

ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP)
»ZAGOTOVIMO.SI HRANO ZA JUTRI« 2011 – 2020«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Šifra projekta:

V4-2001

2. 1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Možnost izboljšanja produktivnosti in zmanjšanja odvisnosti od uporabe kemičnih fungicidov v kmetijstvu z uporabo plinske plazme

2.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Use of gaseous plasma for higher yields and lower use of antifungal agents in agriculture

3. Ključne besede projekta

3.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

Plazma v kmetijstvu, dekontaminacija, glive, mikotoksini, plinska plazma, obdelava površin

3.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

Plasma agriculture, decontamination, fungi, mycotoxins, gaseous plasma, surface treatment

4. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

28480 Ita Junkar

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Inštitut »Jožef Stefan«

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

Kmetijski Inštitut Slovenije

Interkorn d.o.o

6. Raziskovalno področje po šifrantu ARRS¹:

4- Biotehnika

4.03 Rastlinska produkcija in predelava

4.03.06 Kmetijska tehnika

7. Raziskovalno področje po šifrantu FOS²:

4- Kmetijske vede

4.01 Kmetijstvo, gozdarstvo in ribištvo

8. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano ter ARIS

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi? (v izbran kvadratik vtisni črko x)

☒ a) v celoti

☐ b) delno

☐ c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

☐ a) da

☒ b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

¹ Spletni naslov šifrantu ARRS: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-vpp.asp>

² Spletni naslov šifrantu FOS: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/klasif-znan-FOS.asp>

2. Izvleček vsebinskega poročila o realizaciji predloženega programa dela ³:

Fungicidi se v konvencionalnem kmetijstvu večinoma uporabljajo za zaščito rastlin med rastno dobo, manjša količina pa se jih tudi uporablja za razkuževanje in zaščito semen. V ekološkem kmetijstvu je nabor dovoljenih snovi z razkužilnim in/ali fungicidnim učinkom bistveno bolj omejen. Raziskave in tudi praktične izkušnje kažejo, da je zaradi tega ekološki semenski material pogosto bolj onesnažen. Ker se s semeni prenašajo skoraj vse pomembnejše glivične bolezni, nekatere bakterije in virusi ter tudi nekatere nematode, je razkuževanje med najpomembnejšimi ukrepi pri pridelavi poljščin in zelenjadnic.

Uporaba fungicidov in drugih razkužil predstavlja določeno tveganje za okolje, uporabnika sredstev in tudi potrošnika. Uporabo in s tem povezano tveganje je mogoče zmanjšati z alternativnimi tehnikami zaščite rastlin v vseh fazah razvoja od semen do pakiranega pridelka v živilskih trgovinah. Znale so različne rešitve od uporabe bioloških reagentov do fizikalnega obsevanja. Večina teh rešitev ni splošno uporabna zaradi stranskih učinkov, visoke cene ali pa preprosto zaradi negativnega odnosa javnosti do inovacij v kmetijstvu. Prav slednje ni zanemarljivo, saj imamo bogate (večinoma negativne) izkušnje pri uvajanju inovacij, na primer v energetiki (negativen prizvok vsega, kar je povezano z jedrskimi tehnologijami, odklonilen odnos do vetrnih elektrarn, zanemarljiva uporaba sončnih virov itd).

Med najnovejše metode z nizkim tveganjem, ki nakazujejo dejanski potencial zmanjšanja uporabe FFS v kmetijstvu, spada obdelava z nizkotemperaturno plinsko plazmo.

Končni cilj predlaganega projekta je bila kritična presoja o možnostih za izboljšanje produktivnosti in zmanjšanje odvisnosti od uporabe fungicidov v slovenskem kmetijstvu in prehranski industriji z uporabo plinske plazme. Specifični cilji projekta so bili:

- 1.) Izvesti kritični pregled obstoječe literature glede uporabe plinske plazme v kmetijstvu
- 2.) Preučiti potencial razkuževanja ekološkega in konvencionalnega semenskega materiala izbranih poljščin in zelenjadnic z uporabo plinske plazme
- 3.) Preučiti potencial zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov v žitih z uporabo plinske plazme
- 4.) Preučiti vpliv na skladiščne sposobnosti ter ohranjanje kakovosti izbranih zelenjadnic in jagodičja z uporabo plinske plazme
- 5.) Preučiti morebiten vpliv uporabe plinske plazme na razvoj rastlin

³ Na tem mestu je potrebno napisati izvleček vsebinskega raziskovalnega poročila -študije, ki je obvezen element tega obrazca (Priloga 1). V izvlečku mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

6.) Pripraviti smernice za optimizacijo parametrov plazemske obdelave semena in izbranih pridelkov

Uspešna izvedba projekta je omogočila pregled učinkovitosti uporabe plazemskih tehnologij v določene segmente slovenskega kmetijstva. Raziskali smo možnost uporabe na segmentih, kjer se trenutno kaže največja potreba po izboljšani produktivnosti in zmanjšani uporabi aktivnih snovi pri pridelavi hrane. Izvedli smo kritičen pregled obstoječe literature in na tej tematiki objavili en pregledni članek na temo vplivov hladne plinske plazme na morfologijo, genetiko in fiziologijo semen (Starič et al., 2020), drugi na temo dekontaminacije pa je še v postopku objave. Iz literature je moč ugotoviti, da raziskovalci uporabljajo različne vrste plazemskih reaktorjev, pogojev obdelave ter različne vrste in sorte semen in poljščin. Prav zaradi tega je jasen pregled o učinkovitosti uporabe plazemskih tehnologij zelo različen, saj smo tudi tekom naših študij ugotovili, da je tako sorta, kot tudi vrsta semen drugače odzivna na enake pogoje plazemske obdelave. Zato smo tekom projekta skušali opraviti sistematični pregled vplivov pogojev plazme na različne vrste in sorte semen.

Preučili smo potencial uporabe plazemskih tehnologij za razkuževanja ekološkega in konvencionalnega semenskega materiala izbranih poljščin in zelenjadnic z uporabo plinske plazme. Tu smo ugotovili, da lahko pri primernih pogojih plazme bistveno zmanjšamo okužbe z glivami, vendar pa se je izkazalo, da je za odstranjevanje potreben daljši čas plazemske obdelave pri večjih močeh plazme, kar vpliva tudi na kaljivost semen. V primeru, da je uporaba plazme za razkuževanje uporabna za krmo živali ali prehrano ljudi je tovrsten način še vedno lahko sprejemljiv. Vsekakor pa je potrebno nadalje preučiti tudi prehransko vrednost tako obdelanih živil. Prav tako hrapavost/nagubanost površine lahko bistveno vpliva na odstranjevanje, saj se lahko nekatere glive ali njihove spore še vedno skrivajo v razpokah in gubah, kar omejuje učinkovitost dezinfekcije s plazmo. Študije na jagodičevju so pokazale, da s plazemsko obdelavo lahko odstranimo plesni na jagodah, žal pa je način rokovanja z jagodami pred in po obdelavi v plazemskem reaktorju tudi vplival na njihov čas skladiščenja, ki je bil zaradi premikanja bistveno krajši kot na kontrolnih vzorcih. Podobno je bilo z zelenjadnicami, ki jih zaradi neustreznega atmosferskega plazemskega reaktorja nismo mogli enakomerno obdelati. Smo pa uspeli bistveno zmanjšati okužbe ameriških borovnic s plodovo vinsko mušico, ki povzroča vse večjo škodo tudi v slovenskem kmetijstvu. V tem primeru je potrebna še dodatna optimizacija metode, vsekakor pa se je za zmanjšanje okužb najbolj izkazala nizkotlačna kisikova plazma.

Tretji cilj projekta je bil preučiti potencial zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov v žitih z uporabo plinske plazme. Rezultati naših študij so pokazali, da s površine lahko odstranimo tudi mikotoksine, kar je pomemben doprinos k razvoju plazemskih tehnologij za zmanjšanje vsebnosti mikotoksinov v žitih. Rezultati kažejo potencial uporabe plazemske obdelave zrnja za zmanjšanje vsebnosti analiziranih mikotoksinov na koruzi. Daljši čas obdelave z manjšo močjo se je v našem poskusu izkazal kot učinkovitejši za razgradnjo mikotoksinov kot obdelava z večjo močjo za krajši čas. Pri obdelavi z manjšo močjo smo opazili tudi manj učinkov na zrnje, predvsem manjši toplotni vpliv na zrnje koruze. Rezultati kažejo, da je z raziskavami smiselno nadaljevati in optimizirati parametre za skrajšanje obdelovalnih časov in za izboljšanje učinkovitosti razgradnje. Prav tako je smiselno preučiti razpadne produkte mikotoksinov po obdelavi s plazmo in njihove toksičnosti.

Četrty cilj projekta je bil preučiti vpliv na skladiščne sposobnosti ter ohranjanje kakovosti izbranih zelenjadnic in jagodičja z uporabo plinske plazme. Ta del se delno navezuje tudi na dekontaminacijo površin, saj so skladiščne sposobnosti tesno povezane z njim. Tekom projekta smo ugotovili, da podaljšane skladiščne sposobnosti na jagodah nismo dosegli, v ta namen bi morali uporabiti drugačen plazemski sistem s tekočim trakom, ki bi preprečeval ročno premikanje jagod. Na borovnicah, ki so manj občutljive na premikanje smo sicer dosegli nekoliko podaljšano svežino, ki je lahko v povezavi z učinkovitostjo dekontaminacije zanimiva za nadaljnjo optimizacijo in razvoj metode.

Peti cilj projekta je preučiti morebiten vpliv uporabe plinske plazme na razvoj rastlin. Glede na trenutno zbrane in obdelane podatke ne moremo trditi, da je plazemska obdelava kakorkoli vplivala na razvoj in agronomsko učinkovitost ekološke pridelave dveh sort pšenice. Kljub temu, da so laboratorijski preizkusi IJS nakazovali bistveno hitrejšo kaljivost in rast pri plazemsko obdelani pšenici pri krajših časih obdelave. V poskusih v semenskem laboratoriju KIS-a teh razlik nismo ugotovili. Tudi rezultati poljskega preizkušanja so skladni z ugotovitvami semenskega laboratorija. Od kod te razlike med rezultati laboratorijskih poskusov ni popolnoma jasno, a je za optimizacijo pogojev potrebno bolj natančno preučiti razlike v rasti v laboratorijskem merilu in na prostem, ker je večja razlika v pogojih (vlažnost, sestava prsti, svetloba itd.). Manjše razlike, a ne statistično značilne, se kažejo pri uporabi večjega reaktorja, a zaradi drugačnega odziva med preučevanima sortama ne moremo sklepati o kakršnih zaključkih. Nakazuje se, da bi čas obdelave lahko imel potencialni vpliv na pšenico, a ker opazamo med sortama razlike v odzivu, bi bilo smiselno identificirati razloge za te razlike, kar bi pripomoglo k morebitnemu standardiziranju uporabe plazemskega tretiranja.

Šesti cilj projekta je bil pripraviti smernice za optimizacijo parametrov plazemske obdelave semena in izbranih pridelkov. Tekom projekta smo po posameznih sklopih raziskav ugotovili vplive različnih plazemskih in razelektritvenih pogojev na obdelavo semen in izbranih pridelkov. V vsakem sklopu smo podali optimalne pogoje obdelave, žal pa so ti pogoji lahko močno odvisni tako od vrste, kot tudi sorte semen ali izbranih pridelkov. Najbolj smiselna se je pri naših raziskavah izkazala uporaba plazme za odstranjevanje mikotoksinov in gliv. Pri obeh metodah je bila najbolj učinkovita uporaba nizkotlačne plazme kisika. Časi obdelave in moč plazme pa so odvisni od vrste okužb, kot tudi od hrapavosti in barve površine. Tako so rezultati na ravnih modelnih površinah pokazali popolno dekontaminacijo površine okužene z mikotoksini že pri 3 s obdelave in nizki uporabljeni moči plazme. Prav tako se je pri semenih ajde, ki so temnejše barve, termični vpliv plazme močnejše poznal, kot na svetlih semenih pšenice, kar posledično lahko vpliva na razgradnjo kontaminantov, kot tudi na poškodbe semen in zmanjšanje kaljivosti. V primeru, da se dekontaminacija semen uporablja za prehrano ljudi in krmo živali, vidik kaljivosti ni pomemben, vsekakor pa je v tem primeru potrebno preveriti prehransko vrednost živil. Prav tako je potrebno dodatno preučiti razpadne produkte kontaminantov po obdelavi s plazmo in njihov možen toksičen vpliv. Tekom projekta smo za vsak cilj optimizirali pogoje plazme, kar je bil v nekaterih primerih velik izziv, saj je sama optimizacija močno odvisna od vrste, sorte, kot tudi morfologije, oblike in občutljivosti semen in izbranih poljščin ter vrste okužb na površini. Po naših ocenah je dekontaminacije in odstranjevanja mikotoksinov s površine izbranih semen in poljščin z uporabo plinske plazme perspektivno področje, ki lahko bistveno zmanjša uporabo kemikalij v kmetijstvu. Poleg tega je ključen cilj projekta med drugim tudi postopno ukinjanje uporabe fungicidov v zadnjih stopnjah prehranske verige, predvsem pri pripravi živil za pakiranje. Dolgoročni cilj zdrave prehrane je namreč ničta stopnja kontaminiranosti živil na prodajnih

policah za kar pa so potrebne tudi nadaljnje študije možnih toksičnih vplivov razgradnje kontaminantov na površini po plazemski obdelavi, kot tudi študije prehranske vrednosti živil.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen rezultatov in učinkov vašega raziskovalnega projekta⁴:

Tekom projekta smo objavili več člankov (A.01), predstavili rezultate dela na znanstvenih srečanjih (B.03), ter imeli vabljen predavanja (B.04), kot je zajeto v spodnji preglednici objav.

Tekom projekta se je mentorirala mlada raziskovalka (D.09),; Pija Starič s čemer smo razvili podiplomsko izobraževanje. Pridobili smo tudi nova znanstvena spoznanja, dvig tehnološke ravni in razvoj prototipa, saj smo tekom projekta uporabnost plazme za odstranjevanje toksinov razvili do te mere, da smo vzpostavili pilotni- pol industrijski plazemski reaktor, ki je omogočal obdelavo večje količine semen. Glede na to, da smo člani mednarodne COST akcije na temo plazme v agrikulturi smo rezultate projektov predstavili tudi širši mednarodni javnosti, katere člani niso zgolj raziskovalci, temveč tudi proizvajalci hrane ter druga podjetja s tega področja. V to področje smo uvedli nove tehnologije, ki so za nekatere aplikacije v agrikulturi zelo zanimive, saj omogočajo tudi izboljšanje kvalitete hrane, varovanje okolja in trajnostni razvoj. Predvsem z vidika dekontaminacije površin ter povečanje hranljive vrednosti hrane, ki pa jo je v nadaljevanju potrebno še bolje raziskati.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta⁵:

Rezultati projekta sovpadajo z ravnanjem z vodami (zmanjšanje uporabe kemičnih sredstev za dekontaminacijo površin, odpornost rastlin), kar posledično vpliva tudi na varovanje živalskih vrst in njihovega naravnega okolja. Sledi tudi ciljem po izboljšanju industrijske proizvodnje in tehnologije, saj so plazemske tehnologije okolju prijazne ter nudijo povečanje ekonomske učinkovitosti in konkurenčnosti. Rezultati projekta so usmerjeni k spodbujanju kmetijstva, gozdarstva, ribištva in proizvodnje živil ter k razvoju prehranske tehnologije in produktivnosti. Ob drugem pa cilji projekta vključujejo tudi izobraževanje, predvsem visokošolsko izobraževanje, kjer se omogoča mladim raziskovalcem, da se aktivno vključijo v raziskave o uporabi plazemskih tehnologij v agrikulturi, ki je relativno nova veja raziskav.

3.3. Kateri so neposredni rezultati vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Neposredni cilji so izobraževanje mladih raziskovalcev ter širjenje znanja o interakcijah plinske plazme z biološkimi materiali na poletnih/zimskih šolah ter različnih znanstvenih srečanjih. Razvoj prehranske industrije je tudi eden od neposrednih ciljev, saj smo v okviru

⁴ Vpišete lahko več odgovorov. Uporabite šifrant rezultatov pod točko F, učinkov pod točko G), ki je dostopen na spletnem naslovu: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/inc/sif-razisk-rezult.pdf>

⁵ Šifrant je dostopen na spletnem naslovu: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/inc/klasif-druzb-ekon-09.pdf>

tega projekta razvili prototipni plazemski reaktor za obdelavo večjih količin semen, ki ga je mogoče prenesti v industrijsko merilo. V sodelovanju s podjetjem Interkorn d.o.o. smo z uporabo njihovega mobilnega sistema, ki vsebuje plinsko plazmo, opravili preliminarne teste na koruzi. Podjetje je v ta namen dodelalo mobilni plazemski reaktor, da je omogočal izvedbo obdelav semen v manjših količinah, ki so primerna za laboratorijsko analizo.

3.4. Kakšni so lahko dolgoročni rezultati vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja delež na zaznavnega odziva?

☐ a) v domačih znanstvenih krogih;

X b) v mednarodnih znanstvenih krogih;

☐ c) pri domačih uporabnikih;

☐ d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Poleg sofinancerja je zanimanje tudi drugih proizvajalcev hrane za uporabo plazme za dekontaminacijo in za odstranjevanje toksinov, kot tudi za hitrejšo rast. V okviru COST projekta smo prejeli tudi veliko zanimanja na področju obdelave borovnic s plinsko plazmo za preprečevanje okužb pri zmrzovanju borovnic, predvsem proizvajalcev in distributerjev iz Italije.

