka 1: Složení jednotlivých PAW připravených třemi plazmovými systémy.

Plazmový systém	Aktivovaná voda	Složení PAW		
		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> [mg/l]	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg/l]	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [mg/l]
Probublávání produktů DBD do vody	Destilovaná	0,9	4	0,06
	Kohoutková	1,8	36,7	0,88
Plazmová tryska ve vodě	Destilovaná	18,2	6,6	1,48
	Kohoutková	21,5	38,5	0,12
DBD výboj nad hladinou vodu	Destilovaná	9,7	1,8	0,89
	Kohoutková	10,2	39,6	1,76
	Kohoutková*	0	33,7	<0,01

\*složení dle BVK a.s. (<https://www.bvk.cz/pitna-voda/mapa-jakosti-vody>)

## 4.2 Vliv PAW na klíčivost

PAW připravená z destilované a kohoutkové vody ve třech plazmových systémech byla aplikována na semena kukuřice seté. Následně byla sledována jejich klíčivost, energie klíčení, rychlost klíčení a relativní rychlost klíčení, které jsou vyhodnoceny v následujících tabulkách.

### PAW aktivovaná pomocí probublávání DBD produktů do vody

Tabulka 2 obsahuje data charakterizující klíčivost semen v PAW aktivované pomocí probublávání DBD produktů do vody. Je z ní zřejmé, že ve 3. i 6. den pokusu byl větší počet vyklíčených semen v kontrole než v samotné PAW. Ve 3. den to bylo průměrně o 1,7 semen více, 6. den tento rozdíl semen narostl na 2 semena.

Tabulka 2: Výsledky experimentu klíčivosti v destilované PAW aktivované probubláváním DBD produktů do vody.

Číslo misky	PAW		Kontrola	
	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den
1	10	12	12	14
2	10	11,5	11	13
3	7	12,5	8	13
4	8	10	11	14
Průměr	8,8±1,5	11,5±0,9	10,5±1,3	13,5±0,5
G [%]	35	46	42	54

Z Tabulka 3 vyplývá, že procentuální klíčivost semen (G) 6. den pokusu byla u kontroly o 8 % vyšší. Stejně tak tomu bylo i u energie klíčení (GE), kde byla energie klíčení kontroly o 7 % vyšší než u PAW. To mohlo být způsobeno složením PAW aktivované pomocí probublávání DBD produktů do vody, jelikož především koncentrace dusitanů a peroxidu vodíku v této PAW byla velmi nízká. Vliv iontů podporující klíčivost semen byl tím pádem velmi malý. U rychlosti klíčení (GR) byl rozdíl mezi PAW a kontrolou zanedbatelný, jelikož kontrola klíčila pouze o 0,27 % rychleji než semena v plazmatem aktivované vodě. Z toho důvodu byla hodnota relativní rychlosti klíčení (RGR) lehce pod 100 %, což značí téměř nulový vliv.

Tabulka 3: Parametry klíčivosti v destilované PAW vytvořené probubláváním DBD produktů do vody.

Typ vzorku	G [%]	GE [%]	GR [%]	RGR [%]
PAW	46	35	76,1	99,6
Kontrola	54	42	76,4	

Tabulka 4: Výsledky experimentu klíčivosti v kohoutkové PAW aktivované probubláváním DBD produktů do vody.

Číslo misky	PAW		Kontrola	
	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den
1	11	12	7	14
2	8	13,5	6	8
3	10	13	7	10,5
4	12	13	6	9,5
Průměr	10,2±1,5	12,9±0,5	6,5±0,5	10,5±2,2
G	41	51,5	26	42

Z výsledků v Tabulka 4 vyplývá, že ve 3. den vyklíčilo průměrně o 3,75 semen více v plazmatem aktivované vodě než v kontrole. Podobně tomu bylo i 6. den experimentu, kdy v PAW vyklíčilo průměrně 12,9 semen, což je o 2,4 semen více než v kontrole.

Tabulka 5: Parametry klíčivosti v kohoutkové PAW vytvořené probubláváním DBD produktů do vody.

Typ vzorku	G [%]	GE [%]	GR [%]	RGR [%]
PAW	51,5	44	77,4	119
Kontrola	42	26	65	

Z parametrů klíčivosti v Tabulka 5 je zřejmý příznivý vliv PAW aktivované z kohoutkové vody pomocí probublávání DBD produktů do vody na parametry klíčivosti, jelikož klíčivost, energie klíčení i rychlost klíčení je u semen ošetřených PAW signifikantně vyšší, než tomu je u semen ošetřených čistou kohoutkovou vodou. Konkrétně u klíčivosti (G) je rozdíl 9,5 %, energie klíčení (GE) 18% a u rychlosti klíčení (GR) 13,35 %. Relativní rychlost klíčení semen (RGR) je 119,01 %, což znamená, že rychlost klíčení semen byla v PAW vyšší. Klíčivost je zároveň u aktivované kohoutkové vody vyšší, než tomu bylo u aktivované destilované vody.

### PAW aktivovaná plazmovou tryskou

Hodnoty v Tabulka 6 značí, že 3. den pokusu vyklíčilo průměrně více semen v PAW. Konkrétně je to průměrně o 1 vyklíčené semeno. Naopak 6. den pokusu byl zjištěn nepatrně vyšší počet vyklíčených semen v kontrole.

Tabulka 6: Výsledky experimentu klíčivosti v destilované PAW aktivované plazmovou tryskou.

Číslo misky	PAW		Kontrola	
	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den
1	11	13	7	11,5
2	8	13	9	14
3	9	15	8	15,5
4	9	13	9	16
Průměr	9,3±1,1	13,5±0,9	8,3±0,8	14,5±1,8
G	37	54	33	57

Tabulka 7: Parametry klíčivosti v destilované PAW vytvořené plazmovou tryskou.