Zanimanje prihaja v zadnjem času tudi z vidika biofortifikacije hrane- semen, predvsem za uporabo na kalčkih. Zanimiva je tudi tehnologija dodajanja dušika kot način gnojenja na samih semenih (nitrogen fixation), kar sicer ni bil plan projekta, se pa je pa v zadnjem času izkazalo za velik potencial.

3.7. Število diplomantov, magistrstov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

Doktorska študentka Pia Starič- doktorirala bo v tem letu ali začetku naslednjega leta.

4. Sodelovanje s tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi institucijami.

Člani COST akcije Plagri, katere tema je uporaba plazme v agrikulturi.

Člani COST akcije PlasTher, katere namen je uporaba plazme v medicini.

Sodelovanje z Univerzo v Bukarešti, Romunija.

Datum: __14.11.2023__

Podpis vodje projekta:

doc.dr. Ita Junkar

**ITA
JUNKAR**
Digitally signed
by ITA JUNKAR
Date: 2023.11.14
15:00:00 +01'00'

Podpis in žig izvajalca:


Digitally signed by BOŠTJAN
ZALAR
Date: 2023.11.14 19:10:01 +01'00'
direktor prof. dr. Boštjan Zalar

Priloga 1: Vsebinsko poročilo – študija

Priloga 1 je obvezen element zaključnega poročila. Študija je raziskovalno poročilo za naročnika (MKGP), ki mora vključevati vse elemente raziskovalnega dela :

- *povzetek (v slovenskem in angleškem jeziku)*
- *opis problema in ciljev;*
- *kratek povzetek ključnih ugotovitev iz literature;*
- *uporabljena metodo dela;*
- *rezultati raziskave*
- *razprava, zaključki in priporočila naročniku.*
- *morebitne priloge k poročilu.*

Jasno je potrebna izpostaviti raziskovalni kontekst naloge, doseganje zastavljenih ciljev iz razpisa in tudi možnosti aplikacije in potrebe po dodatnih raziskavah.

Pričakujemo minimalni obseg poročila 20.000 znakov brez presledkov (brez prilog). Oblika poročila je prepuščena avtorjem. Priporočena je uporaba oblike in stila pisanja znanstvenih objav. Presoja študije bo potekala iz vsebinskega pa tudi oblikovnega vidika, saj bo objavljena na spletnih straneh digitalne knjižnice.

Priloga 1: Vsebinsko poročilo – študija

Povzetek

V zadnjih nekaj letih smo priča vse večjemu porastu bolezni povezanih z glivami (fungi) tako pri rastlinah, kot tudi pri živalih in ljudeh. Glivične okužbe na pridelkih predstavljajo resno grožnjo varni in zdravi hrani, kot tudi ekonomskemu vidiku pridelave hrane. Okužbe se namreč lahko pojavljajo praktično na vseh vrstah hrane; sadju, zelenjevi, kosimičih, mleku, oreščkih ter povzročajo gnitje, sproščanje toksinov, formiranje patogenih in alergenih produktov in s tem predstavljajo resno grožnjo pri varni in zdravi prehrani. Zato je zatiranje tovrstnih bolezni in preprečevanje okužb ena od pomembnih vidikov pri proizvodnji, predelavi in prodaji hrane. V večini primerov se v ta namen praktično v vseh fazah od priprave semen do setve, razvoja rastlin, shranjevanja pridelkov, skladiščenja, transporta in trženja uporabljajo fungicidna sredstva. Po podatki Statističnega urada RS se je prodaja fitofarmaceutskih sredstev (FFS), med katere sodijo tudi fungicidi, v Sloveniji za leto 2018 celo povečala. Med aktivnimi snovmi je po količini najbolj izstopala prodaja fungicidov (<https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/8334>).

Glede na to, da v večini primerov fungicidi predstavljajo veliko obremenitev za okolje, saj rušijo ravnovesje v naravnih ekosistemih, ter poleg vsega neposredno vplivajo na zdravje človeka, je željeno, da se njihova uporaba omeji, oziroma da se za preprečevanje in širjenje bolezni uporabijo okolju in človeku bolj sprejemljivi načini zaščite. Uporabi fungicidov v kmetijstvu se verjetno ne bo mogoče nikoli povsem izogniti, možno pa jo je bistveno omejiti z uporabo alternativnih sodobnih postopkov pri pridelavi, skladiščenju in predelavi hrane. Med najbolj obetavne alternativne tehnike sodi uporaba termično neravnovesne plinske plazme. Tovrstna plazma je vir okolju nenevarnih radikalov, ki so se že izkazali za uspešne pri uničevanju nekaterih vrst spor in mikotoksinov ter nudijo vsaj delno dekontaminacijo površin različnih vrst semen. Poleg tega pa je bilo tudi ugotovljeno, da uporaba plinske plazme za obdelavo semen lahko pripomore k boljši odpornosti rastlin in večjemu pridelku. Vidik uporabe plinske plazme se je izkazal za perspektivnega tudi na področju skladiščenja oziroma pakiranja hitro pokvarljivih izdelkov, kot je solata in jagodičevje. Z uporabo atmosferske plazme je bilo mogoče povečati dekontaminacijo površin in s tem bistveno podaljšati svežino oziroma roka uporabe (shelf life) pridelkov. Bistvena razlika med uporabo plazemskih tehnologij, ki predvsem temeljijo na obdelavi površine s plazemskimi radikali, glede na uporabo kemičnih aktivnih snovi (npr. fungicidov), je v njihovi programirani razgradnji. Kemične snovi namreč v večini primerov ostajajo v okolju še dolgo po tem, ko jih je bilo koristno uporabiti, saj je njihov razpad pogojen z zakonitostmi termodinamike. Plazemski radikali pa se samodejno združijo v stabilne okolju nenevarne molekule v času, ki ga je mogoče vsaj približno načrtovati glede na izbrano konfiguracijo neravnovesne plinske plazme.

V okviru projekta smo preučili možnosti za doseganje izboljšanje produktivnosti ter zmanjšanje uporabe okolju škodljivih aktivnih snovi v kmetijstvu z uporabo plinske plazme, ki jo vzbuja z različnimi plinskimi razelektritvami in pri različnih tlakih ter močeh plazme. Pripravili smo kritični pregled obstoječe literature glede uporabe plinske plazme v kmetijstvu, preučili potencial razkuževanja ekološkega in konvencionalnega semenskega materiala izbranih poljščin in zelenjadnic z uporabo plinske plazme ter preučili potencial zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov v žitih z uporabo plinske plazme in vpliv na skladiščne sposobnosti ter ohranjanje kakovosti izbranih vrst zelenjadnic. V okviru projekta smo prav tako preučevali morebiten vpliv uporabe plinske plazme na razvoj in odpornost rastlin tako v laboratorijskem kot tudi poljskem poskusu. Rezultate raziskav smo predstavili širši javnosti v obliki predstavitev na različnih

znanstvenih srečanjih, okrogli mizi, na spletnih straneh partnerjev s katerim smo približali potencial uporabe plazemskih tehnologij v kmetijstvu. Glede na izrazito novo vejo raziskav plazme za uporabo v agrikulturi smo rezultate naših raziskav objavili v znanstvenih člankih s področja molekularne biologije, rastlin in prehrane.

Opis problema in ciljev

Zdrava in varna hrana sodi med prioritete evropske in s tem tudi slovenske politike. Trenutno po svetu uporabimo okrog 2 milijona ton kemičnih pesticidov na leto (Sharma et al., 2019), kar je okrog 0,3 kg na prebivalca in poraba še vedno narašča (<https://ourworldindata.org/pesticides>) navkljub znanstvenim izsledkom, ki nedvoumno kažejo na škodljive posledice prekomerne uporabe. V Sloveniji smo v letu 2018 prodali 1.172 ton aktivnih snovi, kar je 8 % (85 ton) več kot v letu 2017. Povečanje skupne prodaje fitofarmaceutskih sredstev v letu 2018 je bilo posledica povečanja prodaje vsake posamezne glavne skupine teh sredstev: fungicidov, herbicidov, insekticidov in drugih fitofarmaceutskih sredstev.

Količina aktivnih snovi v celotni količini fungicidov, prodanih v 2018, je bila za 54 ton (ali 7 %) večja kot v 2017. Večja je bila predvsem zaradi povečane prodaje drugih anorganskih fungicidov (za 23 ton), fungicidov na osnovi ftalimidov (za 14 ton) in fungicidov na osnovi kinonov (za 11 ton) (<https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/8334>).

Fungicidi se v konvencionalnem kmetijstvu večinoma uporabljajo za zaščito rastlin med rastno dobo, manjša količina pa se jih tudi uporablja za razkuževanje in zaščito semen. V ekološkem kmetijstvu je nabor dovoljenih snovi z razkužilnim in/ali fungicidnim učinkom bistveno bolj omejen. Raziskave in tudi praktične izkušnje kažejo, da je zaradi tega ekološki semenski material pogosto bolj onesnažen. Ker se s semeni prenašajo skoraj vse pomembnejše glivične bolezni, nekatere bakterije in virusi ter tudi nekatere nematode, je razkuževanje med najpomembnejšimi ukrepi pri pridelavi poljščin in zelenjadnic.

Uporaba fungicidov in drugih razkužil predstavlja določeno tveganje za okolje, uporabnika sredstev in tudi potrošnika. Uporabo in s tem povezano tveganje je mogoče zmanjšati z alternativnimi tehnikami zaščite rastlin v vseh fazah razvoja od semen do pakiranega pridelka v živilskih trgovinah. Znane so različne rešitve od uporabe bioloških reagentov do fizikalnega obsevanja. Večina teh rešitev ni splošno uporabna zaradi stranskih učinkov, visoke cene ali pa preprosto zaradi negativnega odnosa javnosti do inovacij v kmetijstvu. Prav slednje ni zanemarljivo, saj imamo bogate (večinoma negativne) izkušnje pri uvajanju inovacij, na primer v energetiki (negativen prizvok vsega, kar je povezano z jedrskimi tehnologijami, odklonilen odnos do vetrnih elektrarn, zanemarljiva uporaba sončnih virov itd).

Med najnovejše metode z nizkim tveganjem, ki nakazujejo dejanski potencial zmanjšanja uporabe FFS v kmetijstvu, spada obdelava z nizkotemperaturno plinsko plazmo.

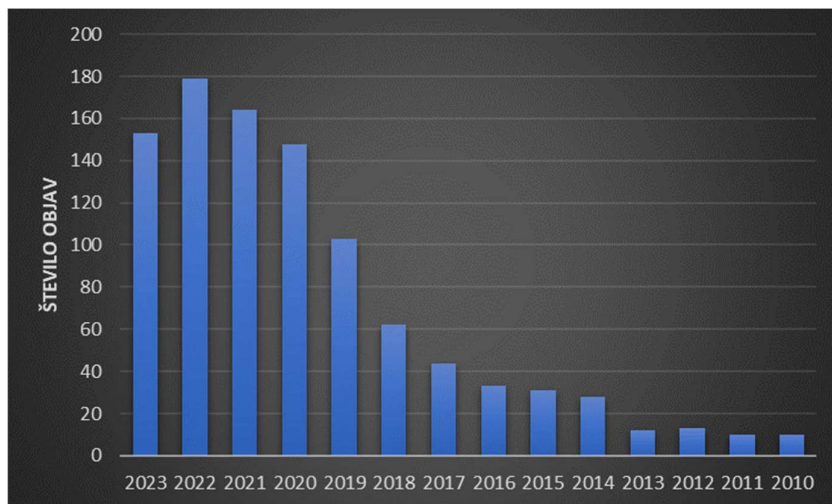
Končni cilj predlaganega projekta je bila kritična presoja o možnostih za izboljšanje produktivnosti in zmanjšanje odvisnosti od uporabe fungicidov v slovenskem kmetijstvu in prehranski industriji z uporabo plinske plazme.

Specifični cilji projekta so:

- izvesti kritični pregled obstoječe literature glede uporabe plinske plazme v kmetijstvu,
- preučiti potencial razkuževanja ekološkega in konvencionalnega semenskega materiala izbranih poljščin in zelenjadnic z uporabo plinske plazme,
- preučiti potencial zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov v žitih z uporabo plinske plazme,
- preučiti vpliv na skladiščne sposobnosti ter ohranjanje kakovosti izbranih zelenjadnic in jagodičja z uporabo plinske plazme,
- preučiti morebiten vpliv uporabe plinske plazme na razvoj rastlin,
- pripraviti smernice za optimizacijo parametrov plazemske obdelave semena in izbranih pridelkov.

Kratek povzetek ključnih ugotovitev iz literature

Plazemske tehnologije so nepogrešljive v sodobnem svetu. Pred stoletjem so se uveljavile predvsem v proizvodnji svetil (na primer fluorescenčne cevi, reklamni napisi), razmah pa dosegle z razvojem mikroelektronike. Brez plazemskih tehnologije ne bi bilo računalnikov, mobilnih telefonov itd. Postopno prodirajo tudi v bolj tradicionalne veje industrije, v zadnjem času pa tudi v medicino in kmetijstvo. Iz podatkov Web of Science na dan 5. novembra 2023 je pod iskalnim geslom »cold plasma treatment« in »agriculture« zaslediti 1.066 objav, strmo povečanje objav pa je opaziti od leta 2020. Na spodnji sliki je prikazan diagram s tega področja od leta 2010 do novembra 2023 (Slika 1).



Slika 1. Prikaz objav iz iskalne baze Web of Science dne 5.11.2023 za iskalno geslo »cold plasma treatment« in »agriculture«.

Različni avtorji so obravnavali različne vidike plazemskega kmetijstva. Največ znanstvenih člankov poroča o obdelavi semen s ciljem izboljšane kaljivosti ter uporabi plazme za dezinfekcija semen, rastlin in živil tudi mesa, med prispevki pa je opaziti tudi poročila o

obdelavi prsti (za izboljššan privzem vode ob kratkotrajnih a intenzivnih padavinah, za »zeleno gnojenje« - fiksacijo dušika in celo za stimuliranje rasti gob), rezanega sadja in zelenjave (za lepši videz) in dekontaminacijo (plazemsko razgradnjo toksinov). Razporeditev objav z iskalnim geslom »cold plasma treatment« in »agriculture« je glede na področja objav razporejeno predvsem na področje znanosti o tehnologijah za prehrano (Food science Technology). Vsaj štirikrat manj objav pa je zaslediti s področja znanosti o rastlinah (Plant Science) in uporabni kemiji (Chemistry Applied). Ter drugih področjih, ki so prikazana na Sliki 2.



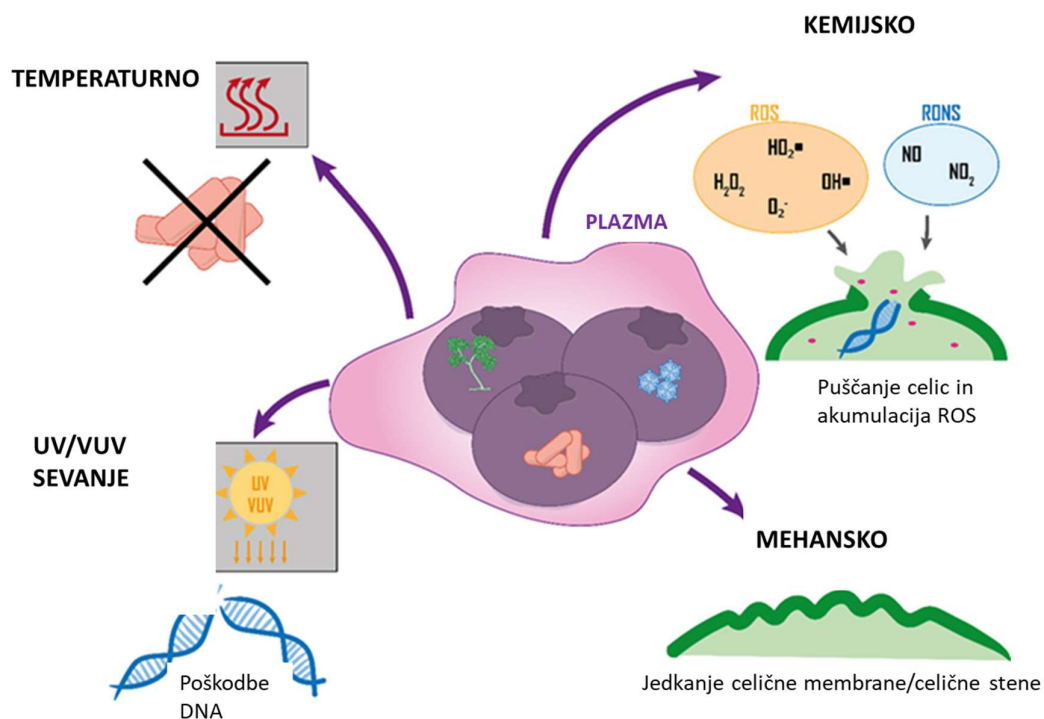
Slika 2. Prikaz pogostosti objav po področjih z iskalnim geslom »cold plasma treatment« in »agriculture« iz Web of Science, dne 5.11.2023.

Različni avtorji so uporabili različne plazme, kot tudi različne vrste in sorte semen ali drugih poljščin zato rezultati niso povsem primerljivi. Večina avtorjev poroča o pozitivnih učinkih plazemske obdelave, obstajajo pa tudi zapisi o marginalnih ali celo negativnih učinkih. Že iz plazemske medicine je znan pojav prekomerne obdelave: majhna doza omogoča pozitiven učinek, ki se povečuje s povečevanjem doze, potem pa nastopijo negativni učinki, ki se odražajo v poškodovanju sicer zdravih celic ali tkiv. Na področju plazemskega kmetijstva je znan pojav prekomerne obdelave, ki je predvsem posledica povišane temperature površine obdelovancev in tvorbi prostih radikalov v globljih plasteh semen, ki poškodujejo zarodek in tako negativno vplivajo na razvoj rastline.

Trenutno obstaja veliko in vedno več raziskav o dekontaminaciji s plazmo za namene kmetijstva ali proizvodnje hrane. Semena so običajno obdelan proizvod, bodisi za sajenje ali predelavo kot hrana; dekontaminacija semen pred shranjevanjem omogoča obvladovanje škodljivcev, kot so insekti ali glive. Od svežega sadja in zelenjave, ki so zelo pokvarljivi proizvodi, kot so jagode ali vnaprej narezani proizvodi, so še posebej občutljivi na napade patogenov in v teh primerih se plazemska dekontaminacija zdi še posebej koristna. Uporabo plazme so preučevali tudi za dekontaminacijo suhe hrane, kot so oreščki, jedrca, zelišča ali začimbe [Charoux, 2021], v nekaterih primerih pa celo meso [Abdel-Naeem et al., 2022]. Najpogostejši organizmi, ki pokvarijo živila v kmetijstvu ali živilstvu, so bakterije, glive (plesen, plesen) in različni insekti ali škodljivci. V zadnjem času so se raziskave osredotočile tudi na odstranjevanje drugih kontaminantov, kot so virusi ali toksini, ki jih proizvajajo nekatere vrste gliv [Filipič et al., 2020]. Kot pri drugih pristopih dekontaminacije so cilji

dekontaminacije s plazmo v kmetijstvu usklajeni z zahtevami proizvajalcev hrane, potrošnikov in ustreznih organov. Cilj je doseči podaljšan rok uporabnosti, čas skladiščenja ali v primeru pridelka svežino ter preprečiti kvarjenje ali toksičnost kmetijskih ali živilskih surovin. To je pomembno za preprečevanje širjenja bolezni, ki se prenašajo s hrano, bolezni pridelkov in gospodarske izgube. Glavni mehanizmi plazemske dekontaminacije so še vedno slabo poznani lahko pa jih v grobem razdelimo na in so shematično prikazane na sliki 3:

- kemijsko (oksidacija)
- jedkanje (neposredno povečanje permeabilnosti membrane, odstranjevanje ostankov)
- hitro segrevanje zgornje površine in/ali patogenov
- izpostava UV/VUV sevanju



Slika 3. Glavni mehanizmi delovanja plazemske dekontaminacije semen in svežega sadja in zelenjave (vir iz preglednega članka; Priloga 1).

Do sedaj uveljavljeni pristopi dekontaminacije semen ali pridelkov po žetvi so lahko fizikalni, kemični ali biološki. Fizična dekontaminacija vključuje toplotne principe, pa tudi netermične principe, kot so UV svetloba, gama žarki, rentgenski žarki, ultrazvok, visokotlačna obdelava, kot tudi plazemske tehnike. Kemična dekontaminacija uporablja kemična sredstva v tekočem ali plinastem mediju za boj proti patogenom; to vključuje organske kisline, fosfate in oksidante, kot so kemikalije, ki vsebujejo klor, ali peroksidi [Lianou et al., 2012]. Uporaba plazme za dezinfekcijo po žetvi ima številne prednosti. Plazemske reaktorje za obdelavo semen je mogoče razširiti na reaktorje industrijske velikosti, ki omogočajo enotno obdelavo in kontinuirano obdelavo. Najpomembneje pa je, da je plazma zaradi možnosti uporabe običajnih plinov, kot sta zrak ali kisik, pri tem pa ne proizvaja nobenih kemičnih odpadkov, tudi ekološko neoporečna, zlasti v primerjavi s kemičnimi metodami dezinfekcije. Kljub temu, da se plazemska tehnologija redno uporablja v številnih panogah, njena uporaba v kmetijstvu in predelavi hrane še ni uveljavljena. Medtem ko nekateri izračuni kažejo, da je izvajanje

dezinfekcije s plazmo lahko cenejše od uporabe kemičnih postopkov dekontaminacije, je zaenkrat malo obsežnih študij inaktivacije, ki so potrebne za oceno stroškov uvedbe obdelav s plazmo v industrijsko prakso.

Uporabljene metode dela

Tekom projekta smo uporabili različne metode dela, ki so vključevale napredne tehnike za kemijsko analizo biomaterialov, določanje omočljivosti ter različne biološke analizne tehnike, kot tudi poljske poskuse. V vseh sklopih projekta smo pred in po plazemski obdelavi opravili meritve kontaktnega kota vodne kapljice s čemer smo pridobili prve informacije o vplivu plazemske obdelave na različne biomateriale (semena, jagodičevje, zelenjadnice itd.). Kjer je bilo relevantno smo določali tudi privzem vode, ki smo ga merili s tehtanjem semen v določenih časovnih točkah – najprej suho maso, nato pa po 0.5, 1, 3, 6 in 24 ur po imbibiciji semen z destilirano vodo. Opravili smo tudi analize vlage semen pred in po plazemski obdelavi ter študirali pomen vsebnosti vlage v semenih na plazemsko obdelavo.

Za obdelavo različnih vrst biomaterialov smo uporabili različne plazemske reaktorje ter različne pogoje plazme. Uporabljali smo radiofrekvenčno (RF) nizkotlačno plinsko plazmo pri močeh od 200 do 600 W, spreminjali pa smo tudi pline za generiranje plazme (kisik, zrak, dušik) ter čas obdelave. Za zelo drobna semena motovilca in korenčka smo uporabili prilagojen plazemski reaktor, ki je omogočal premikanje cevi in s tem bolj enakomerno obdelavo semen. V primeru jagodičevja smo prve preizkuse opravili tudi z uporabo atmosferske plinske plazme, kjer je bil za generiranje plazme uporabljen argon.

Na relevantnih materialih smo opravili tudi kemijsko analizo površine biomaterialov pred in po plazemski obdelavi z rentgensko fotoelektronsko spektroskopijo (XPS), da smo spremljali tako imenovano funkcionalizacijo površine z reaktivnimi skupinami iz plazme (najpogosteje smo spremljali povečanje kisika na površini) ter odkrivanje spodnjih plasti materiala zaradi jedkanja površine z reaktivnimi delci v plazmi. Za določanje kemijske sestave smo uporabili infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo (FTIR) s čemer smo določali še poglobili informacije o sestavi površine predvsem z vidika oksidacije lipidov na površini semen. Tehniki FTIR in XPS sta nam dali vpogled v biokemijski profil površine semen iz katerega smo oceniti in kvantificirati (bio)kemijske spremembe na površini semen po različnih plazemskih obdelavah. S pomočjo protonsko inducirane emisije rentgenski žarkov s fokusiranim žarkom (μ -PIXE) smo na prerezu semen določali tudi razporeditev posameznih elementov na tkivnem nivoju semena. Hkrati smo s pomočjo rentgenske fluorescenčne spektroskopije (XRF) in μ -PIXE preverili privzem cinka v semena in kalice, ki so bila po plazemski obdelavi namočena v 5 mM raztopino $ZnCl_2$ (za namen možne biofortifikacije kalčkov). Z masno spektrometrijo z induktivno sklopljeno plazmo (ICP-MS) smo izmerili koncentracije K, Ca in Mn v vodi v kateri so se namakala semena, da bi preverili ali plazemska obdelava povzroči iztekanje elementov iz semen. Analizirali smo tudi rast in kalitev semen ter določali energijo kalitve in končni delež vzkaljenih semen obdelanih in neobdelanih s plinsko plazmo. Merili smo tudi dolžino koreninskega sistema ter njegovo razvejanost oziroma število korenin ter dolžino poganjka. Uporabili smo tudi spektrofotometrična analiza aktivnosti encima α -amilaza z UV/VIS ter meritve koncentracije fenolov s čitalcem mikrotiternih plošč. Na pšenici smo opravili tudi dvoletni poljski preizkus in na polje sejali tudi drugo generacijo plazemsko obdelane pšenice. Pri preučevanju vpliva plazme na razgradnjo mikotoksinov smo uporabili umeten način okuževanja semen in modelnih površin s toksini in glivami, vzorec mokre koruze pa smo tudi pustili naravno plesniti z namenom naravnega razvoja gliv in tvorbe mikotoksinov. Vsebnosti mikotoksinov smo analizirali na Veterinarski fakulteti, z uporabo njihovih akreditiranih metod.

Rezultati raziskave

Tekom projekta smo opravili vse predvidene naloge na projektu ter dosegli vse zadane cilje, ki so spodaj po točkah predstavljeni in tudi opisani glede na rezultate našega projekta.

1.) Izvesti kritični pregled obstoječe literature glede uporabe plinske plazme v kmetijstvu

V začetku projekta smo opravili kritičen pregled trenutne literature, nekateri rezultati pregleda literature so zajeti tudi v začetnem delu poročila v poglavju »Kratek povzetek ključnih ugotovitev iz literature«. V projektu smo opravili pregled literature, ki je bil predviden v nalogi 2, objavili smo tudi pregledni članek v reviji Plants, ki temelji na sistematičnem pregledu literature na temo vplivov hladne plinske plazme na morfologijo, genetiko in fiziologijo semen (Starič et al., 2020). Glede na potrebe projekta, pregledu literature in široko področje raziskav uporabe plazme v kmetijstvu na področju dekontaminacije smo pripravili še en pregledni članka na temo dekontaminacije/sterilizacije površin zelenjadnic, jagodičevja in semen. Ta članek je še v postopku objave.

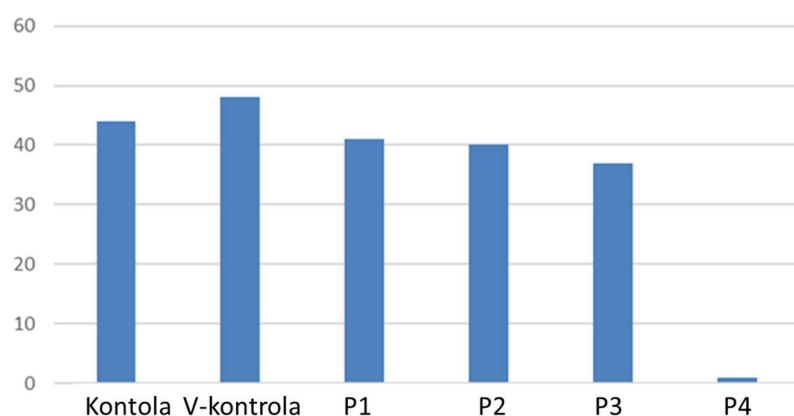
2.) Preučiti potencial razkuževanja ekološkega in konvencionalnega semenskega materiala izbranih poljščin in zelenjadnic z uporabo plinske plazme ter preučiti vpliv na skladiščne sposobnosti ter ohranjanje kakovosti izbranih zelenjadnic in jagodičja z uporabo plinske plazme

Naloga 3 je bila zaradi letnega časa predstavljena na december 2021, v sklopu te naloge smo raziskali uporabo plazme za doseganje razkuževanja semenskega materiala (naloga 3). Pri tej nalogi smo imeli kar nekaj težav z razkuževanjem in tudi z enakomernim kontroliranim okuževanjem semen. V začetni fazi smo okuževaje izvedli na modelnih površinah titanovih ploščic, vendar se je izkazalo, da je tovrstni model daleč od realnega sistema, saj smo s plazemsko obdelavo dosegli popolno odstranitev gliv. Razlogi za to so v izrazito ravni površini vzorca (kar smo želeli, da bi lahko tudi vizualno spremljali odstranjevanje s površine s SEM analizo), kot tudi hitremu in drugačnemu načinu segrevanja vzorca, kot je to na semenih. Na realnih vzorcih smo sistematično delo opravili na koruzi s katero je bilo lažje rokovati in nam je predstavljala modelni mehanizem dekontaminacije. Razkuževanje semen z vodikovim peroksidom se je izkazalo za problematično, saj nam je povečalo vlažnost semen in tako vplivalo tudi na plazemsko obdelavo. Za potrebe ugotavljanja okužb se je za bolj primeren način razkuževanja izkazalo avtoklaviranje semen. Po avtoklaviranju pa je sledila okužba z različnimi glivami. Ena od možnosti je bila tudi študija naravno okuženih semen, kjer pa je bila sama analiza veliko bolj zahtevna. Za odstranjevanje okužb z glivami smo po optimizaciji pogojev plazme uporabili le kisikovo plazmo pri različnih pogojih obdelave, kot je prikazano v spodnji Tabeli 1.

		Tok (V)	Moč(kW)	Čas (s)	Tlak kisika (Pa)
Plazma 1		1500	0.4	720	30
Plazma 2		1500	0.4	360	30
Plazma 3		2500	1.9 – 1.4	45s	30
Plazma 4		2500	1.9 – 1.4	180	30

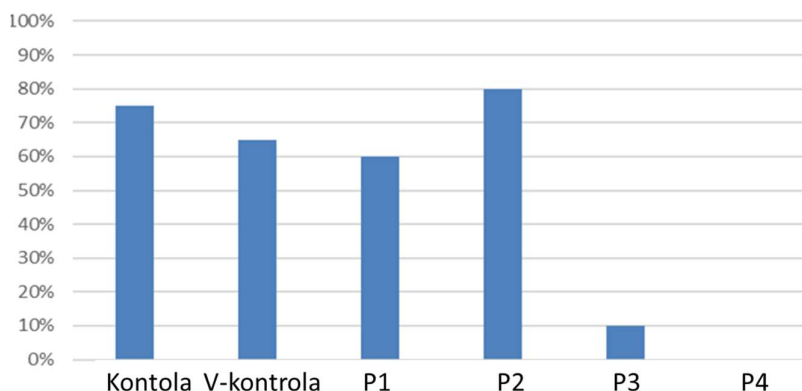
Tabela 1. Pogoji plazme za obdelavo semen.

Analiza skupnega števila izoliranih gliv na kontrolnem vzorcu in plazemsko obdelanem vzorcu, ki je bil naravno okužen je prikazana na Sliki 4. Rahlo zmanjšanje glivične obremenitve je indicirano po obdelavi s hladno plazmo P3; vendar je samo obdelava s hladno plazmo P4 znatno zmanjšala celotno glivično obremenitev. Obe bolj uspešni obdelavi zahtevata večjo moč plazme (2500 W), najuspešnejša pa tudi relativno dolg čas obdelave (3 min). Z optimiziranjem enakomernosti obdelave kot je na primer s tresenjem površine pladnja za obdelavo ali pa s spuščanjem semen skozi rotirajočo plazemsko cev je možno še zmanjšati čas obdelave. Podoben način delovanja s spuščanjem semen skozi cev reaktorja ali pa tračnim transportiranjem semen skozi reaktor se uporablja tudi v mobilni plazemski napravi podjetja Interkorn d.o.o. , ki je izkazal bistveno hitrejše čase razkuževanja (1 kg/s).



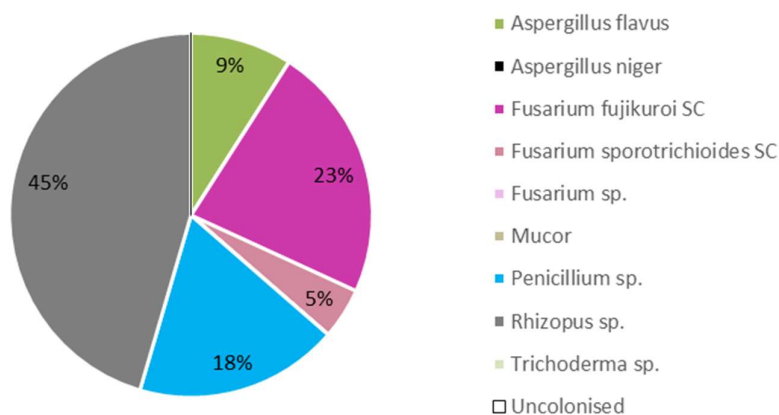
Slika 4. Analiza celotne populacije gliv v odvisnosti od različnih obdelav (kontrolnem vzorcu, kontrolnem vzorcu z nizkim tlakom in plazemsko obdelanih vzorcih pri P1, P2, P3 in P4, katere pogoji so prikazani v tabeli 1).

Ob tem smo pri enakih pogojih obdelave opravili tudi študije kalitve, ki so del naloge 6. Iz teh analiz je bilo razvidno, da je imela obdelava s hladno plazmo P3 izrazito negativen vpliv na kalitev semen koruze, obdelava s hladno plazmo P4 pa je povzročila celo popolno prekinitev kalitve (slika 5).



Slika 5. Delež kalitve semen koruze po 1-tedenski kultivaciji na PDA pri 22 °C v temi (N=20 semen na tretiranje) na kontrolnem vzorcu, kontrolnem vzorcu z nizkim tlakom in plazemsko obdelanih vzorci pri P1, P2, P3 in P4, katere pogoji so prikazani v tabeli 1.