Typ vzorku	G [%]	GE [%]	GR [%]	RGR [%]
PAW	54	37	66,1	130,1
Kontrola	57	33	55,8	

Výsledky v Tabulka 7 značí, že klíčivost (G) byla u semen ošetřených PAW vytvořené z destilované vody za pomoci plazmové trysky o 3 % nižší než tomu bylo u semen ošetřených kontrolní vodou. Zbylé parametry klíčivosti už signalizují pozitivní vliv PAW. Energie klíčení (GE) je u PAW vyšší o 4 % a rychlost klíčení o 11,7 %. Relativní rychlost klíčení (RGR) pak značí, že semena v PAW klíčila výrazně rychleji než v kontrole. Urychlení klíčení může být způsobeno vyšší koncentrací peroxidu vodíku, který napomáhá zvýšení nasákavosti semen.

Tabulka 8: Výsledky experimentu klíčivosti v kohoutkové PAW aktivované plazmovou tryskou.

Číslo misky	PAW		Kontrola	
	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den
1	8	14,5	7	13
2	5	13	6	14
3	7	15	3	13
4	9	10	9	10,5
Průměr	7,3±1,5	13,1±1,3	6,3±2,2	12,6±1,9
G	29	52,5	25	50,5

Z Tabulka 8 je vidět, že počet vyklíčených semen 3. den pokusu, byl průměrně o 1 vyšší v PAW než v kontrole. 6. den pokusu bylo v PAW průměrně o 0,5 vyklíčeného semena více. Obecně lze říci, že výsledky PAW kohoutkové vody jsou srovnatelné s destilovanou vodou.

Tabulka 9: Parametry klíčivosti v kohoutkové PAW vytvořené plazmovou tryskou.

Typ vzorku	G [%]	GE [%]	GR [%]	RGR [%]
PAW	52,5	29	50,9	111,9
Kontrola	50,5	25	45,5	

Výsledky v Tabulka 9 nám říkají, že klíčivost semen (G) byla v PAW o 2 % vyšší než v kontrole. Energie klíčení (GE) vyšla o 4 % vyšší v PAW a rychlost klíčení byla v PAW vyšší o 5,4 %. Relativní rychlost klíčení (RGR) 111,9 % říká, že semena klíčila rychleji v PAW.

### PAW aktivovaná pomocí DBD výboje

Z Tabulka 10 je patrné, že 3. den pokusu bylo průměrně o 1 vyklíčené semeno v PAW více než v kontrole. 6. den pokusu bylo stále více vyklíčených semen v PAW, ale už pouze o průměrně 0,37 vyklíčených semen.

Tabulka 10: Výsledky experimentu klíčivosti v destilované PAW aktivované pomocí DBD výboje.

Číslo misky	PAW		Kontrola	
	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den
1	8	13,5	6	13
2	9	12	8	11,5
3	5	13,5	6	13
4	6	12	7	12
Průměr	9,3±1,6	12,8±0,8	8,3±0,8	12,4±0,7
G	37	51	33	49,5

Výsledky parametrů klíčivosti v Tabulka 11 značí, že klíčivost (G) byla nepatrně vyšší u PAW. Energie klíčení (GE) je u PAW vyšší o 4 % a rychlost klíčení o 7 %. Relativní rychlost klíčení (RGR) 112,1 % nám říká, že semena klíčily rychleji v PAW.

Tabulka 11: Parametry klíčivosti v destilované PAW vytvořené pomocí DBD výboje.

Typ vzorku	G [%]	GE [%]	GR [%]	RGR [%]
PAW	51	37	67	112,1
Kontrola	49,5	33	60	

Z Tabulka 12 vyplývá, že 3. den pokusu bylo v PAW průměrně o jedno vyklíčené semeno více než v kontrole. 6. den tento počet vyklíčených semen narostl na přibližně 3.

Tabulka 12: Výsledky experimentu klíčivosti v kohoutkové PAW aktivované pomocí DBD výboje

Číslo misky	PAW		Kontrola	
	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den	Počet vyklíčených semen 3. den	Počet vyklíčených semen 6. den
1	13	12,5	6	12
2	4	15	5	7,5
3	8	14,5	7	14
4	8	13,5	7	10
Průměr	7,3±3,2	13,9±0,96	6,3±0,8	10,9±2,4
G	29	55,5	25	43,6

Jak vyplývá z Tabulka 13, parametr klíčivosti (G) vyšel výrazně lépe u vzorku PAW, rozdíl oproti kontrole činil 13 %. Méně výrazný rozdíl byl mezi vzorky u energie klíčení (GE), který činil 4 %. Semena klíčila nepatrně rychleji v PAW, o čemž vypovídá hodnota relativní rychlosti klíčení (RGR) 101,8 %. V PAW vytvořené pomocí DBD výboje je malý podíl dusičnanů, takže proto nebyl naměřen téměř žádný efekt PAW.

Tabulka 13: Parametry klíčivosti v kohoutkové PAW vytvořené pomocí DBD výboje

Typ vzorku	G [%]	GE [%]	GR [%]	RGR [%]
PAW	55,5	29	50,9	101,8
Kontrola	43,5	25	50	

### Porovnání vlivu jednotlivých PAW na parametry klíčivosti

Z Tabulka 14 vyplývá, že PAW s nejméně výrazným vlivem na klíčivost (G) semen kukuřice je příprava pomocí probublávání DBD produktů do vody. Zbylé typy PAW mají vyšší vliv na klíčivost, přičemž nejvýrazněji na klíčivost působí PAW z kohoutkové vody pomocí DBD výboje. U zbylých dvou parametrů má naopak PAW vytvořená probubláváním DBD produktů do vody největší vliv. U energie klíčení (GE) mají porovnávané typy PAW velmi podobné hodnoty, u kohoutkové vody je však vliv PAW vzniklé probubláváním produktů do vody výrazně vyšší a stejně tomu je i u rychlosti klíčení a to u PAW vytvořené z destilované i kohoutkové vody. Z porovnání PAW vytvořených plazmovou tryskou a pomocí DBD výboje si lze povšimnout, že energie klíčení a rychlost klíčení u destilované i kohoutkové PAW je takřka stejná.