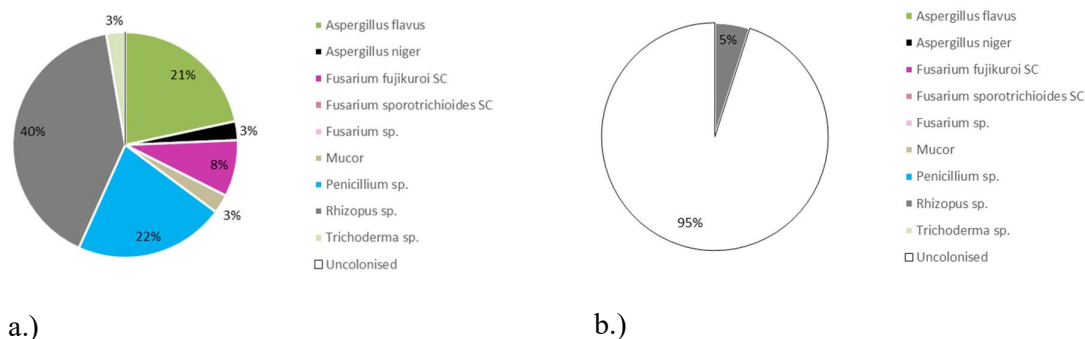
Analiza vrste glivičnih kolonizatorjev je pokazala (Slika 6), da je skoraj 50 % vseh glivičnih kolonizatorjev pripadalo rodu *Rhizopus*, glivam ki so značilna, da kontaminirajo semena (in druga živila) med dolgotrajnim skladiščenjem, ko so razmere ugodne. To je pričakovano, saj so bila naša semena 8 mesecev shranjena v hladilniku, preden so bila uporabljena za naše poskuse. Glive iz rodov *Aspergillus* in *Penicillium*, tudi značilne požetvene ali »skladiščne« glive, ki naseljujejo semena in zrna, so predstavljale 27 % vseh izoliranih gliv. Lahko so problematični zaradi svoje sposobnosti sinteze sekundarnih metabolitov (mikotoksinov), predvsem aflatoksinov in okratoksinov. Rod *Fusarium* je prevladoval med tako imenovanimi »poljskimi glivami«, ki okužijo semena v času rasti na polju ali med žetvijo. Glede na njihovo morfologijo je večina izolatov verjetno pripadala kompleksu vrst *Fusarium fujikuroi* (npr. *F. proliferatum* in nekdanji *F. verticillioides*), dobro znanih kolonizatorjev kmetijsko pomembnih poljščin, kot sta koruza in riž, ki so sposobni proizvesti širok spekter mikotoksinov, predvsem fumonizinov in moniliformina.



Slika 6. Raznolikost glivnih kolonizatorjev semen koruze v kontrolni skupini. N=20 semen (100% stopnja okužbe). Skupno število izoliranih sevov gliv = 44.

Iz analize vzorca izpostavljenega nizkemu tlaku smo opazili, da sama obdelava z vakuumom ni vplivala na strukturo glivne združbe semen koruze, saj je bila opažena podobna raznolikost v primerjavi s kontrolno skupino (Slika 4); skoraj polovica izolatov gliv je pripadala rodu *Rhizopus*, rodu *Fusarium* pa nekaj manj kot ¼ vseh izolatov. Podobno situacijo smo opazili po obdelavi s plazmo P1 in P2, kar kaže, da je bila obdelava s hladno plazmo prešibka, da bi vplivala na glivično združbo semen koruze. Največjo raznolikost gliv smo opazili po obdelavi s plazmo P3; vendar bi to lahko pripisali naključju in razmeroma majhnemu številu testiranih semen pri vseh obdelavah (Slika 7 a). Šele po obdelavi v plazmi P4 je bil opazen pomemben vpliv na združbo gliv, saj je bil od 20 testiranih semen koruze izoliran le 1 sev gliv (Slika 7 b). Ta obdelava s plazmo je bila verjetno tako močna, da je odpravila praktično vse glive, ki živijo na površini semen koruze. Ker pa je površina semen zelo neravna in hrapava, se lahko nekatere

glive ali njihove spore še vedno skrivajo v razpokah in gubah, kar omejuje učinkovitost dezinfekcije s plazmo.



Slika 7. Raznolikost glivnih kolonizatorjev semen koruze na površini koruze obdelana s P3 (a.); N=20 semen (100% stopnja okužbe), skupno število izoliranih sevov gliv = 37 in na površini obdelani s P4 (b.); N=20 semen (5% stopnja okužbe), skupno število izoliranih sevov gliv = 1

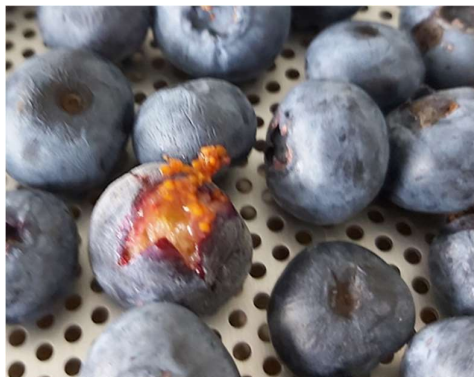
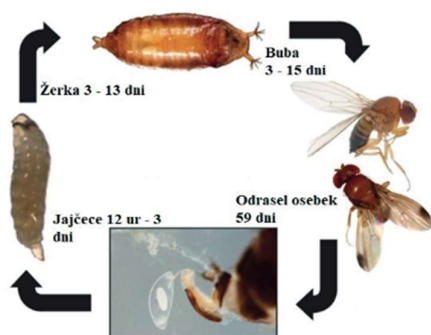
V sezoni jagod in borovnic smo sprva opravili preliminarne teste vplivov plazemske obdelave na podaljšanje skladiščne sposobnosti jagodičevja (naloge 5). V tem primeru smo uporabili tako atmosfersko plazmo, kot tudi velik plazemski reaktor, ki omogoča obdelavo večjega števila vzorcev. Pri jagodah smo opazili, da plazemska obdelava pri nekaterih pogojih izkazuje delno izboljšanje skladiščnih sposobnosti, še posebej za primer jagod, ki so bile predhodno okužene s pepelovko. V tem primeru smo bolezen v primeru manj okuženih jagod celo odstranili ter s tem podaljšali čas svežine. Vendar so se izkazali problemi pri sami manipulaciji jagod v in iz plazemskega reaktorja, saj so jagode izrazito občutljive na premikanje in prestavljanje, kar lahko dodatno pospeši zmanjšanje svežine in s tem vpliva na rezultat skladiščenja plazemsko obdelanih jagod. Za končno uporabo v ta namen potrebna optimizacija in avtomatizacija procesa obdelave tako, da je čim manj premikanja. Atmosferska plazma, ki jo imamo v obliki plazemskega curka, je bila prav tako uporabljena, vendar je za jagode prav zaradi manipulacije in neenakomerne obdelave bila neprimerna. Zaradi lažjega dela smo v nadaljevanju bolj podrobno študirali vplive plazemske obdelave na borovnicah, ki so bistveno bolj trpežne in tudi zanimive iz vidika podaljšanja svežine, kot tudi okužb. Sprva smo študirali doseganje podaljšane svežine borovnic. Pri optimizaciji pogojev smo se odločili za različne pogoje plazme; obdelava v kisikovi plazmi (O_2) 30 s, obdelava v kisikovi plazmi s trikrat po deset sekund (3×10 s), obdelava v dušikovi plazmi s trikrat po deset sekund (3×10 s), obdelava v plazmi zraka s trikrat po deset sekund (3×10 s) ter obdelava v kisikovi plazmi šestkrat po deset sekund (6×10 s). Za najbolj uspešne obdelave sta se izkazali obdelavi v kisikovi in dušikovi plazmi (3×10 s). Slika 8 prikazuje borovnice izpostavljene kisikovi plazmi (levo) in borovnice po 1 mesecu skladiščenja (desno.) Opravili smo tudi kemijsko analizo sestave površine povrhnje plasti borovnice z XPS tehniko in ugotovili, da ima površina večji delež kisika. Vizualno smo tudi opazili, da z daljšim časom izpostave plazmi na površini borovnice izgubimo poprhljivost, ki je lahko vizualno pomemben učinek tudi za končnega uporabnika (kupca), zato smo čas plazemske obdelave zmanjšali in delali v pulznem načinu. Preverjali smo tudi zgolj izpostavitve borovnic znižanemu tlaku, kot dodatna kontrola in možna uporaba pri podaljšanju svežine, saj so borovnice izpostavljene takim pogojem v plazemskem reaktorju tik pred

generiranjem plazme. Izkazalo se je da tovrsten način borovnic ne izsuši in tudi nudi nekoliko podaljšano svežino (poprva pa ostane, saj se odstranjuje z jedkanjem v plazmi). Namen izpostave nizkemu tlaku je bil tudi, da bi preprečili okužbe borovnic z agresivno vinsko mušico (*Drosophyla Suzukii*), ki je v zadnjem času vse bolj razširjena tudi v Evropi in povzroča resno škodo na pridelkih. To je bil del naloge 5 s ciljem razkuževanja.



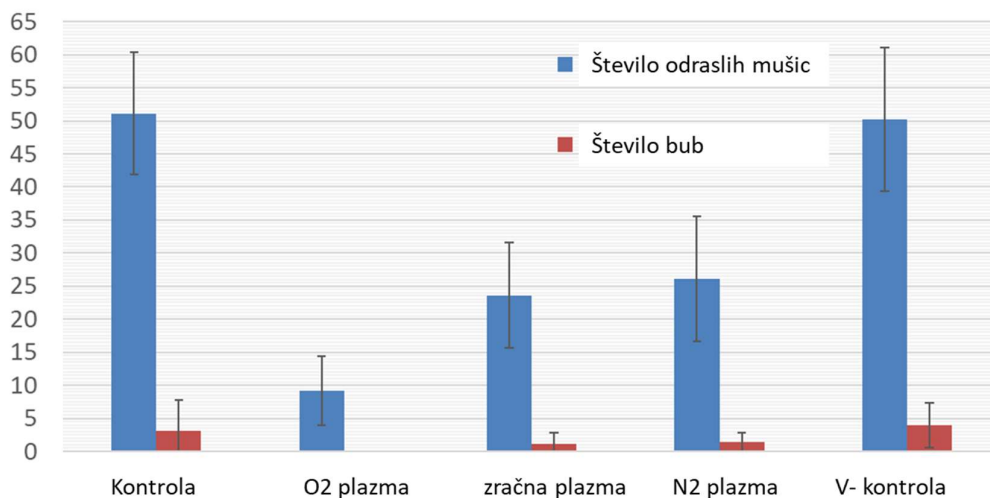
Slika 8. Borovnice izpostavljene kisikovi plazmi (levo), borovnice po 1 mesecu shranjevanja v hladilniku pri različnih obdelavah (desno).

Dve sezoni zapored smo opravili študije vplivov plazme na ameriških borovnicah okuženih z *Drosophyla Suzukii* (naloge 5). Uporabili smo različne plazemske pogoje (različni pogoji nizkega tlaka in plina za generiranje plazme). *Drosophyla Suzukii*, ki je v zadnjem času vse bolj razširjena tudi v Evropi povzroča resno škodo na pridelkih tudi v Sloveniji. Plodova vinska mušica je po velikosti in barvi podobna ostalim mušicam iz rodu *Drosophila*. Je rumenkaste barve in ima rdeče oči, samci pa imajo na krilih okroglo črno liso. Ob poškodbi, ki jo povzroči mušica nastane okroglasta odprtina v katero se naselijo glive, kar povzroča sadno gnilobo. Ta se lahko razširi tudi na zdrave plodove. Na Sliki 9. je prikazan razvojni krog plodove vinske mušice, ki zajema štiri faze; jajčeca, žerka, buba in odrasla mušica. Namen naše študije je bilo spremljati število bub in odraslih mušic po obdelavi borovnic pri različnih pogojih plazme. Borovnice smo izpostavili plodovi vinski mušici in jih po uspešni okužbi tretirali z različnimi pogoji plazemske obdelave (Slika 9, desno).



Slika 9. Razvojni krog plodove vinske mušice povzet iz (levo) ter umetno okužene borovnice po plazemski obdelavi (desno).

Za dekontaminacijo okuženih borovnic smo uporabili predhodno sprane borovnice z dionizirano vodo, kar se je izkazalo za najbolj optimalen način, saj smo predvidevali da zaradi vlage na površini dosežemo temperaturne šoke. Tretiranje smo opravili trikrat po 10s. Najbolj uspešni preizkus se je izkazal z uporabo kisikove plazme, sicer pa smo uporabili še zračno in dušikovo plazmo pri tlaku 85 Pa in trajanju obdelave v treh pulzih po 10 s. Tretirali smo 400 g borovnic, ki smo jih razdelili v 4 zabojnike. Rezultati analiz so pokazali, da je kisikova plazemska obdelava lahko učinkovita za odstranjevanje plodove vinske mušice, saj na tako obdelanih borovnicah nismo detektirali bub, število odraslih mušic pa je tudi bistveno upadlo. Na Sliki 10 je prikazan upad števila bub in odraslih mušic v odvisnosti od vrste obdelave.



Slika 10. Število odraslih mušic in bub na s plodovno vinsko mušico okuženih vzorcih ameriških borovnic pri različnih pogojih plazemske obdelave; kontrola, kisikova, zračna in dušikova plazma ter kontrola pri nizkem tlaku.

3.) Preučiti potencial zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov v žitih z uporabo plinske plazme

Mikotoksini so raznolika skupina sekundarnih metabolitov, ki jih tvorijo glive in plesni, najdemo pa jih lahko v različnih pridelkih in živilih. Njihovo zauživanje lahko povzroči škodljive akutne ali kronične zdravstvene učinke na ljudeh in živalih, odvisno od vrste, količine in trajanja zauživanja. Med pomembnejšimi mikotoksini so aflatoksini (AF), ohratoksin A (OTA), zearalenon (ZEA), enniatini, toksin T-2, nivalenol (NIV), deoksinivalenol (DON), fumonizini (FUM), ergot alkaloidi in alternarijski toksini, ki jih tvorijo glive rodov *Claviceps*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* in *Alternaria* (Bennet in Klinch, 2009). Da so koncentracije mikotoksinov v pridelkih in živilih v okviru reguliranih mejnih vrednosti, so potrebni sistematični pristopi in ukrepi v pridelavi, skladiščenju in predelavi, kar povečuje ekonomsko breme za pridelovalce, živilsko industrijo, prodajalce hrane in potrošnike (Matumba in sod., 2021). Kljub izvajanju dobrih praks v pridelavi se pogosto dogaja, da v letih, primernih za glivične okužbe in razvoj gliv, vsebnosti mikotoksinov presegajo regulirane mejne vrednosti za posamezne mikotoksine, in so v živilski industriji primorani izvajati ukrepe za njihovo zmanjšanje (Matumba in sod., 2021; Dao in sod., 2021). Standardni ukrepi v živilski industriji za zmanjšanje mikotoksinov v hrani večinoma temeljijo na fizičnem ločevanju in odstranjevanju surovine ali dela surovine z visoko vsebnostjo mikotoksinov. Najpogostejši ukrepi so čiščenje, pranje, sortiranje, luščenje, brušenje, ločevanje in mletje zrn ter uporaba termične obdelave (npr., kuhanje in peka). Čeprav te metode učinkovito zmanjšajo vsebnosti mikotoksinov v končnem proizvodu, so slabosti dolgi časi obdelave, večja poraba energije in s tem povezani stroški ter večje količine zavržene surovine. Njihova uporaba pa je lahko omejena tudi zaradi vpliva na organoleptične lastnosti ali hranilne vrednosti obdelanih proizvodov. Kot alternativni način odstranjevanja mikotoksinov preučujejo raziskovalci in živilska industrija možnosti uporabe nizko temperaturnih načinov obdelave s t.i. hladno plazmo (Misra in sod., 2019). Plazmo lahko v grobem opredelimo kot ionizirani plin, ki obsega več reaktivnih vrst (npr. ioni, elektroni in prosti radikali) in ultravijolično (UV) sevanje. Študije kažejo, da obdelava zrnja s plazmo lahko vpliva na mikotoksine posredno z uničenjem gliv, ki jih tvorijo in neposredno z razgradnjo mikotoksinov. Oboje je mogoče doseči s kratkimi časi obdelave, pri nizkih temperaturah in z zanemarljivim vplivom na kakovost obdelanih živil, a tako metode kot dosežene učinkovitosti v raziskavah precej variirajo (Gavahian in Cullen, 2020).

Priprava zrnja

Zrnje za izvedbo poskusov z uporabo plazme smo pridelali leta 2021 na polju Kmetijskega inštituta Slovenije v Jabljah (osrednja Slovenija). Koruzo sorte DKC 4391 smo pridelali v skladu s smernicami integriranega varstva rastlin. Obdelava tal je bila konvencionalna, z jesenskim oranjem do globine 25 cm in predsetveno pripravo. Predposevek koruzi je bil jari oves. Gnojenje je temeljilo na kombinaciji N gnojil v odmerku 200 kg N/ha ter kalijeve soli v odmerku 140 kg/ha. Od požete količine zrnja smo odvzeli vzorec približno 700 kg zrnja, ki smo ga nasuli v t.i. big bag vrečo, jo zaprli in za 14 dni postavili v prostor s temperaturo med 16 °C in 20 °C, da bi sprožili proces plesnenja in posledično razvoja gliv in tvorbe mikotoksinov. Dodatno smo ob žetvi odvzeli tudi tri vzorce zrnja po 1 kg, na katerih smo z analizatorjem

Perten Aquamatic izmerili vlago in temperaturo zrnja v času žetve. Vlage zrnja so se v času žetve gibale med 27,6 in 28,2 %. Vzorce zrnja smo nato dali v sušilno komoro in jih 48 ur sušili pri 60 °C do približno 9 % vlage in jih nato analizirali na vsebnosti mikotoksinov. Po 14 dneh skladiščenja vlažnega vzorca koruze v vreči na temperaturah med 16 °C in 20 °C smo s sondo odvzeli več vzorcev v skupni količini pet kilogramov, jih združili in dali za 48 ur sušit na 60 °C. S sušenjem smo preprečili nadaljnji razvoj gliv in s tem vzorec stabilizirali. Po sušenju smo iz posušenega vzorca odvzeli osem vzorcev teže 200 gramov. Pet vzorcev smo poslali na Inštitut Jože Štefan na plazemsko obdelavo, tri vzorce pa na analizo vsebnosti mikotoksinov na Veterinarsko fakulteto.

Obdelava s plazmo

Pred obdelavo s plazmo smo vsak 200 gramski vzorec razdelili na štiri 30 gramske vzorce (teža, preden je bila izpostavljena vakuumu in plazmi), ostanek zrnja smo zavrgli. Dodatno smo za analizo vsebnosti mikotoksinov brez obdelave s plazmo pripravili štiri vzorce zrnja po 30 gramov.