Tabulka 14: Porovnání vlivu jednotlivých PAW na klíčivost (G), energii klíčení (GE) a rychlost klíčení (GR) kukuřičných semen, kde DV – destilovaná voda a KV – kohoutková voda.

Typ PAW	G [%]		GE [%]		GR [%]	
	DV	KV	DV	KV	DV	KV
DBD probublávání	46	51,5	35	44	76,1	77,4
Kontrola	54	42	42	26	76,4	65
Plazmová tryska	54	52,5	37	29	66,1	50,9
Kontrola	57	50,5	33	25	55,8	45,5
DBD výboj	51	55,5	37	29	67	50,9
Kontrola	49,5	43,5	33	25	60	50

### 4.3 Vliv PAW na růst kořínků kukuřice

Zpracovávaný soubor pro určení vlivu PAW na kořínky kukuřice činil 25 semen pro každý typ PAW a její kontrolu. Byla změřena délka všech vyklíčených kořínků v souboru a byla vypočítána průměrná délka kořínku v jednotlivých roztocích. V případě že ze semene kukuřice vyklíčilo více kořínků, tak byla brána délka toho nejdelšího.

Tabulka 15: Experimentálně naměřená data udávající vliv PAW na růst kořínku.

Plazmový systém	Aktivovaná voda	Délka kořínku [cm]		I [%]	Stimulace/inhibice
		PAW	Kontrola		
Proublávání produktů DBD do vody	Destilovaná	10±4	12±4	16,6	inhibice
	Kohoutková	6±3	7±2	5,8	inhibice
Plazmová tryska ve vodě	Destilovaná	6±5	6±4	-2,7	stimulace
	Kohoutková	7±3	4,8±4,05	-41	stimulace
DBD výboj nad hladinou vody	Destilovaná	8±4	5±3	-53,1	stimulace
	Kohoutková	7±4	9±5	28,6	inhibice

Z Tabulka 15 je patrné, že nejpříznivější vliv na stimulaci kořínků PAW má destilovaná voda aktivovaná pomocí DBD výboje. Rozdíl průměrné délky kořínků mezi PAW a její kontrolou činí 2,83 cm a hodnota I signalizující míru stimulace/inhibice je -53,06 %, což udává výraznou stimulaci kořínků pomocí této PAW. Naproti tomu stejným způsobem aktivovaná PAW z kohoutkové vody měla nejvýraznější inhibiční efekt (I=28,55 %). V kontrole vyklíčila semena s průměrně o 2,63 cm delším kořínkem než v PAW.

PAW aktivovaná pomocí plazmové trysky má jako jediná stimulační efekt v destilované i kohoutkové formě. V destilované formě byl rozdíl průměrné délky kořínku jen o 0,2 cm větší v PAW a hodnota I je rovna -2,69 %, což udává malou míru stimulace. Naopak u PAW vytvořené z kohoutkové vody byl zjištěn výrazný stimulační efekt, rozdíl průměrné délky kořínků mezi kontrolou a PAW byl 1,91 cm.

U obou PAW aktivovaných pomocí probublávání DBD produktů do vody byl zjištěn inhibiční efekt na růst kořínků. Silnější inhibice kořínků byla naměřena u PAW vytvořené z destilované vody, kde hodnota I byla 16,55 % a kořínky v kontrole byly průměrně o 2 cm delší než v PAW. Menší inhibiční vliv má na růst kořínků PAW z kohoutkové vody. Průměrná délka kořínků semen ošetřených kontrolním vzorkem byl větší o 0,4 cm a hodnota I byla 5,83 %.

Největší průměrné délky dosahovaly poměrně výrazně kořínky semen ošetřených pomocí PAW destilované vody aktivované probubláváním DBD produktů do vody. Výrazně větší hodnota průměrné délky byla naměřena také u kořínků semen ošetřených PAW z destilované vody připravené pomocí DBD výboje. Průměrné délky kořínků zbylých PAW systémů byly podobné a pohybovaly se okolo 6,5 cm.

#### 4.4 Vliv PAW na růst stonku kukuřice

Měření vlivu PAW na růst stonků semen kukuřice probíhalo stejně jako u měření kořínků, kdy u 25 semen byla kromě délky kořínku změřena i délka stonku a ze získaných hodnot byla určena průměrná délka.

Tabulka 16: Experimentálně naměřená data udávající vliv PAW na růst stonků kukuřice.

Plazmový systém	Aktivovaná voda	Délka stonku [cm]		I [%]	Stimulace/inhibice
		PAW	Kontrola		
Proublávání produktů DBD do vody	Destilovaná	7±4	5,4±1,4	-31,8	Stimulace
	Kohoutková	4,4±2,7	4±3	-15,6	Stimulace
Plazmová tryska ve vodě	Destilovaná	3,7±1,9	5±2	18,7	Inhibice
	Kohoutková	4,8±1,7	4±2	-35	Stimulace
DBD výboj nad hladinou vody	Destilovaná	5,6±1,8	4,1±1,8	-34,8	Stimulace
	Kohoutková	4±2	5,1±1,8	16,1	Inhibice

Z Tabulka 16 vyplývá, že největší stimulační efekt byl zjištěn u PAW vytvořené z kohoutkové vody pomocí plazmové trysky a u PAW připravené z destilované vody pomocí DBD výboje. U těchto vzorků určena hodnota I těsně pod -35 % a průměrná délka stonku byla v PAW přibližně o 1,8 cm větší než v kontrole. Stimulační vliv PAW na stonky byl zjištěn u PAW připravených pomocí probublávání DBD produktů do vody, přičemž výraznější byl u PAW z destilované vody ( $I=-31,84\%$ ). Inhibiční vliv na růst stonku byl prokázán u PAW kohoutkové vody aktivované pomocí DBD výboje a u PAW destilované vody aktivované plazmovou tryskou. Nejdelší průměrný stonek vyklíčil v PAW připravené z destilované vody připravené probubláváním DBD produktů do vody s průměrnou délkou stonku 7 cm. Stonek semene ošetřeného pomocí PAW z kohoutkové vody připravené pomocí DBD výboje dosahoval průměrné délky 5,6 cm a byl druhý nejdelší. Naopak nejkratší stonek vznikl v PAW vytvořené z destilované vody pomocí plazmové trysky.

## 4.5 Statistické vyhodnocení

K statistickému vyhodnocení byl zvolen nepárový t-test, který proběhl pomocí programu Excel 2013. Nepárový t-test určuje, jestli je rozdíl mezi dvojicí dat statisticky významný.

*Tabulka 17: Výstupní hodnoty P nepárového t-testu pro porovnání délky stonků a kořínků PAW a její kontroly.*

p-value	Destilovaná voda		Kohoutková voda	
	Kořínky	Stonky	kořínky	stonky
PAW aktivovaná pomocí plazmové trysky	0,93	0,31	0,17	0,14
PAW aktivovaná probubláváním DBD produktů do vody	0,52	0,04	0,76	0,64
PAW aktivovaná pomocí DBD výboje	0,02	0,02	0,14	0,34

Výstupní hodnotou nepárového t-testu je hodnota p, která charakterizuje pravděpodobnost, že naměřené hodnoty jsou náhodné. V našem případě se jedná o délku kořínku/stonku semene ošetřeného pomocí PAW a délku kořínku/stonku semene ošetřeného kontrolním vzorkem. Pokud platí  $p < 0,05$  (5 %), tak hodnoty nejsou náhodné a rozdíl je statisticky významný. V opačném případě jsou dvojice dat náhodné a význam statisticky významný není. Z tabulky 17 je zřejmé, že hodnota vyšla pod zmíněných 0,05 pouze v případě délky kořínků i stonků u PAW připravené z destilované vody pomocí DBD výboje. Pro relevantní vyhodnocení by bylo třeba zopakovat experimenty s první dvěma plazmovými systémy pro přípravu PAW a nejlépe i s širším statistickým souborem.

## 5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo připravit plazmatem aktivovanou vodu (PAW), aplikovat jí na semena kukuřice a studovat její vliv na klíčivost a kvalitu rostliny. V minulosti již proběhla řada podobných pokusů, kde byla PAW aplikována nejen na semena, ale i například na listy kukuřice a v mnohých případech se podařilo potvrdit pozitivní vliv této kapaliny na klíčení a růst rostliny [50, 51]. Tyto pokusy však proběhly s PAW připravenou pomocí různých plazmových systémů a kapalina tak obsahovala odlišné množství aktivních složek než při našem experimentu. Mimo kukuřici byl již relativní pozitivní vliv PAW na klíčivost rostlin prokázán například u ředkviček, rajčat či pampelišek lékařských [52, 53]. Testování vlivu PAW na klíčivost semen proběhlo pomocí stanovení parametrů klíčivosti. Byla vyhodnocována klíčivost (G), energie klíčení (GE), rychlost klíčení (GR). Všechny parametry byly stanoveny i pro jednotlivé kontroly roztoků. Z poměru rychlosti klíčení PAW a její kontroly byla určena relativní rychlost klíčení (RGR). Z porovnání vlivu PAW vycházelo i vyhodnocení kvality rostliny, která byla posuzována pomocí průměrné délky kořínků a stonků. Pomocí jejich délky byl poté určen stimulační, případně inhibiční efekt PAW.