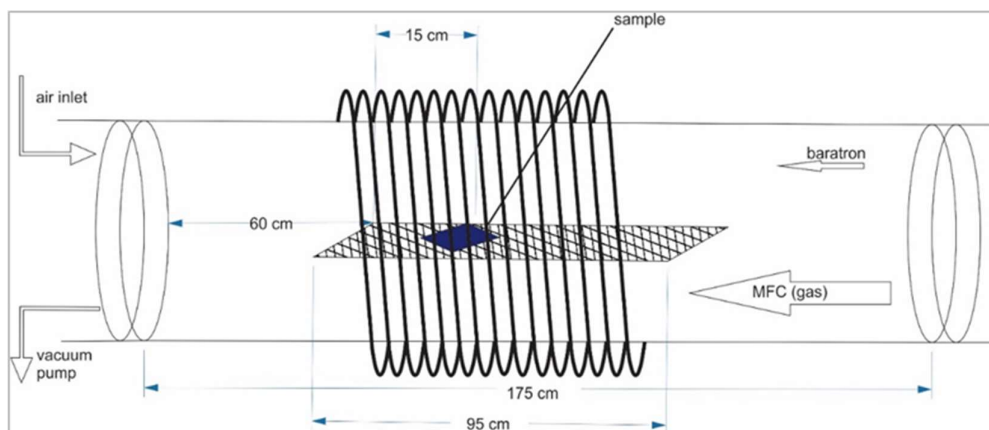
Postopek	Napetost (V)	Moč (kW)	Čas obdelave (s)	Tlak (Pa)
Plazma 1	1500	0.4	720	30
Plazma 2	1500	0.4	360	30
Plazma 3	2500	1.9 – 1.4	45	30
Plazma 4	2500	1.9 – 1.4	180	30

Tabela 2. Parametri obravnavanj s plazemsko obdelave vzorcev zrnja koruze.

Za obdelavo zrnja s plazmo smo uporabili visokofrekvenčno (RF) induktivno sklopljeno plazmo (ICP) s kisikom kot medijem. Obdelavo smo naredili s štirimi postopki, ki so se med seboj ločili po napetosti in moči električnega toka in času obdelave (Tabela 2). Shematski prikaz naprave za obdelavo vzorcev s plazmo prikazujemo na Sliki 11. Vzorce koruze smo dali na majhno držalo iz perforiranega aluminija. Kisik smo v plazemsko posodo dovajali skozi kanal s konstantno hitrostjo 150 Nml/min, ter tako v posodi med obdelavo s plazmo dosegli skupni tlak približno 30 Pa. Po končanih postopkih obdelave s plazmo so bili vsi vzorci poslani na analize vsebnosti mikotoksinov na Veterinarsko fakulteto.

Analize mikotoksinov

Ekstrakcije mikotoksinov iz vzorcev mletih žit in določanje z LC-MS/MS (Waters, Milford, MA, USA) so temeljile na analiznih metodah, ki jih navajajo Rasmussen in sod. (2010), Lattanzio in sod. (2011) ter Schenzel in sod. (2012). Z laboratorijskim mlinom Retsch ZM 100 smo vzorce zmleli na velikost delcev 1 mm. 10 g vzorec smo eno uro ekstrahirali s 100 ml mešanice acetonitrila in deionizirane vode (84:16, v/v) z uporabo stresalnika IKA HS 501. Skupno 4 mL filtriranega ekstrakta smo uparili do suhega v vakuumu z uporabo sistema Syncore Polyvap. Suhi ostanek smo rekonstituirali v 0,5 mL mešanice metanola in vode (20:80, v/v). Alikvot 10 µL smo nato injicirali v sistem UPLC (Acquity), povezan s trojnim kvadrupolnim masnim spektrometrom Xevo TQ in opremljenim z vmesnikom za ionizacijo z elektrosprejem. Podatke smo zajeli in obdelali s programsko opremo MassLynx. Posebni parametri LC-MS/MS, povezani s posameznimi mikotoksini (retenzijski časi, način ionizacije in prehodi), so na voljo pri avtorjih prispevka in jih zaradi omejitve dolžine prispevka ne prikazujemo.



Slika 11. Shematski prikaz naprave za obdelavo vzorcev koruze z visokofrekvenčno induktivno sklopljeno plazmo.

Statistične analize

Podatke smo statistično obdelali s programom Statgraphics Centurion XVIII. Analizo variance (ANOVA) smo naredili z uporabo večfaktorske analize. V modelu smo postopek obdelave s plazmo označili kot fiksni dejavnik, ponovitev pa kot naključni dejavnik. Postopek obdelave s plazmo smo analizirali kot združeno obdelavo s plazmo in kot posamezne postopke obdelave glede na specifične parametre plazme. Kjer smo ugotovili prisotne ekstremne vrednosti (ang. outlier), smo te vrednosti pred analizo odstranili. Če je ANOVA pokazala statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$), smo razlike med obravnavanji preverili s Tukey HSD testom za primerjavo mnogoterih obravnavanj ($\alpha = 0,05$). Kjer so bile analizirane vrednosti pod mejo vrednotenja (LOQ) smo jih za namene statistične primerjave zabeležili kot najnižjo možno zaznano vrednost. Kjer ANOVA ni pokazala značilnih razlik, a so bile dejanske razlike v vsebnosti mikotoksinov med postopki in kontrolo po naši oceni večje, smo naredili primerjave izbranega postopka s kontrolo s t-testom. Grafično obdelavo smo naredili s programom R in paketom GGPlot2. Rezultati analiz vsebnosti mikotoksinov v zrnju takoj po žetvi ter po 14 dnevnom plesnenju so prikazani v Tabeli 3. Zrnje z njive je vsebovalo razmeroma majhne vsebnosti mikotoksinov, večinoma iz skupine trihotecenov. Od dvanajstih analiziranih mikotoksinov smo jih zaznali samo pet, pri čemer pri nobenem nismo zaznali vsebnosti, ki presegajo mejne vrednosti za zrnje (Uredba komisije (ES) št. 1881/2006). Najvišje so bile vsebnosti DON, sledijo vsebnosti njegove acetilirane oblike 15-AcDON. Nizke zaznane vsebnosti mikotoksinov, ki so jih večinoma tvorile glive iz rodu *Fusarium*, pripisujemo vremenskim razmeram med rastno dobo in v času dozorevanja v pridelovalnem letu, ki niso pretirano spodbujale razvoja omenjenih gliv. Predvidevamo, da je bila odsotnost mikotoksinov, ki jih tvorijo glive iz rodov *Aspergillus* ter *Penicillium*, predvsem posledica razmer, ki sploh niso omogočale razvoja ali tvorbe toksinov teh gliv. Skladiščenje vlažnih vzorcev koruze na toplem za 14 dni je povečalo število zaznanih mikotoksinov na deset, obenem pa so se povečale tudi vsebnosti mikotoksinov (preglednica 2). Mikotoksini, ki spadajo v skupino trihotecenov in jih tvorijo glive iz rodu *Fusarium* so prevladovali tudi po t.i. plesnenju, z največjimi vsebnostmi toksinov DON in 15-AcDON. Mikotoksinov DAS ter OTA tudi po plesnenju nismo zaznali,

razmeroma majhno spremembo smo opazili tudi pri toksinu AFB1. Opaženo pripisujemo razmeram med plesnjenjem, kjer so temperature med 17 in 20 °C bolj ugajale razvoju gliv iz rodu *Fusarium*.

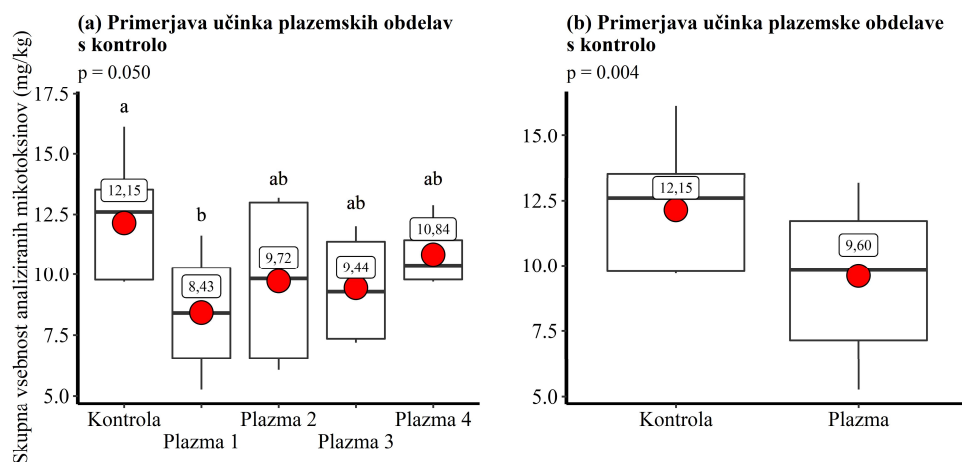
Mikotoksin		Vsebnosti po žetvi (n = 3)		Vsebnosti po plesnjenju (n = 7)	
Okrajšava	Polno ime	Povprečje	SD	Povprečje	SD
DON	Deoksinivalenol	0,505	0,011	7,324	2,156
15-AcDON	15-acetil deoksinivalenol	0,230	0,006	2,371	0,576
3-AcDON	3-acetil deoksinivalenol	0,078	0,001	0,826	0,205
DON-3G	Deoxynivalenol 3-β-d-glukozid	0,101	0,0002	0,860	0,077
DAS	Diacetoksiscirpenol	<0,04 (LOQ)		<0,04 (LOQ)	
HT-2	HT-2 toksin	<0,04 (LOQ)		0,064	0,025
T-2	T-2 toksin	<0,04 (LOQ)		0,052*	0,012
ZEA	Zearalenon	<0,02 (LOQ)		0,458*	0,043
FB1	Fumonizin B1	0,089	0,015	0,146*	0,159
FB2	Fumonizin B2	<0,05 (LOQ)		0,059*	0,018
OTA	Ohratoksin	<0,005 (LOQ)		<0,005 (LOQ)	
AFB1	Aflatoksin B1	<0,002 (LOQ)		0,004*	0,0016

Vrednosti označene z znakom * kažejo povprečne vsebnosti šestih vzorcev (n=6). Vzorce, kjer smo zaznali ekstremne vrednosti (ang. outlier) smo odstranili; LOQ, meja vrednotenja.

Tabela 3. Vrste mikotoksinov, njihove povprečne vsebnosti (mg/kg) in standardni odklon (SD) na koruznem zrnju v času žetve in po plesnjenju koruze.

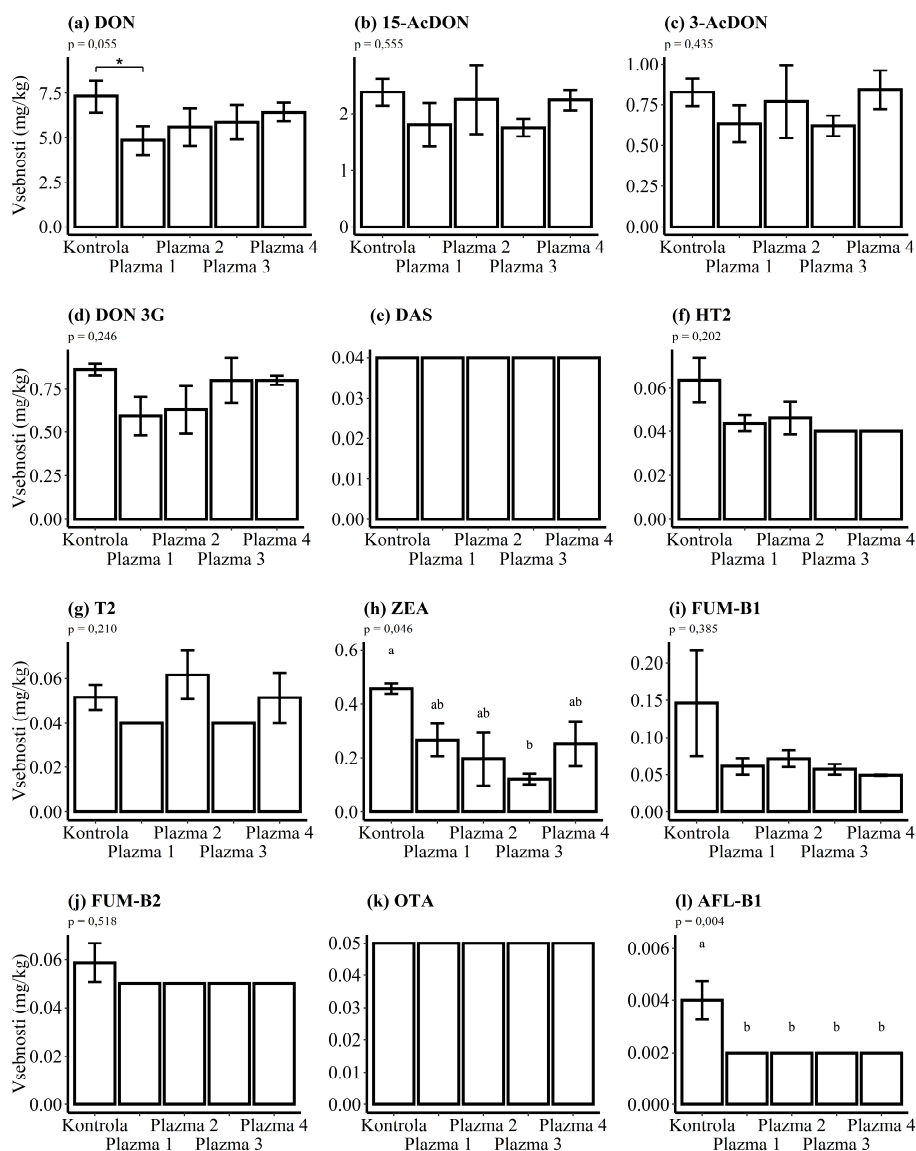
Učinek obdelave vzorcev koruze s plazmo (združeni postopki ter po posameznih postopkih) na skupno vsebnost analiziranih mikotoksinov prikazujemo na Sliki 12. Obdelava s plazmo je značilno zmanjšala skupno vsebnost analiziranih mikotoksinov, v povprečju za 21,0 %. Tudi pri primerjavi učinkov posameznih načinov obdelave s plazmo analiza variance kaže prisotnost značilnih razlik. Nadaljnja analiza je pokazala, da ima zrnje, obdelano s postopkom »Plazma 1« značilno manjšo skupno vsebnost analiziranih mikotoksinov od kontrole (Slika 11a). S to obdelavo se je skupna vsebnost mikotoksinov zmanjšala za 30,6 % glede na kontrolo. Najmanjše znižanje vsebnosti toksinov je bilo s postopkom »Plazma 4« (zmanjšanje za 10,8 %). Primerjava učinkov obdelave s plazmo na posamezne prisotne mikotoksine prikazujemo na sliki 3. Značilne razlike v vsebnosti mikotoksinov med postopki smo zaznali pri mikotoksinih ZEA in AFB1. Vsebnost ZEA je bila po obdelavi s postopkom »Plazma 3« značilno nižja od kontrole (zmanjšanje za 68,2 %). Vsebnosti ZEA se pri ostalih postopkih obdelave s plazmo niso značilno razlikovali od kontrole, prav tako pa ni bilo razlik med postopki obdelave s plazmo. Kljub temu pa so vsi postopki obdelave s plazmo zmanjšali vsebnosti ZEA (v povprečju za 48,3 %). Vsebnosti mikotoksina AFB1 so bile s postopki plazme značilno manjše od kontrole ter pod mejo detekcije. Vsebnosti toksinov DON, HT-2, FB1, FB2 in DON-3G so se po obdelavah s plazmo zmanjšale, a razlike niso bile značilne. Z izjemo DON in DON-3G, so bile razlike v učinkovitosti zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov med postopki obdelave s plazmo majhne. Mikotoksin DON smo s postopkom »Plazma 1« zmanjšali za 55,3 % v primerjavi s kontrolo. Primerjava s t-testom tukaj kaže na značilno razliko med obema skupinama. Postopek »Plazma 2« je vsebnost DON zmanjšal za 44,2 %, »Plazma 3« za 40,6 % ter »Plazma 4« za 32,7 %«. HT-2 smo z obdelavo s plazmo v povprečju vseh postopkov zmanjšali za 33,2 %. Mikotoksin FB1 smo z obdelavo s plazmo v povprečju zmanjšali za 59,2

%, z majhnimi razlikami med postopki obdelave. Vsebnosti FB2 so bile po obdelavi s plazmo pod mejo detekcije pri vseh postopkih. Vsebnost mikotoksina DON-3G sta zmanjšala samo postopka »Plazma 1 in Plazma 2« (v povprečju za 28,9 %).



Slika 12. Učinek obdelave s plazmo na skupne vsebnosti mikotoksinov na koruznem zrnju. Postopki, ki so označeni z različno črko, se med seboj značilno razlikujejo glede na rezultate Tukey HSD testa.

Pri toksinih 15-AcDON, 3-AcDON in T-2 nismo opazili značilnega učinka obdelave s plazmo. Pri teh toksinih je tudi prisotna večja variabilnost med analiziranimi vzorci kot pri ostalih toksinih. Nakazuje se, da so bile vsebnosti s postopkoma »Plazma 1« ter »Plazma 3« manjše kot s postopkoma »Plazma 2« ter »Plazma 4«, a zaradi variabilnosti ni jasnega odziva in možnih zaključkov. Opaženo pripisujemo omejitvam izbrane metode plesnenja, zaradi česar so bile variabilnosti v vsebnostih teh mikotoksinov večje in so zakrile morebitne učinke plazme. V raziskavi smo poskušali variabilnosti med vzorci zmanjševati s homogeniziranjem vzorcev, a smo bili pri omenjenih toksinih pri tem manj uspešni. Čeprav mehanizem razgradnje mikotoksinov z uporabo kisikove plazme ni popolnoma pojasnjen, je verjetno, da je razgradnja povezana z nastankom reaktivnih kisikovih vrst. Uporaba kisikove plazme na površine materialov uvaja reaktivne kisikove vrste, kot so npr. ozon, hidroksil, kisikovi radikali in aldehyd radikali (Misra in sod., 2019). Študije navajajo, da ozon reagira s funkcionalnimi skupinami v molekulah mikotoksina in spreminja njihove molekularne strukture (Misra in sod., 2019; Afsah–Hejri in sod., 2020). Skoraj vse obstoječe študije so narejene na kalibriranih vzorcih, na katere so umetno nanесли določen mikotoksin, le redko so jih nanесли več. Dosežene učinkovitosti razgradnje mikotoksinov v naši študiji so malce manjše kot jih navajajo drugi avtorji (predvsem če primerjamo z delovanjem na čiste mikotoksine), a menimo, da se zaradi našega pristopa bolj približajo pričakovanim pri obdelavi s plazmo v praksi. Pri večini mikotoksinov je daljši čas obdelave z manjšo močjo razgradil več mikotoksinov kot obdelava z večjo močjo za krajši čas, ob tem smo zaznali tudi manj učinkov na zrnje. V naši študiji smo s postopkoma »Plazma 3 in 4« po določenem času obdelave opazili padec moči ter povečanje tlaka do 40 oziroma 60 Pa, kar pripisujemo poku semena zaradi pregretja in sproščanju vlage iz notranjosti zrnja. Sklepamo, da je opaženo povezano tudi z manjšo učinkovitostjo teh postopkov obdelave.



Slika 13. Učinek obdelave s postopki plazme na posamezne analizirane mikotoksine na koruznem zrnju. Intervali prikazujejo standardno napako. Postopki, ki so označeni z različno črko, se med seboj značilno razlikujejo, uporabili smo Tukeyev HSD test.

Rezultati kažejo potencial uporabe plazemske obdelave zrnja za zmanjšanje vsebnosti analiziranih mikotoksinov na koruzi (Slika 13). Daljši čas obdelave z manjšo močjo se je v našem poskusu izkazal kot učinkovitejši za razgradnjo mikotoksinov kot obdelava z večjo močjo za krajši čas. Pri obdelavi z manjšo močjo smo opazili tudi manj učinkov na zrnje, predvsem manjši toplotni vpliv na zrnje koruze. Rezultati kažejo, da je z raziskavami smiselno nadaljevati in optimizirati parametre za skrajšanje obdelovalnih časov in za izboljšanje učinkovitosti razgradnje. Prav tako je smiselno preučiti razpadne produkte mikotoksinov po obdelavi s plazmo in njihove toksičnosti.

Preučiti morebiten vpliv uporabe plinske plazme na razvoj rastlin

Opravili smo sistematične analize vplivov plinske plazme na semenih za določanje vpliva plazme na kaljivost in razvoj rastlin (naloga 6). Študirali smo vpliv plazme na energijo kalitve in kaljivosti semen zobatega motovilca in korenčka (analiziran vzorec je vseboval 100 semen). Za obdelavo semen smo uporabili posebej prilagojen plazemski reaktor, ki smo ga izdelali na IJS v sodelovanju s tujimi partnerji iz Češke. Sistem namreč omogoča enakomerno obdelavo semen, saj se plazemski reaktor rotira. Za obdelavo smo uporabili različne moči plazme, v tako imenovanem E načinu (moč 200 W) in H načinu (moč 700 W). Vzorce smo obdelovali pri različnih časih oziroma pri enkratnem in večkratnem (2, 4, 8 in 15 kratno) rotiranju plazemskega reaktorja. Tekom raziskav smo ugotovili, da seme korenčka izkazuje delno višjo energijo kalitve in tudi kaljivosti pri zelo kratkih časi obdelave, enkratno rotiranje v E in H načinu. Daljši časi obdelavi pa v obeh načinih nakazujejo na približno enako ali celo zmanjšano kaljivost. Poskus smo izvedli tudi pri pogojih »staranja« oziroma po času skladiščenja semen, kjer se je izkazalo, da skladiščenje bistveno vpliva na kaljivost in energijo kalitve. Semena, ki so pri danih pogojih obdelave s plazmo izkazovala izboljšano kaljivost so s časom shranjevanja to lastnost izgubila (skladiščenje 3 tedne). Za skladiščenje je podoben trend opaziti tudi pri motovilcu, saj se s staranje pozitivni učinki kaljenja izgubijo. Glede energije kalitve in kaljivosti zobatega motovilca pa smo opazili, da je za to vrsto semen boljša nekoliko daljša obdelava, dvakratno rotiranje v E načinu, med tem ko H način ni izkazoval boljše kaljivosti.

Opravili smo tudi laboratorijske analize vplivov kalitve dveh vrst semen pšenice (naloga 6). Izkazalo se je, da plazemska obdelava različno vpliva na kaljivost in rast dveh različnih sort pšenice. Predvsem smo opazili razlike v koreninskem sistemu in številu ter dolžini korenin, ki so bile statistično različne glede na posamezno sorto pšenice. Na to temo smo tudi napisali članke, ki smo ga objavili v reviji *Plants*. Študija je bila sicer opravljena v laboratorijskem merilu v nadaljevanju pa smo študirali vplive različnih sort tudi v večjem merilu- industrijski plazemski reaktor (optimizacija plazme in up-scaling). V ta namen smo uporabili industrijski plazemski reaktor, ki nam omogoča obdelavo večje količine semen.

V jeseni 2021 smo na ekoloških poskusnih poljih Kmetijskega inštituta Slovenije zasnovali poljski poskus, kjer smo spremljali morebiten vpliv različnih obdelav s kisikovo in dušikovo plazmo na fenološke, morfološke in biokemijske značilnosti dveh sort pšenice (WP 6). Seme pšenice izvira iz ekološke pridelave v sezoni 2020/21, katerega smo obdelali s kisikovo in dušikovo plazmo za 5 in 30 sekund, del vzorcev pa smo uporabili kot neobdelano kontrolo. Poskuse smo statistično zasnovali kot bločne poskuse z naključno razporeditvijo obravnavanj znotraj blokov v štirih ponovitvah. Med vegetacijo smo izvajali vse agrotehnične ukrepe za oskrbo poskusov, po smernicah in tehnoloških navodilih za ekološko pridelavo ozimne pšenice. Da bi ocenili vpliv obdelave s plazmo na rast in razvoj rastlin pšenice, smo po metodah iz OECD deskriptorjev med rastno dobo spremljali več fenoloških in morfoloških značilnosti, kot so: datum vznika, vigor rastlin, delež poškodovanih rastlin po prezimitvi, pokrovnost ravnega prostora po razraščanju, dolžina zastavičarja, širina zastavičarja, datum klasenja, barva glume, dlakavost glume, resavost klasa, polnost stebela z meristemskim tkivom, položaj klasa, zbitost klasa, poleg pšenice, višina rastlin, pridelek zrnja, vlaga zrnja, hektolitrska masa ter absolutna

masa semena. Spremljali smo tudi pojav in razvoj glivičnih bolezni kot so septorijske pegavosti, fuzarioze klasa, rumena rja, stebelna rja in snetljivost klasov. Po žetvi smo odvzete vzorce dali na biokemijske analize, kjer bomo določili vsebnosti beljakovin, vrednost sedimentacije, padno število, vsebnost škroba in delež glutena.

Rezultati laboratorijskih poskusov na Kmetijskem inštitutu

V akreditiranem semenskem laboratoriju Kmetijskega inštituta smo dodatno preverjali morebiten vpliv plazemske obdelave na kaljenje in zgodnji razvoj dveh sort pšenice v odvisnosti od obdelave s plazmo. Preizkušanje je bilo narejeno v štirih ponovitvah po 100 semen. Seme smo še isti dan, ko smo ga dobili iz IJS dali na analize kalivosti. Semena smo nalagali v pesek (polaganje semena na 2cm plast in pokrivanje semena z 1cm plastjo kremenčevega peska). Seme smo izpostavili temperaturi 20 °C in 9 °C, s tem smo simulirali optimalno temperaturo za kalitev in predvideno temperaturo tal v času setve pšenice. Energijo kalitve smo ocenili po 6 in 22 dneh testa, kalivost pa po 10 in 24 dneh testa. Po 24 dneh smo rastline odvzeli iz peska ter pomerili dolžino nadzemnega dela in dolžino korenine.

Rezultate študije o vplivu plazemske obdelave na kalivost zrnja prikazujemo v Tabeli 4. Iz rezultatov ne opazimo vpliva plazemske obdelave na energijo kalitve in kalivost, ne glede na sorto, temperaturo ali postopek plazemske obdelave. Plazemsko tretiranje ni izboljšalo opazovane parametre, a jih po drugi strani tudi ni poslabšalo.

SORTA	PLAZEMSKA OBDELAVA	Temp. (°C)	ENERGIJA KALITVE		KALIVOST			
			št.dni	normalne klice (%)	št.dni	normalne klice (%)	nenorm. klice (%)	mrtvo seme (%)
GOROLKA	N.A.	20	6	93	10	94	2	4
GOROLKA	O ₂ – 5 s	20	6	93	10	95	2	3
GOROLKA	O ₂ – 30 s	20	6	90	10	92	2	6
GOROLKA	N ₂ – 5 s	20	6	94	10	94	1	5
GOROLKA	N ₂ – 30 s	20	6	94	10	94	2	4
GOROLKA	N.A.	9	22	92	24	94	1	5
GOROLKA	O ₂ – 5 s	9	22	92	24	94	2	4
GOROLKA	O ₂ – 30 s	9	22	84	24	87	2	11
GOROLKA	N ₂ – 5 s	9	22	95	24	96	1	3
GOROLKA	N ₂ – 30 s	9	22	93	24	96	1	3
PRIMORKA	N.A.	20	6	93	10	94	3	3
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	20	6	92	10	93	3	4
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	20	6	92	10	92	3	5
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	20	6	91	10	93	2	5
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	20	6	89	10	91	4	5
PRIMORKA	N.A.	9	6	93	10	94	3	7

PRIMORKA	O ₂ – 5 s	9	22	88	24	90	3	8
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	9	22	88	24	90	2	3
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	9	22	92	24	95	2	8
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	9	22	88	24	89	3	8

Tabela 4. Podatki glede kalivosti semena glede na sorto in plazemsko obdelavo pri dveh temperaturah kaljenja.

Podatke o dolžini korenin in stebila prikazujemo v Tabeli 5. Tudi iz teh podatkov ne ugotavljamo pomembnejšega vpliva na dinamiko razvoja rastlin, se pa nakazuje, da so plazemsko obdelana semena sorte Gorolka tvorila malce daljše korenine v enakem času kot plazemsko neobdelana semena. Ker gre pri teh številkah za povprečje >80 rastlin so vrednosti precej zanesljive. Vseeno pa nekega jasnega trenda in s tem zaključkov, da je plazma imela ugoden vpliv na razvoj korenin ne moremo podati.

SORTA	PLAZEMSKA OBDELAVA	Temp. (°C)	DOLŽINA KORENIN (cm)	DOLŽINA STEBLA (cm)
GOROLKA	N.A.	20	13,4 ± 2,2	13,9 ± 2,0
GOROLKA	O ₂ – 5 s	20	14,6 ± 1,9	13,6 ± 1,7
GOROLKA	O ₂ – 30 s	20	14,3 ± 2,0	13,7 ± 2,1
GOROLKA	N ₂ – 5 s	20	15,0 ± 1,7	14,2 ± 1,6
GOROLKA	N ₂ – 30 s	20	14,3 ± 2,4	13,7 ± 2,1
GOROLKA	N.A.	9	11,6 ± 1,5	7,8 ± 1,0
GOROLKA	O ₂ – 5 s	9	12,4 ± 2,1	7,0 ± 1,0
GOROLKA	O ₂ – 30 s	9	12,2 ± 2,8	7,0 ± 1,3
GOROLKA	N ₂ – 5 s	9	13,0 ± 2,1	7,1 ± 0,9
GOROLKA	N ₂ – 30 s	9	12,7 ± 2,0	7,9 ± 1,1
PRIMORKA	N.A.	20	14,7 ± 3,1	15,2 ± 1,7
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	20	15,8 ± 2,8	15,5 ± 2,2
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	20	14,5 ± 2,8	15,1 ± 2,2
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	20	15,1 ± 3,0	15,6 ± 2,0
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	20	12,7 ± 2,7	14,1 ± 1,9
PRIMORKA	N.A.	9	11,3 ± 2,0	7,9 ± 1,2
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	9	10,2 ± 1,8	7,0 ± 1,0
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	9	11,6 ± 1,8	7,7 ± 1,4
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	9	11,8 ± 2,0	6,9 ± 1,0
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	9	11,8 ± 1,9	6,4 ± 0,9

Tabela 5. Podatki o dolžini korenin in stebila po 24 dneh kalitve glede na sorto in plazemsko obdelavo pri dveh temperaturah kaljenja.

Rezultati poljskih poskusov v sezoni 2021/2022 na Kmetijskem inštitutu

Poskuse smo zasnovali na ekološkem raziskovalnem polju Kmetijskega inštitut Slovenije. V sezoni 2021/2021 smo v poskuse vključili 10 različnih obravnavanj (preglednica 1). Poskuse smo zasnovali kot bločne poskuse s štirimi ponovitvami in z naključno razporeditvijo znotraj bloka. Vsa oskrba posevkov med letom je potekala v skladu s pravili ekološke pridelave. Rezultati opazovanj in merjenj med rastno dobo (Tabela 6a in 6b) ne kažejo značilnega vpliva obdelave s plazmo na fenološki in morfološki razvoj rastlin pšenice v primerjavi z netretirano kontrolo, ne glede na kombinacijo plazemske obdelave in časa obdelave. Opazne so razlike

med sortama, ki izhajajo iz genotipa in na katerega izražanje plazemska tretiranja niso pomembno vplivala.

SORTA	PLAZEMSKA OBDELAVA	POKR. (%)	DOL.ZAST (cm)	ŠIR.ZAST (cm)	DAT.KLAS	BAR.GLUM (1-9)	DLAK.GLUM (1-9)
GOROLKA	N.A.	88	21,38	1,09	25.5.	3	5
GOROLKA	O ₂ – 5 s	88 ns	23,44 ns	1,03 ns	25.5. ns	3 ns	5 ns
GOROLKA	O ₂ – 30 s	85 ns	20,02 ns	0,99 ns	25.5. ns	3 ns	5 ns
GOROLKA	N ₂ – 5 s	84 ns	22,45 ns	1,06 ns	25.5. ns	3 ns	5 ns
GOROLKA	N ₂ – 30 s	85 ns	18,11 *	0,91 *	25.5. ns	3 ns	5 ns
PRIMORKA	N.A.	80	22,79	1,27	31.5. ns	3	5
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	79 ns	20,95 ns	1,35 ns	31.5. ns	3 ns	5 ns
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	77 ns	21,93 ns	1,30 ns	31.5. ns	3 ns	5 ns
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	78 ns	23,03 ns	1,32 ns	31.5. ns	3 ns	5 ns
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	77 ns	22,56 ns	1,27 ns	31.5. ns	3 ns	5 ns

POKR., pokrovnost rastlin v fazi BBCH 39; DOLZ.ZAST., dolžina zastavičarja v fazi BBCH 39; ŠIR.ZAST., širina zastavičarja v fazi BBCH 39; DAT.KLAS., datum klasenja; BAR.GLUM., barva glume; DLAK.GLUM., dlakavost glume. Ns, ni statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

Preglednica 6a. Podatki glede fenologije in morfologije pšeničnih rastlin v odvisnosti sorte in postopka obdelave s plazmo. Prikazana so povprečja desetih vzorčenj na parcelo, ponovljena v štirih blokkih. Podatki so statistično obdelani z uporabo TUKEY HSD testa ($\alpha = 0.05$), pri čemer se primerja s plazmo obdelane pšenice na kontrolo znotraj posamezne sorte.

Razlike, ki smo jih zaznali so bile v dolžini in širini zastavičarja, kjer je obdelava z dušikovo plazmo za 30 sekund vplivala na krajše in ožje zastavičarje pri sorti Gorolka. Zastavičar je končen list v razvoju pšenice in fiziološko označuje prehod iz vegetativne v generativno fazo razvoja, obenem pa je fotosintetsko najbolj aktiven list in ima s tem ključen vpliv na tvorbo fotosintetskih asimilatov ter s tem na pridelek zrnja.

SORTA	PLAZEMSKA OBDELAVA	RES.KLA S (1-9)	POL.STE B (1-9)	POL.KL AS (1-9)	ZBI.KLA S (1-9)	POLE G (1-9)	VIŠIN A (cm)
GOROLKA	N.A.	5	1	5	5	2	104,5
GOROLKA	O ₂ – 5 s	5 ns	1 ns	5 ns	5 ns	2 ns	105,8 ns
GOROLKA	O ₂ – 30 s	5 ns	1 ns	5 ns	5 ns	2 ns	104,5 ns
GOROLKA	N ₂ – 5 s	5 ns	1 ns	5 ns	5 ns	2 ns	103,3 ns
GOROLKA	N ₂ – 30 s	5 ns	1 ns	5 ns	5 ns	2 ns	106,5 ns
PRIMORKA	N.A.	5	1	3	7	1	111,5
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	5 ns	1 ns	3 ns	7 ns	1 ns	109,0 ns
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	5 ns	1 ns	3 ns	7 ns	1 ns	109,5 ns
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	5 ns	1 ns	3 ns	7 ns	2 ns	109,7 ns
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	5 ns	1 ns	3 ns	7 ns	2 ns	108,8 ns

RES.KLAS., resavost klasa; POL.STEB., polnost stebila; POL.KLAS., položaj klasa; ZBI.KLAS., zbitost klasa; POLEG, ocena poleglosti rastlin; VIŠINA, višina rastlin.