Plazmatem aktivovaná voda byla připravena z destilované a kohoutkové vody pomocí tří různých plazmových systémů a výsledky jednotlivých parametrů klíčivosti byly porovnávány s výsledky kontrol. U přípravy v systému využívající probublávání produktů do vody byl zjištěn výrazný pozitivní vliv PAW na všechny parametry klíčivosti. Naopak u PAW vytvořené z destilované vody byl naměřen výrazný negativní vliv na klíčivost a energii klíčení. V systému aktivující vodu pomocí plazmové trysky byl zaznamenán podobný rozdíl v efektu PAW vytvořené z destilované a kohoutkové vody. U kohoutkové PAW byl stanoven pozitivní vliv na klíčivost, nicméně u PAW vytvořené z destilované vody byl tento efekt opět negativní. U všech zbylých parametrů byl však prokázán výrazný pozitivní vliv a to destilované i kohoutkové PAW. Jako jediný systém na přípravu PAW, který se v našem experimentu prokázal jako "spolehlivý", je ten využívající DBD výboje. Pozitivní vliv na parametry klíčivosti byl totiž prokázán u PAW připravené DBD výbojem z destilované a kohoutkové vody. Obecně lze na základě našeho experimentu potvrdit prokazatelně příznivý vliv PAW vytvořené z kohoutkové vody ve všech třech systémech. Naopak u PAW připravené z destilované vody již pozitivní vliv na parametry klíčivosti není jednoznačný. Z tohoto výstupu měření lze vyzorovat příznivý vliv dusičnanových iontů na klíčivost, jelikož kohoutková voda, která vystupovala jako jedna z výchozích látek v přípravě, obsahovala značné množství dusičnanů již před přípravou, a to se promítlo na celkovém koncentraci dusičnanů v PAW. Při porovnání jednotlivých PAW byla zjištěna nejnížší klíčivost PAW vytvořené v systému pomocí probublávání produktů do vody. To je pravděpodobně způsobeno pouze velmi nízkou koncentrací peroxidu vodíku, kterého zde vzniklo oproti zbylým systémům pouze minimum. Peroxid vodíku v přiměřených koncentracích působí jako signální molekula stimulující klíčení. Ve vyšších koncentracích však může působit toxicky na rostlinné buňky. Pozitivní vliv peroxidu vodíku na zbylé parametry klíčivosti nebyl potvrzen, jelikož data charakterizující energii a rychlost klíčení ve zbylých dvou systémech vyšla, v porovnání s PAW připravené probubláváním produktů do vody, nižší. Z experimentu zabývajícím se vlivem PAW na kvalitu rostlin nebyl potvrzen jednoznačný pozitivní či negativní vliv. Z průměrných hodnot délky kořínku byl určen inhibiční vliv u obou PAW připravených pomocí probublávání produktů do vody a u PAW připravené z kohoutkové vody pomocí DBD výboje. U druhého zmíněného způsobu může být negativní efekt na růst kořínků způsoben přílišnou koncentrací dusičnanových iontů, které v přílišných koncentracích mohou narušovat důležité enzymatické procesy a energetický metabolismus rostlinných buněk. Inhibiční efekt u PAW připravených probubláváním produktů, poukazuje na možný pozitivní efekt peroxidu vodíku u kvality rostlin, jelikož u zbylých PAW obsahujících výrazně vyšší množství peroxidu byl zjištěn stimulační efekt. Z průměrných délek stonků byl určen inhibiční efekt PAW na jejich růst u PAW vytvořené z destilované vody pomocí plazmové trysky a u PAW z kohoutkové vody připravené pomocí DBD

výboje. Tyto dva systémy PAW mají společnou poměrně vysokou koncentraci dusitanových iontů oproti zbylým PAW. Tento fakt poukazuje na možný negativní efekt dusitanových iontů na růst stonků semen kukuřice.

Z veškerých získaných dat popisující parametry klíčivosti semen a kvalitu rostliny nelze jasně vybrat určitou PAW, která by měla výrazně lepší vliv na semena než ostatní kapaliny. Výhodně se jeví k ošetření semen PAW připravená z destilované vody pomocí DBD výboje, u které byl stanoven výrazný pozitivní vliv na stimulaci kořínků a stonků či PAW připravená z destilované vody pomocí plazmové trysky, u které byly naměřeny nejvyšší parametry klíčivosti a energie klíčení, zároveň u ní byl ale zjištěn inhibiční efekt na růst stonku a pouze nevýrazný stimulační efekt růstu kořínku. Obecně lze z provedeného experimentu potvrdit určitý pozitivní vliv většiny připravených PAW na parametry klíčení semen a kvalitu kukuřice. K dosažení silnějšího výsledku by bylo zapotřebí experiment provést s rozsáhlejším souborem a v různých prostředích, kde by semena klíčila v odlišných podmínkách např. v půdě, což potvrzuje i statistické vyhodnocení, které potvrdilo významnost pouze u systému DBD výboje.

Závěrem lze říci, že ačkoliv příznivý vliv PAW na klíčivost semen kukuřice byl prokázán pouze v menší míře, v použití plazmatem aktivované vody se v zemědělském sektoru do budoucna skrývá velký potenciál a v budoucnosti by mohla nahradit syntetická hnojiva a pesticidy. Pro komerční využívání se jako problém jeví větší cena nákladů na přípravu, ale tento fakt je kompenzován ekologickou bezúhonností PAW.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] GIBBON, Paul. Introduction to Plasma Physics. *CAS - CERN Accelerator School* [online]. 2020, 2019(7), 1-7 [cit. 2022-11-18]. Dostupné z: <https://arxiv.org/pdf/2007.04783.pdf>
- [2] GOLDSTON, Robert J a Paul H RUTHERFORD, 1997. Introduction to plasma physics. 2. dopl. vyd. Bristol: *Institute of Physics Publishing*, 491 s. + 2 diskety. ISBN 0-7503-0183-X
- [3] POMEROY, Jama. Plasma Physics & its Applications. 2012. Delhi: *World Technologies*, 2014. ISBN 9788132310464.
- [4] ZHOU, Renwu, Rusen ZHOU, Peiyu WANG, et al. Plasma-activated water: generation, origin of reactive species and biological applications. *Journal of Physics D: Applied Physics* [online]. 2020, 53(30) [cit. 2022-12-07]. ISSN 0022-3727. Dostupné z: doi:10.1088/1361-6463/ab81cf
- [5] KUTASI, Kinga, Dean POPOVIĆ, Nikša KRSTULOVIĆ a Slobodan MILOŠEVIĆ. Tuning the composition of plasma-activated water by a surface-wave microwave discharge and a kHz plasma jet. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2019, 28(9), 1-3 [cit. 2022-11-20]. ISSN 1361-6595. Dostupné z: doi:10.1088/1361-6595/ab3c2f
- [6] SHASHURIN, A. a M. KEIDAR. Experimental approaches for studying non-equilibrium atmospheric plasma jets. *Physics of Plasmas* 22, 122002, 2015. DOI: 10.1063/1.4933365.
- [7] LIANG, Jian-Ping, Zi-Lu ZHAO, Xiong-Feng ZHOU, De-Zheng YANG, Hao YUAN, Wen-Chun WANG a Jun-Jie QIAO. Comparison of gas phase discharge and gas-liquid discharge for water activation and methylene blue degradation: physicochemical aspects. *Vacuum* [online]. 2020, 181(1), 21-31 [cit. 2022-12-22]. ISSN 0042207X. Dostupné z: doi:10.1016/j.vacuum.2020.109644
- [8] LOCKE, Bruce R., Selma Mededovic THAGARD, Xiong-Feng ZHOU, De-Zheng YANG, Hao YUAN, Wen-Chun WANG a Jun-Jie QIAO. Analysis and Review of Chemical Reactions and Transport Processes in Pulsed Electrical Discharge Plasma Formed Directly in Liquid Water: physicochemical aspects. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* [online]. 2012, 32(5), 875-917 [cit. 2022-12-22]. ISSN 0272-4324. Dostupné z: doi:10.1007/s11090-012-9403-y
- [9] BRUGGEMAN, P J, M J KUSHNER, B R LOCKE, et al. Plasma-liquid interactions: a review and roadmap. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2016, 25(5) [cit. 2022-12-25]. ISSN 1361-6595. Dostupné z: doi:10.1088/0963-0252/25/5/053002
- [10] ARTEM'EV, Konstantin, Leonid KOLIK, Leonid PODKOVYROV, Sergey SEVOSTYANOV, Vladimir KOSOLAPOV, Valeriy MESHALKIN a Maksim DIULDIN. Generation of plasma-activated water using a direct piezo-discharge: physicochemical aspects. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* [online]. 2019, 390(1), 21-31 [cit. 2022-12-22]. ISSN 1755-1307. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/390/1/012039
- [11] XU, Xueji. Dielectric barrier discharge — properties and applications. *Thin Solid Films*. 2001, 390(1-2), 237-242. ISSN 00406090. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-6090(01)00956-7