Ns, ni statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

Tabela 6b. Podatki glede fenologije in morfologije pšeničnih rastlin v odvisnosti sorte in postopka obdelave s plazmo. Prikazana so povprečja desetih vzorčenj na parcelo, ponovljena v štirih blokkih. Podatki so statistično obdelani z uporabo TUKEY HSD testa ($\alpha = 0.05$), pri čemer se primerja s plazmo obdelane pšenice na kontrolo znotraj posamezne sorte.

Podatki o agronomskih lastnostih plazemsko obdelanih pšenic so prikazani v Tabeli 7. Pri nobeni od merjenih parametrov nismo ugotovili značilnih razlik plazemsko obdelanih pšenic v primerjavi s kontrolo, razlike ki jih opažamo so na ravni naravne variabilnosti.

SORTA	PLAZEMSKA OBDELAVA	PRID.HA (kg)	VLAGA (%)	PRID.SS (kg)	HL (kg/hl)	AM (g)
GOROLKA	N.A.	6580	11,52	5821	84,8	39,42
GOROLKA	O ₂ – 5 s	6539 ns	11,40	5842 ns	84,8 ns	39,03 ns
GOROLKA	O ₂ – 30 s	6060 ns	11,53	5363 ns	84,6 ns	38,25 ns
GOROLKA	N ₂ – 5 s	6120 ns	11,49	5418 ns	84,8 ns	38,80 ns
GOROLKA	N ₂ – 30 s	6260 ns	11,42	5548 ns	84,7 ns	39,02 ns
PRIMORKA	N.A.	6920	11,25	6143	81,5	39,96
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	6213 ns	11,39	5507 ns	81,1 ns	40,17 ns
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	6567 ns	11,32	5825 ns	81,0 ns	39,28 ns
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	6087 ns	11,39	5395 ns	81,1 ns	39,51 ns
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	6227 ns	11,40	5518 ns	80,9 ns	40,03 ns

PRID.HA., svež pridelek zrnja na hektar; VLAGA., vlaga ob žetvi; PRID.SS., pridelek zrnja preračunan na suho snov; HL., hektolitrska teža; AM, absolutna masa zrnja.

Ns, ni statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

Tabela 7. Podatki o agronomskih lastnostih pšenice v odvisnosti od sorte in postopka obdelave s plazmo. Prikazana so povprečja ponovljena v štirih blokkih. Podatki so statistično obdelani z uporabo TUKEY HSD testa ($\alpha = 0.05$), pri čemer smo primerjali s plazmo obdelane pšenice na kontrolo znotraj posamezne sorte.

Rezultati analiz osnovnih kakovostnih parametrov pšenice so prikazani v Tabeli 8. Tudi tukaj ne opažamo pomembnega vpliva obdelave s plazmo, razlike ki se prikažejo so na ravni naravne variabilnosti. Razlike, ki so opažene ne vplivajo pomembno na doseženo kakovost in s tem povezano morebitno odkupno ceno zrnja.

SORTA	PLAZEMSKA OBDELAVA	VSEBNOST BELJAKOVIN kg	VREDNOST SEDIMENTACIJE (%)	VSEBNOST ŠKROBA (kg)	VSEBNOST GLUTENA (kg/hl)
GOROLKA	N.A.	12,10	39	70,05	26,09
GOROLKA	O ₂ – 5 s	12,59 ns	42 ns	69,53 ns	27,49 ns
GOROLKA	O ₂ – 30 s	11,77 ns	37 ns	70,38 ns	25,08 ns
GOROLKA	N ₂ – 5 s	12,01 ns	38 ns	70,05 ns	25,74 ns
GOROLKA	N ₂ – 30 s	12,09 ns	39 ns	69,99 ns	25,98 ns
PRIMORKA	N.A.	12,24	40	68,86	25,92
PRIMORKA	O ₂ – 5 s	11,48 ns	36 ns	69,73 ns	23,49 ns
PRIMORKA	O ₂ – 30 s	12,02 ns	39 ns	69,01 ns	25,16 ns
PRIMORKA	N ₂ – 5 s	11,63 ns	37 ns	69,51 ns	24,22 ns
PRIMORKA	N ₂ – 30 s	11,28 *	35 *	70,11 ns	23,13 ns

Ns, ni statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

Tabela 8. Podatki o kakovostnih parametrih pšenice v odvisnosti od sorte in postopka obdelave s plazmo. Prikazana so povprečja ponovljena v štirih blokkih. Podatki so statistično obdelani z uporabo TUKEY HSD testa ($\alpha = 0.05$), pri čemer smo primerjali s plazmo obdelane pšenice na kontrolo znotraj posamezne sorte.

Rezultati poljskih poskusov v sezoni 2022/2023

V jeseni 2022 smo poljske poskuse nadaljevali z drugo generacijo plazemsko obdelane pšenice, ki je bila obdelana v reaktorju v lasti podjetja Interkorn. S plazmo smo obdelali seme sort Primorka in Gorolka, a so bili tretmani s plazmo drugačni od prejšnje sezone. Vsaka sorta je bila izpostavljena plazmi pri moči 5 kW in 10 kW, spreminjala se je tudi hitrost potovanja semena skozi reaktor (in s tem časa obdelave), in sicer 12 %, 25 % in 50 % maksimalne hitrosti naprave. V tej sezoni smo spremljali samo agronomski odziv ter kakovostne parametre v odvisnosti od plazemske obdelave. Podatke prikazujemo v Tabeli 9. Več-faktorska analiza variance ni pokazala značilnega vpliva obdelave plazme na nobenega od opazovanih parametrov.

Kljub odsotnosti statistično značilnih vplivov, pa se iz podatkov nakazuje, da je imela obdelava sorte Gorolka s hitrostjo 12% ugoden vpliv na pridelek zrnja, ki je bil v povprečju večji za 12 %. Pri sorti Primorka tega nismo opazili, ampak je ugoden vpliv plazemske obdelave naraščal s časom obdelave. Jakost obdelave ne kaže vpliva na nobenega od opazovanih parametrov.

IME SORTE	PLAZEMSKA OBDELAVA	PRID.SS kg	HL (kg/hl)	AM (g)	BELJAK. (%)	SED. (ml)	ŠKROB (%)	GLUTEN (%)
GOROLKA	N.A.	4044	79,4	40,7	11,5	35	68,7	27,2
GOROLKA	10 kW 12%	4519	79,0	39,8	11,6	34	68,6	26,7
GOROLKA	10 kW 25 %	4172	78,4	41,3	11,3	34	70,2	22,0
GOROLKA	10 kW 50 %	4198	78,7	41,2	11,4	34	69,2	23,7
GOROLKA	5 kW 12%	4496	78,6	41,3	11,3	34	69,6	22,7
GOROLKA	5 kW 25 %	4034	78,5	40,8	11,3	35	70,0	22,3
GOROLKA	5 kW 50 %	4014	78,7	40,3	11,4	34	68,7	28,8
PRIMORKA	N.A.	4196	70,3	40,3	10,11	30	68,3	19,7
PRIMORKA	10 kW 12%	4268	76,6	40,7	10,2	29	68,5	21,0
PRIMORKA	10 kW 25 %	4315	73,1	39,5	9,9	30	68,7	20,4
PRIMORKA	10 kW 50 %	4355	73	39,4	9,7	29	68,5	19,2
PRIMORKA	5 kW 12%	4361	73,5	39,5	9,7	30	68,9	20,6
PRIMORKA	5 kW 25 %	4285	73,5	41,0	10,0	31	69,3	20,3
PRIMORKA	5 kW 50 %	4566	73,4	39,1	9,7	30	69,2	18,5

PRID.SS., pridelek zrnja preračunan na suho snov; HL., hektolitrska teža; AM, absolutna masa zrnja; BELJAK., delež beljakovin v zrnju; SED, vrednost sedimentacije; ŠKROB, delež škroba v zrnju; GLUTEN, delež glutena.

Ns, ni statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo.

Tabela 9. Podatki o kakovostnih parametrih pšenice v odvisnosti od sorte in postopka obdelave s plazmo. Prikazana so povprečja ponovljena v štirih blokkih. Analiza variance ni pokazala prisotnosti statistično značilnih razlik.

Glede na trenutno zbrane in obdelane podatke ne moremo trditi, da je plazemska obdelava kakorkoli vplivala na razvoj in agronomsko učinkovitost ekološke pridelave dveh sort pšenice. Kljub temu, da so laboratorijski preizkusi IJS nakazovali bistveno hitrejšo kaljivost in rast pri plazemsko obdelani pšenici pri krajših časih obdelave. V poskusih v semenskem laboratoriju KIS-a teh razlik nismo ugotovili. Tudi rezultati poljskega preizkušanja so skladni z ugotovitvami semenskega laboratorija. Od kod te razlike med rezultati laboratorijskih poskusov ni popolnoma jasno, a je za optimizacijo pogojev potrebno bolj natančno preučiti razlike v rasti v laboratorijskem merilu in na prostem, ker je večja razlika v pogojih (vlažnost, sestava prsti, svetloba itd.). Manjše razlike, a ne statistično značilne, se kažejo pri uporabi večjega reaktorja,

a zaradi drugačnega odziva med preučevanima sortama ne moremo sklepati o kakršnih zaključkih. Nakazuje se, da bi čas obdelave lahko imel potencialni vpliv na pšenico, a ker opazamo med sortama razlike v odzivu, bi bilo smiselno identificirati razloge za te razlike, kar bi pripomoglo k morebitnemu standardiziranju uporabe plazemskega tretiranja.

4.) Priprava smernic za optimizacijo parametrov plazemske obdelave semen in izbranih pridelkov

Tekom raziskav narejenih po posameznih sklopih smo podali tudi najbolj optimalne pogoje plazemske obdelave, ki smo jih opravili na laboratorijskem ali pilotnem plazemskem reaktorju. Po posameznih sklopih raziskav smo določili vplive različnih plazemskih in razelektritvenih pogojev na obdelavo semen in izbranih pridelkov. V vsakem sklopu smo podali optimalne pogoje obdelave, žal pa so ti pogoji lahko močno odvisni tako od vrste, kot tudi sorte semen ali izbranih pridelkov. Najbolj smiselna se je pri naših raziskavah izkazala uporaba plazme za odstranjevanje mikotoksinov in gliv. Pri obeh metodah je bila najbolj učinkovita uporaba nizkotlačne plazme kisika. Časi obdelave in moč plazme pa so odvisni od vrste okužb, kot tudi od hrapavosti in barve površine. Tako so rezultati na ravnih modelnih površinah pokazali popolno dekontaminacijo površine okužene s toksini že pri 3 s obdelave in nizki uporabljeni moči plazme, kar pa v realnosti nismo dosegli (na semenih koruze). Prav tako se je pri semenih ajde, ki so temnejše barve, termični vpliv plazme močnejše poznal, kot na svetlih semenih pšenice, kar posledično lahko vpliva na razgradnjo kontaminantov, kot tudi na poškodbe semen in zmanjšanje kaljivosti. V primeru, da se dekontaminacija semen uporablja za prehrano ljudi in krmo živali, vidik kaljivosti ni pomemben, vsekakor pa je v tem primeru potrebno preveriti prehransko vrednost živil. Prav tako je potrebno dodatno preučiti razpadne produkte kontaminantov po obdelavi s plazmo in njihov možen toksičen vpliv. Tekom projekta smo za vsak cilj optimizirali pogoje plazme, kar je bil v nekaterih primerih velik izziv, saj je sama optimizacija močno odvisna od vrste, sorte, kot tudi morfologije, oblike in občutljivosti semen in izbranih poljščin ter vrste okužb na površini. Po naših ocenah je dekontaminacije in odstranjevanja mikotoksinov s površine izbranih semen in poljščin z uporabo plinske plazme perspektivno področje, ki lahko bistveno zmanjša uporabo kemikalij v kmetijstvu. Poleg tega je ključen cilj projekta med drugim tudi postopno ukinjanje uporabe fungicidov v zadnjih stopnjah prehranske verige, predvsem pri pripravi živil za pakiranje. Dolgoročni cilj zdrave prehrane je namreč ničta stopnja kontaminiranosti živil na prodajnih policah za kar pa so potrebne tudi nadaljnje študije možnih toksičnih vplivov razgradnje kontaminantov na površini po plazemski obdelavi, kot tudi študije prehranske vrednosti živil.

Rezultati, zaključki in priporočila naročniku

Vodilni državi na svetu na področju plazemskega kmetijstva sta Japonska in Koreja. Hribovitost in prenaseljenost tudi približno ne omogočata zagotavljanja samooskrbe s hrano, zaradi česar obe državi pospešeno razvijata alternativne načine pridelave hrane. Uporaba plazemskih tehnologij se je posebej uveljavila v hidroponiki in aeroponiki. Plazemska obdelava semen zagotavlja hitro kaljivost, čeprav naši poljski poskusi tega niso pokazali. Koreja je pred desetletjem začela izvajati nacionalni program plazemskih tehnologij v kmetijstvu in prehranski industriji, ki vsebuje tudi razvoj zabojnikov za prevoz in skladiščenje sadja in

zelenjave. Plazma v teh zabojnikih služi za preprečevanje širitve okužb (deluje germicidno) kakor tudi prehitrega zorenja (razgrajuje etilen).

Slovenija nima celovite strategije na področju plazemskega kmetijstva, tekom naših raziskav pa smo v ospredje postavili kot potencialno zanimiv način plazemske dekontaminacije površin, kot tudi uporaba plazme za odstranjevanje mikotoksinov, ki so prav tako zdravju škodljivi. Plazemske tehnologije so bile prepoznane kot ena od ključnih omogočitvenih tehnologij v programu S4 (Slovenska strategija pametne specializacije) in so pomembna horizontalna veja Strateškega razvojnega inovacijskega partnerstva (SRIP) v Tovarnah prihodnosti. V okviru velikega projekt (Demo-piloti) je bil cilj izdelati demonstracija mobilne naprave za razkuževanje semen. Razvita mobilna naprava, ki vsebuje nizkotlačen plazemski sistem, omogoča hitro obdelavo semen koruze, pšenice in fižola. Tekom CRP projekta smo s partnerjem Interkorn d.o.o. dodelali mobilni plazemski reaktor, da je omogočal izvedbo obdelav semen v manjših količinah, ki so primerna za laboratorijsko analizo. Prav tako smo prišli do pomembnih izsledkov, ki bodo pripomogli k optimizaciji pilotnega mobilnega sistema in s tem vse bližji širši uporabi plazme za dekontaminacijo semen. Največji izziv smo v tem delu zaznali pri potrebah po analizi degradacijskih produktov, ki lahko ostanejo na površini plazemsko obdelanih semen, kot tudi pri analizah prehranske vrednosti tako obdelanih semen.

Tekom raziskav smo se dotaknili tudi področja biofortifikacije semen, kar je skupaj z učinkom dekontaminacije, kot tudi preučevanjem učinkov plazme na prehransko vrednost lahko dodaten doprinos. Sedem elementov (železo (Fe), cink (Zn), magnezij (Mg), baker (Cu), kalcij (Ca), selen (Se) in jod (I)) pogosto primanjkuje v prehrani ljudi, kar negativno vpliva na zdravje in dobro počutje več kot dveh milijard ljudi po vsem svetu (White et al., 2009). Velik napredek pri zmanjševanju podhranjenosti je bil dosežen pri povečanju koncentracij teh elementov v užitnih rastlinskih tkivih s postopkom biofortifikacije. Povečanje gostote elementov v pridelku je mogoče doseči z agronomskimi praksami, namenjenimi povečanju fitorazpoložljivosti pomanjkljivega elementa z gnojenjem tal ali s foliarno uporabo spojin, ki vsebujejo elemente, kot tudi z žlahtnjenjem rastlin in/ali transgenskimi tehnikami za razvoj rastlin z boljšo učinkovitostjo uporabe elementov. Hitrost privzema ionov iz raztopine, ki se uporablja za namakanje semen ali zrn, je odvisna od površine zrn, površinskih lastnosti, koncentracije ionov v raztopini, temperature raztopine in časa namakanja. Glede na to, da s plazemsko obdelavo bistveno povečamo hidrofilnost površin, jih najedkamo in povečamo vnost tekočin, lahko plazemska obdelava predstavlja zanimiv potencial za doseganje biofortifikacije semen, predvsem kalčkov. V članku Starič et.al, 2023 smo se dotaknili tudi te tematike in raziskali vpliv plazme na povečanje vsebnosti Zn v semenih ajde. Pokazalo se je, da je možno povečati koncentracijo Zn v kalčkih navadne ajde z namakanjem zrn v $ZnCl_2$. Vendar, kljub povečani omočljivosti zrn s hladno plazmo nismo uspeli povečati koncentracije Zn v tkivih zrn ali v kalčkih, opazili pa smo spremenjene interakcije s P, S, Cl in Mn v perikarpu, ki so bili najverjetneje posledica kemičnih modifikacij površin s plazmo. Uporabnost predobdelave s plazmo, ki ji sledi priprava zrn za biološko obogatitev kalčkov z Zn (ali drugimi bistvenimi elementi, ki jih v prehrani pogosto primanjkuje), je smiselno nadalje raziskati, saj bi ta način lahko pomembno vpliva na lastnosti živil. Predvsem zanimiva je uporaba na kalčkih, ki se vse pogostejše uporabljajo v zdravi prehrani. Študije tudi kažejo, da je ob rednem uživanju biološko obogatene izdelka mogoče opaziti merljive izboljšave zdravja in prehrane ljudi (Bouis et al., 2017).