- [12] CONRAD, H a M SCHMIDT. Plasma generation and plasma sources. *Plasma Sources Science and Technology*. 2000, 9(4), 441-454. ISSN 0963-0252. Dostupné z: doi:10.1088/0963-0252/9/4/301
- [13] MAI-PROCHNOW, Anne, Renwu ZHOU, Tianqi ZHANG, Kostya OSTRIKOV, Sudarsan MUGUNTHAN, Scott A. RICE a Patrick J. CULLEN. Interactions of plasma-activated water with biofilms: inactivation, dispersal effects and mechanisms of action. *Npj Biofilms and Microbiomes* [online]. 2021, 7(1) [cit. 2022-12-25]. ISSN 2055-5008. Dostupné z: doi:10.1038/s41522-020-00180-6
- [14] 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 [online]. 2018, 77, 21-31 [cit. 2022-12-22]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2018.05.007
- [15] ZHAO, Yi-Ming, et al. 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*, 2020, 19.6: 3951-3979.
- [16] PEMEN, A. J. M., P. P. VAN OOIJ, F. J. C. M. BECKERS, W. F. L. M. HOEBEN, A. M. C. B. KOONEN-REEMST, T. HUISKAMP a P. H. M. LEENDERS. Power Modulator for High-Yield Production of Plasma-Activated Water. *IEEE Transactions on Plasma Science* [online]. 2017, 45(10), 2725-2733 [cit. 2022-12-27]. ISSN 0093-3813. Dostupné z: doi:10.1109/TPS.2017.2739484
- [17] SHAINSKY, Natalie, Danil DOBRYNIN, Utku ERCAN, et al. Retraction: Plasma Acid. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2012, 9(6), 2725-2733 [cit. 2022-12-27]. ISSN 16128850. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.201100084
- [18] MCPHERSON, Lori L. Understanding ORP's role in the disinfection process. Water engineering & management [online]. *Des Plaines: Scranton Gillette Communications, Incorporated*, 1993, 140(11), 29-31 [cit. 2022-12-28]. ISSN 0273-2238. Dostupné z: <https://www.proquest.com/docview/214946064?pq-origsite=primo>
- [19] 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 [cit. 2022-12-28]. ISSN 16128850. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.201400082
- [20] OH, Jun-Seok, Endre J. SZILI, Kotaro OGAWA, Robert D. SHORT, Masafumi ITO, Hiroshi FURUTA a Akimitsu HATTA. UV-vis spectroscopy study of plasma-activated water: Dependence of the chemical composition on plasma exposure time and treatment distance. *Japanese Journal of Applied Physics* [online]. 2018, 57(1) [cit. 2022-12-28]. ISSN 0021-4922. Dostupné z: doi:10.7567/JJAP.57.0102B9
- [21] ZHOU, Renwu, et al. Plasma-activated water: generation, origin of reactive species and biological applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2020, 53.30: 303001.
- [22] RENWU, Zhou, 2020. Plasma-activated water: generation, origin of reactive species and biological applications. *Journal of Physics D: Applied Physics* [online]. [cit. 2021-5-9]. Dostupné z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6463/ab81cf>.