Reference:

- Lianou, A.; Koutsoumanis, K.P.; Sofos, J.N. Organic acids and other chemical treatments for microbial decontamination of food. *Microb. Decontam. Food Ind. Nov. Methods Appl.* 2012, 592–664, doi:10.1533/9780857095756.3.592.
- Charoux, C.M.G.; Patange, A.; Lamba, S.; O'Donnell, C.P.; Tiwari, B.K.; Scannell, A.G.M. Applications of nonthermal plasma technology on safety and quality of dried food ingredients. *J. Appl. Microbiol.* 2021, 130, 325–340, doi:10.1111/JAM.14823
- Abdel-Naeem, H.H.S.; Ebaid, E.M.S.M.; Khalel, K.H.M.; Imre, K.; Morar, A.; Herman, V.; EL-Nawawi, F.A.M. Decontamination of chicken meat using dielectric barrier discharge cold plasma technology: The effect on microbial quality, physicochemical properties, topographical structure, and sensory attributes. *LWT* 2022, 165, 113739, doi:10.1016/J.LWT.2022.113739.
- Filipić, A.; Gutierrez-Aguirre, I.; Primc, G.; Mozetič, M.; Dobnik, D. Cold Plasma, a New Hope in the Field of Virus Inactivation. *Trends Biotechnol.* 2020, 38, 1278–1291.
- Afsah-Hejri, L., Hajeb, P., Ehsani, R.J. 2020. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19: 1777– 1808.
- Bennett, J.W., Klich, M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16: 497–516.
- Daou, R., Joubrane, K., Maroun, R.G., Khabbaz, L.R., Ismail, A., El Khoury, A. 2021. Mycotoxins: Factors influencing production and control strategies. *AIMS Agriculture and Food*, 6, 1: 416–447.
- Gavahian, M., Cullen, P.J. 2019. Cold Plasma as an Emerging Technique for Mycotoxin-Free Food: Efficacy, Mechanisms, and Trends. *Food Reviews International*, 36: 193–214.
- Lattanzio, V.M.T., Della Gatta, S., Suman, M., Visconti, A. 2011. Development and in-house validation of a robust and sensitive solid-phase extraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the quantitative determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, ochratoxin A, deoxynivalenol, zearalenone, T-2 and HT-2 toxins in cereal-based foods. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25: 1869–1880.
- Matumba, L., Namaumbo, S., Ngoma, T., Meleke, N., De Boevre, M., Logrieco, A.F., De Saeger, S. 2021. Five keys to prevention and control of mycotoxins in grains: A proposal. *Global Food Security*, 30: 100562.
- Misra, N.N., Yadav, B., Roopesh, M.S., Jo, C. 2019. Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 1: 106–120.
- Rasmussen, R.R., Storm, I.M.L.D., Rasmussen, P.H., Smedsgaard, J., Nielsen, K.F. 2010. Multi-mycotoxin analysis of maize silage by LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397: 765–776.
- Schenzel, J., Forrer, H.R., Vogelgsang, S., Bucheli, T.D. 2012. Development, validation and application of a multi-mycotoxin method for the analysis of whole wheat plants. *Mycotoxin Research*, 28: 135–147.

White, PJ, and Broadley, MR. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol.* (2009) 182:49–84. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x

Bouis, HE, and Saltzman, A. Improving nutrition through biofortification: a review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. *Glob Food Sec.* (2017) 12:49–58. doi: 10.1016/j.gfs.2017.01.009

Objavljeni prispevki iz projekta

Članki:

STARICH, Pia, MRAVLJE, Jure, MOZETIČ, Miran, ZAPLOTNIK, Rok, ŠETINA, Barbara, JUNKAR, Ita, VOGEL-MIKUŠ, Katarina. The influence of glow and afterglow cold plasma treatment on biochemistry, morphology, and physiology of wheat seeds. *International journal of molecular sciences.* 2022, vol. 23, iss. 13, str. 7369-1-7369-23, ilustr. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms23137369. [COBISS.SI-ID 113688835].

STARICH, Pia, GROBELNIK MLAKAR, Silva, JUNKAR, Ita. Response of two different wheat varieties to glow and afterglow oxygen plasma. *Plants.* 2021, vol. 10, no. 8, str. 1728-1-1728-13. ISSN 2223-7747. DOI: 10.3390/plants10081728. [COBISS.SI-ID 73680387]

STARICH, Pia, VOGEL-MIKUŠ, Katarina, MOZETIČ, Miran, JUNKAR, Ita. Effects of nonthermal plasma on morphology, genetics and physiology of seeds : a review. *Plants.* 2020, vol. 9, no. 12, str. 1736-1-1736-18. ISSN 2223-7747. DOI: 10.3390/plants9121736. [COBISS.SI-ID 41748739].

STARICH, Pia, KOLMANIČ, Aleš, JUNKAR, Ita, VOGEL-MIKUŠ, Katarina. Chemical alterations of grain surface by cold plasma technology : comparison of buckwheat and wheat grain responses to oxygen low-pressure plasma. *Heliyon.* Sep. 2023, vol. 9, iss. 9, [article no.] e20215, str. 1-13, ilustr. ISSN 2405-8440.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844023074236?via%3Dihub>, DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e20215. [COBISS.SI-ID 164752643]

STARICH, Pia, REMIC, Lucija, VOGEL-MIKUŠ, Katarina, JUNKAR, Ita, VAVPETIČ, Primož, KELEMEN, Mitja, PONGRAC, Paula. Exploring the potential of cold plasma treatment followed by zinc-priming for biofortification of buckwheat sprouts. *Frontiers in nutrition.* 2023, vol. 10, [article no.] 1151101, str. 1-12, ilustr. ISSN 2296-861X. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2023.1151101/full>, DOI: 10.3389/fnut.2023.1151101. [COBISS.SI-ID 151072003]

Predstavitve na znanstvenih srečanjih:

STARICH, Pia, MRAVLJE, Jure, VOGEL-MIKUŠ, Katarina, MOZETIČ, Miran, JUNKAR, Ita. Vpliv dušikove in kisikove hladne plinske plazme na kalitev semen navadne ajde = Oxygen and nitrogen cold plasma treatment of *Fagopyrum esculentum* seeds affects seed germination rate. V: HOSTNIK, Maja (ur.), KUJOVIČ, Amela (ur.), MRAVLJE, Jure (ur.). *Drugi doktorski dan Bi(o)znanosti : zbornik prispevkov* : [27. maj 2021, Biotehniška fakulteta (spletni dogodek)]. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, 2021. Str. 95-100. ISBN 978-961-6379-56-4. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=143521&lang=slv>. [COBISS.SI-ID 64991235]

STARICH, Pia, CVELBAR WEBER, Nika, RESNIK, Matic, VOGEL-MIKUS, Katarina, JUNKAR, Ita. Decontamination of drosophila suzukii infested blueberries with low-pressure cold plasma treatment. V: SICT 2022, Plasma Tech 2022, Tribology 2022, hybrid joint conferences, 27-29 April, 2022, Barcelona, Spain : book of abstracts. Barcelona: [s. n.], 2022. Str. 220, ilustr. <https://setcor.org/userfiles/files/2022/Barcelona2022/JointConferenceProgram/SICT-PlasmaTech-Tribology-2022-Joint-Hybrid-Conferences-Book-Of-Abstracts.pdf>. [COBISS.SI-ID 106620163]

STARICH, Pia, VOGEL-MIKUS, Katarina, JUNKAR, Ita. Wheat seed surface changes after cold plasma treatment. V: STOICA, Silviu-Daniel (ur.), MITU, Bogdana (ur.), DINESCU, Gheorghe (ur.). 19th International Conference on Plasma Physics and Applications [and] 1st Workshop on Plasma Applications for Smart and Sustainable Agriculture, August 31 September 03 Magurele, Bucharest, Romani. Bucharest: National Institute for Lasers, Plasma and Radiation Physics, 2021. Str. 135. Book of abstracts. ISSN 2344-0481. [COBISS.SI-ID 76564995]

JUNKAR, Ita, STARICH, Pia, RESNIK, Matic, BENČINA, Metka, GROBELNIK MLAKAR, Silva. Plasma treatment - the new emergig technology for agriculture. V: PRIMC, Gregor (ur.), VESEL, Alenka (ur.). 27. mednarodno znanstveno srečanje Vakuumska znanost in tehnika : 9.-10. september 2021, Gozd Martuljek : program in knjiga povzetkov = 27th International Scientific Meeting on Vacuum Science and Techniques : 9-10 September 2021, Gozd Martuljek : program and book of abstracts. Ljubljana: Društvo za vakuumsko tehniko Slovenije: = Slovenian Society for Vacuum Technique, 2021. Str. 50. ISBN 978-961-94431-2-5. [COBISS.SI-ID 76479235]

STARICH, Pia, VOGEL-MIKUS, Katarina, JUNKAR, Ita. Effects of nitrogen and oxygen cold plasma pretreatment on germination of buckwheat seeds. V: HORVAT, Monika (ur.), et al. Cutting Edge 2021 : scientific conference for young researchers : independent in science : Thursday, 16. 09. 21, virtual conference : book of abstracts. Ljubljana: Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2021. Str. 96. ISBN 978-961-7078-21-3. [COBISS.SI-ID 76994051]

STARICH, Pia, JUNKAR, Ita, VOGEL-MIKUS, Katarina, MOZETIČ, Miran, et al. Bio-polymers in the world of plasma : effects of cold plasma on seed surface. V: The First International Conference on "Green" Polymer Materials, 05.11.- 25.11. <https://sciforum.net/paper/view/conference/7176>. [COBISS.SI-ID 45864451]

STARICH, Pia, VAVPETIČ, Primož, VOGEL-MIKUS, Katarina, PONGRAC, Paula, JUNKAR, Ita. Cold plasma treatment of buckwheat grain decreases water contact angle and husk Ca and Mn concentrations. V: PONGRAC, Paula (ur.), STARICH, Pia (ur.). ICNMTA 2022 : 18th International Conference on Nuclear Microprobe Technology and Applications : 11.-16. September 2022, Ljubljana, Slovenia : book of abstracts. Electronic ed. Ljubljana: Jožef Stefan Institut, 2022. Str. 39. ISBN 978-961-264-230-3. <https://www.icnmta2022.org/en/default.asp>. [COBISS.SI-ID 122478851]

KOLMANIČ, Aleš, OGRAJŠEK, Simon, JAKOVAC-STRAJN, Breda, TAVČAR-KALCHER, Gabrijela, BABIČ, Janja, STARICH, Pia, RESNIK, Matic, JUNKAR, Ita. Učinkovitost uporabe hladne plazme na zmanjšanje vsebnosti mikotoksinov na koruznem zrnju = Efficacy of cold plasma at reducing mycotoxin content on maize grains. V: ČEH, Barbara (ur.), et al. Novi izzivi v agronomiji 2023 = New Challenges in Agronomy 2023 : zbornik simpozija = proceedings of symposium : [Laško, 26. in 27. januar 2023]. Laško: Slovensko

agronomsko društvo: = Slovenian Society of Agronomy, 2023. Str. 198-205, ilustr. ISBN 978-961-94613-3-4. [COBISS.SI-ID 141289731]

STARICH, Pia, VOGEL-MIKUS, Katarina, KOLMANIC, Aleš, UGRINOVIC, Kristina, JUNKAR, Ita. Uporaba plinske plazme za obdelavo semen = Gaseous plasma treatment of seeds. V: ČEH, Barbara (ur.), et al. Novi izzivi v agronomiji 2023 = New Challenges in Agronomy 2023 : program simpozija in povzetki prispevkov, ki niso objavljeni v zborniku = symposium program and summaries : [Laško, 26. in 27. januar 2023]. Laško: Slovensko agronomsko društvo: = Slovenian Society of Agronomy, 2023. 42-43, ilustr. ISBN 978-961-94613-2-7. [COBISS.SI-ID 141451267]

STARICH, Pia, JUNKAR, Ita, VOGEL-MIKUS, Katarina. Vpliv direktne in indirektne plazemske obdelave na kalivost semen navadne ajde in hidrofobnosti perikarpa = Direct and indirect plasma treatment of common buckwheat grains affects grain hydrophilicity and germination. V: HOSTNIK, Maja (ur.), et al. Četrty Doktorski dan Bi(o)znanosti? : zbornik prispevkov : [7. junij 2023, Biotehniška fakulteta]. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, 2023. Str. 27-34. ISBN 978-961-6379-79-3. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=169871&lang=sl>. [COBISS.SI-ID 154768387]

MRAVLJE, Jure, STARICH, Pia, MOZETIC, Miran, VOGEL-MIKUS, Katarina. Učinek hladne plinske plazme na kalitev in dekontaminacijo semen navadne ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench). V: HOSTNIK, Maja (ur.), KUJOVIC, Amela (ur.), MRAVLJE, Jure (ur.). Drugi doktorski dan Bi(o)znanosti : zbornik prispevkov : [27. maj 2021, Biotehniška fakulteta (spletni dogodek)]. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, 2021. Str. 88-94. ISBN 978-961-6379-56-4. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=143521&lang=slv>. [COBISS.SI-ID 66116611]

STARICH, Pia, REMIC, Lea, VOGEL-MIKUS, Katarina, JUNKAR, Ita, VAVPETIC, Primož, KELEMEN, Mitja, PONGRAC, Paula. Cold plasma pre-treatment and grain priming : zinc enhancement in buckwheat grains and sprouts. V: OGRINC, Nives (ur.), et al. 2nd ISO-FOOD Symposium From Food Source to Health : book of abstracts : Portorož, Slovenia, April 24-26, 2023. 1st ed. Ljubljana: Jožef Stefan Institute, 2023. Str. 103, ilustr. ISBN 978-961-264-268-6. [COBISS.SI-ID 151418115]

STARICH, Pia, VOGEL-MIKUS, Katarina, KOLMANIC, Aleš, UGRINOVIC, Kristina, JUNKAR, Ita. Uporaba plinske plazme za obdelavo semen = Gaseous plasma treatment of seeds. V: ČEH, Barbara (ur.), et al. Novi izzivi v agronomiji 2023 = New Challenges in Agronomy 2023 : program simpozija in povzetki prispevkov, ki niso objavljeni v zborniku = symposium program and summaries : [Laško, 26. in 27. januar 2023]. Laško: Slovensko agronomsko društvo: = Slovenian Society of Agronomy, 2023. 42-43, ilustr. ISBN 978-961-94613-2-7. [COBISS.SI-ID]

Vabljeni predavanja:

STARICH, Pia. Protocols for plasma treatment of seeds : presented at Green Plasma for Green Future, 12 Oct. 2021. https://www.linkedin.com/posts/plagri-cost-action_plagri-seeds-plasma-activity-6853646658597654528-k3xo. [COBISS.SI-ID 81378819]

MRAVLJE, Jure, REGVAR, Marjana, STARICH, Pia, ZAPLOTNIK, Rok, MOZETIC, Miran, VOGEL-MIKUS, Katarina. Low-pressure cold plasma for effective fungal decontamination of buckwheat grains. V: PANJAN, Matjaž (ur.), VESEL, Alenka (ur.). 29. mednarodno znanstveno srečanje Vakuumska znanost in tehnika : 10.-12. maj 2023, Gozd Martuljek :

program in knjiga povzetkov = 29th International Scientific Meeting on Vacuum Science and Techniques : May 10th-12th 2023, Gozd Martuljek, Slovenia : program and book of abstracts. Ljubljana: Društvo za vakuumsko tehniko Slovenije: = Slovenian Society for Vacuum Technique, 2023. Str. 16. ISBN 978-961-94431-3-2. https://www.plasmadis.com/wp/wp-content/uploads/2023/05/2023_05_29-ISMVST_AbstractBook_Program.pdf. [COBISS.SI-ID 152164867]

JUNKAR, Ita. Plasma treatment of blueberries : Round Table on Plasma and Berries, COST action 19110-PLAGRI, 13. 10. 2021. https://www.linkedin.com/posts/plagri-cost-action_plagri-plasma-berries-activity-6853646807508033536--WC4. [COBISS.SI-ID 81014787]

STARIČ, Pia, REMIC, Lucija, VAVPETIČ, Primož, KELEMEN, Mitja, VOGEL-MIKUŠ, Katarina, JUNKAR, Ita, PONGRAC, Paula. Novel combination of cold plasma and grain priming to enhance mineral composition of sprouts. V: PANJAN, Matjaž (ur.), VESEL, Alenka (ur.). 29. mednarodno znanstveno srečanje Vakuumska znanost in tehnika : 10.-12. maj 2023, Gozd Martuljek : program in knjiga povzetkov = 29th International Scientific Meeting on Vacuum Science and Techniques : May 10th-12th 2023, Gozd Martuljek, Slovenia : program and book of abstracts. Ljubljana: Društvo za vakuumsko tehniko Slovenije: = Slovenian Society for Vacuum Technique, 2023. Str. 19. ISBN 978-961-94431-3-2. https://www.plasmadis.com/wp/wp-content/uploads/2023/05/2023_05_29-ISMVST_AbstractBook_Program.pdf. [COBISS.SI-ID 152170499]

STARIČ, Pia, VOGEL-MIKUŠ, Katarina, JUNKAR, Ita. Seed surface modifications after plasma treatment. V: PRIMC, Gregor (ur.), VESEL, Alenka (ur.). 27. mednarodno znanstveno srečanje Vakuumska znanost in tehnika : 9.-10. september 2021, Gozd Martuljek : program in knjiga povzetkov = 27th International Scientific Meeting on Vacuum Science and Techniques : 9-10 September 2021, Gozd Martuljek : program and book of abstracts. Ljubljana: Društvo za vakuumsko tehniko Slovenije: = Slovenian Society for Vacuum Technique, 2021. Str. 46. ISBN 978-961-94431-2-5. [COBISS.SI-ID 76399619]

Morebitne priloge k poročilu

Ni dodatnih prilog.