- [23] KIRKPATRICK, Michael J. a Bruce R. LOCKE. *Hydrogen, Oxygen, and Hydrogen Peroxide Formation in Aqueous Phase Pulsed Corona Electrical Discharge* [online]. 2005, 44(12), 4243-4248 [cit. 2022-12-29]. ISSN 0888-5885. Dostupné z: doi:10.1021/ie048807d
- [24] SAHEL, K., L. ELSELLAMI, I. MIRALI, F. DAPPOZZE, M. BOUHENT a C. GUILLARD. Hydrogen peroxide and photocatalysis. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2016, 188, 106-112 [cit. 2022-12-29]. ISSN 09263373. Dostupné z: doi:10.1016/j.apcatb.2015.12.044
- [25] KOZÁKOVÁ, Zdenka. Study of chemical processes in electrical discharges in liquids: Studium chemických procesů v elektrických výbojích v kapalinách : short version of Ph.D. Thesis. [V Brně: Vysoké učení technické], c2006. ISBN isbn80-214-3224-1.
- [26] TRAYLOR, Matthew J, Matthew J PAVLOVICH, Sharmin KARIM, Pritha HAIT, Yukinori SAKIYAMA, Douglas S CLARK a David B GRAVES. Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water. *Journal of Physics D: Applied Physics* [online]. 2011, 44(47) [cit. 2023-01-19]. ISSN 0022-3727. Dostupné z: doi:10.1088/0022-3727/44/47/472001
- [27] MORAVSKÝ, Ladislav, Peter TROŠKA, Matej KLAS, Marián MASÁR, Štefan MATEJČÍK, Douglas S CLARK a David B GRAVES. Determination of nitrites and nitrates in plasma-activated deionized water by microchip capillary electrophoresis. *Contributions to Plasma Physics* [online]. 2020, 60(7) [cit. 2023-01-19]. ISSN 08631042. Dostupné z: doi:10.1002/ctpp.202000014
- [28] VERONICO, Valeria, Pietro FAVIA, Francesco FRACASSI, Roberto GRISTINA a Eloisa SARDELLA. Validation of colorimetric assays for hydrogen peroxide, nitrate and nitrite ions in complex plasma-treated water solutions. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2021, 18(10) [cit. 2023-01-20]. ISSN 1612-8850. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.202100062
- [29] GUO, Dingmeng, Hongxia LIU, Lei ZHOU, Jinzhuo XIE a Chi HE. Plasma-activated water production and its application in agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2021, 101(12), 4891-4899 [cit. 2023-01-20]. ISSN 0022-5142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.11258
- [30] SUBRAMANIAN, P. S. Ganesh, Aditi JAIN, Anand M. SHIVAPUJI, Nagalingam R. SUNDARESAN, Srinivasaiiah DASAPPA a Lakshminarayana RAO. Plasma-activated water from a dielectric barrier discharge plasma source for the selective treatment of cancer cells. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2020, 17(8) [cit. 2023-01-23]. ISSN 1612-8850. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.201900260
- [31] MOŽÍŠOVÁ, Aneta. *Plazmatem aktivovaná voda připravená elektrickým výbojem v kapalině*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2020.
- [32] Types of Seed Germination - Epigeal vs Hypogeal. In: *PLANTSCIENCE4U* [online]. [cit. 2023-01-25]. Dostupné z: <https://www.plantscience4u.com/2014/08/types-of-seed-germination-epigeal-and.html>
- [33] PENFIELD, Steven. Seed dormancy and germination. *Current Biology* [online]. 2017, 27(17), R874-R878 [cit. 2022-11-29]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2017.05.050

- [34] NONOGAKI, Hiroyuki, George W. BASSEL a J. Derek BEWLEY. Germination—Still a mystery. *Plant Science* [online]. 2010, 179(6), 574-581 [cit. 2022-11-29]. ISSN 01689452. Dostupné z: doi:10.1016/j.plantsci.2010.02.010
- [35] KONDO, Tetsuya, Mizuki NARITA, Shyam S. PHARTYAL, Siti N. HIDAYATI, Jeffrey L. WALCK, Jerry M. BASKIN a Carol C. BASKIN. Morphophysiological dormancy in seeds of *Convallaria keiskei* and a proposal to recognize two types of double dormancy in seed dormancy classification. In: *Seed Science Research* [online]. 2015, s. 210-220 [cit. 2023-01-25]. ISSN 0960-2585. Dostupné z: doi:10.1017/S0960258515000136
- [36] SIEGEL, S. M., L. A. ROSEN, Masatsugu SAKAMOTO, et al. Effects of Reduced Oxygen Tension on Germination and Seedling Growth. *Physiologia Plantarum* [online]. 1962, 15(3), 437-444 [cit. 2023-01-26]. ISSN 0031-9317. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08047.x
- [37] GAY, C., F. CORBINEAU, D. CÔME, et al. Effects of temperature and oxygen on seed germination and seedling growth in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Environmental and Experimental Botany* [online]. 1991, 31(2), 193-200 [cit. 2023-01-26]. ISSN 00988472. Dostupné z: doi:10.1016/0098-8472(91)90070-5
- [38] MONEMIZADEH, Zahra, Farshid GHADERI-FAR, Hamid R. SADEGHIPOUR, et al. Variation in seed dormancy and germination among populations of *Silybum marianum* (Asteraceae). *Plant Species Biology* [online]. 2021, 36(3), 412-424 [cit. 2023-01-26]. ISSN 0913-557X. Dostupné z: doi:10.1111/1442-1984.12326
- [39] FEARN, Tom. Paired and Two-Sample t -tests. *NIR news*. 2010, 21(8), 19-20. ISSN 0960-3360. Dostupné z: doi:10.1255/nirn.1218
- [40] TAI, Kah Yee, Jasbir DHALIWAL a Vinod BALASUBRAMANIAM. Leveraging Mann–Whitney U test on large-scale genetic variation data for analysing malaria genetic markers. *Malaria Journal* [online]. 2022, 21(1) [cit. 2023-04-08]. ISSN 1475-2875. Dostupné z: doi:10.1186/s12936-022-04104-x
- [41] STEIN, Lisa Y. a Martin G. KLOTZ. The nitrogen cycle. In: *Current Biology* [online]. 2016, R94-R98 [cit. 2023-04-10]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2015.12.021
- [42] Nitrogen cycle. In: *Unacademy* [online]. Indie: © 2023 Sorting Hat Technologies Pvt, 2023 [cit. 2023-04-10]. Dostupné z: <https://unacademy.com/content/neet-ug/study-material/chemistry/what-is-nitrogen-cycle/>
- [43] LI, Tingyu, Weifeng ZHANG, Jiao YIN, et al. Enhanced-efficiency fertilizers are not a panacea for resolving the nitrogen problem. *Global Change Biology* [online]. 2017, 24(2), e511-e521 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1354-1013. Dostupné z: doi:10.1111/gcb.13918
- [44] CRUM, Dennis. Solve My Fertilizer Problem. *Greenhouse Grower* [online]. Willoughby: Meister Media Worldwide, 2019, 37(1), 46-48 [cit. 2023-04-11]. ISSN 0745-7324. Dostupné z: <https://www.proquest.com/docview/2190341832/fulltextPDF/9B588CF28CDA4F14PQ/1?accountid=17115>
- [45] KRČMA, F.; Vysoké učení technické v Brně: Systém trysky pro generování plazmatu v kapalinách. 305304, patent. (2015)

- [46] KRČMA, F.; Vysoké učení technické v Brně: Method for plasma generation in liquids using jet system. EP3122161B1, patent. (2019)
- [47] ČECHOVÁ, L., F. KRČMA, M. KALINA, O. MAN a Z. KOZÁKOVÁ. Preparation of silver and gold nanoparticles by the pinhole DC plasma system. *Journal of Applied Physics* [online]. 2021, 129(23) [cit. 2023-04-13]. ISSN 0021-8979. Dostupné z: doi:10.1063/5.0044054
- [48] KLÍČIVOST SEMEN JAKO BĚŽNÝ TEST V BOTANICKÉM POZOROVÁNÍ, ŠLECHTĚNÍ A EXPERIMENTECH. In: *Příspěvky v problematice zemědělského pokusnictví* [online]. Praha: Powerprint, Leden 2014, s. 9-16 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/282014109\\_Klicivost\\_jako\\_bezny\\_test\\_v\\_botanicke\\_m\\_pozorovani\\_slechtenti\\_a\\_experimentech](https://www.researchgate.net/publication/282014109_Klicivost_jako_bezny_test_v_botanicke_m_pozorovani_slechtenti_a_experimentech)
- [49] ISO 17126:2005. Soil quality – *Determination of the effects of pollutants on soil flora – Screening test for emergence of lettuce seedlings (Lactuca sativa)*.
- [50] ŠKARPA, Petr, Daniel KLOFÁČ, František KRČMA, Jana ŠIMEČKOVÁ, Zdenka KOZÁKOVÁ, Detlef KNAPPE, William FONTENO a Steven SHANNON. Effect of Plasma Activated Water Foliar Application on Selected Growth Parameters of Maize (*Zea mays* L.). *Water* [online]. 2020, 12(12), 1271-1290 [cit. 2023-05-04]. ISSN 2073-4441. Dostupné z: doi:10.3390/w12123545
- [51] NDIFFO YEMELI, Gervais B., Renáta ŠVUBOVÁ, Dominik KOSTOLANI, Stanislav KYZEK, Zdenko MACHALA, Detlef KNAPPE, William FONTENO a Steven SHANNON. The effect of water activated by nonthermal air plasma on the growth of farm plants: Case of maize and barley. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2021, 18(1), 1271-1290 [cit. 2023-05-04]. ISSN 1612-8850. Dostupné z: doi:10.1002/ppap.202000205
- [52] LINDSAY, Alex, Brandon BYRNS, Wesley KING, Asish ANDHVARAPOU, Jeb FIELDS, Detlef KNAPPE, William FONTENO a Steven SHANNON. Fertilization of Radishes, Tomatoes, and Marigolds Using a Large-Volume Atmospheric Glow Discharge. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* [online]. 2014, 34(6), 1271-1290 [cit. 2023-05-04]. ISSN 0272-4324. Dostupné z: doi:10.1007/s11090-014-9573-x
- [53] GURAGAIN, Rajesh Prakash, Hom Bahadur BANIYA, Suman Prakash PRADHAN, Bishnu Prasad PANDEY a Deepak Prasad SUBEDI. Influence of plasma-activated water (PAW) on the germination of radish, fenugreek, and pea seeds. *AIP Advances* [online]. 2021, 11(12) [cit. 2023-05-04]. ISSN 2158-3226. Dostupné z: doi:10.1063/5.0070800

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

$A$	Absorbance	
$c$	Koncentrace vzorku	
CAP	Studené atmosférické plazma	<i>(Cold atmospheric plasma)</i>
DBD	Dielektrický bariérový výboj	<i>(Dielectric barrier discharge)</i>
$\varepsilon$	Molární absorpční koeficient	
$E_0$	Redoxní potenciál	
$G$	Klíčivost semen	
$GE$	Energie klíčení	
$G_f$	Průměrný počet vyklíčených semen	
$GR$	Rychlost klíčení	
$GR_K$	Rychlost klíčení vzorků kontroly	
$GR_{PAW}$	Rychlost klíčení vzorků ošetřených PAW	
$G_t$	Počet vyklíčených semen v 3. den pokusu	
$I$	Charakteristika inhibice/stimulace	
$\kappa$	Konduktivita	
$l$	Délka vodiče	
$l_l$	délka květy	
$L_c$	Průměrná délka kořene/stonku kontroly	
$L_v$	Průměrná délka kořene/stonku vzorků ošetřených PAW	
$\lambda$	Vlnová délka	
PAW	Plazmatem aktivovaná voda	<i>(Plasma activated water)</i>
ORP	Oxidačně redukční potenciál	<i>(Oxidation-reduction potential)</i>
$R$	Odpor vodiče	
RGR	Relativní rychlost klíčení	
RNS	Reaktivní částice dusíku	<i>(Reactive nitrogen species)</i>
RONs	Reaktivní částice kyslíku a dusíku	<i>(Reactive oxygen and nitrogen species)</i>
ROS	Reaktivní částice kyslíku	<i>(Reactive oxygen species)</i>
$s$	Průřez vodiče	
$S$	Celkový počet semen	