



Politechnika Wrocławska

DZIEDZINA: nauki inżynieryjno-techniczne

DYSCYPLINA: inżynieria chemiczna

ROZPRAWA DOKTORSKA

Opracowanie bezpiecznych dla środowiska metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

Mgr inż. Katarzyna Dziergowska

Promotorzy:

dr hab. inż. Izabela Michalak, prof. uczelni

prof. dr hab. inż. Jerzy Detyna, prof. uczelni

Słowa kluczowe: przedsiewna stymulacja nasion, makroalgi, ekstrakt algowy, nanocząstki tlenków metali, czynniki fizyczne, kiełkowanie nasion, wzrost roślin, biosorpcja jonów

WROCŁAW 2023

Badania były prowadzone częściowo w ramach projektów OPUS pt.: „*Przyjazne dla środowiska technologie zagospodarowania biomasy wodorostów morskich na produkty użyteczne dla zrównoważonego rolnictwa oraz biosorbenty stosowane do usuwania jonów metali ciężkich ze środowiska*” (Nr 2019/33/B/NZ9/01844; 18.02.2020–17.02.2024) finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki oraz NAWA-Canaletto pt.: „*Waloryzacja biomasy odpadowej makroalg na bioprodukty przydatne dla zrównoważonego rolnictwa i środowiska*” (Nr PPN/BIT/2021/1/00004/U/00001; 01.01.2022–31.12.2023) finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej.

Składam najserdeczniejsze podziękowania moim Promotorom,
dr hab. inż. Izabeli Michalak, prof. uczelni
oraz
prof. dr hab. inż. Jerzemu Detynie
za okazaną życzliwość i wyrozumiałość,
za wszechstronną pomoc,
i za poświęcony czas.

Chciałam również serdecznie podziękować
dr hab. inż. Sylwii Lewandowskiej, prof. uczelni
za owocną współpracę nad badaniami,
za cenne porady merytoryczne
oraz życzliwe słowa.

SPIS TREŚCI

1.	Problem badawczy	6
2.	Przegląd stanu wiedzy	7
2.1.	Przedsiewna stymulacja nasion czynnikami fizycznymi	7
2.1.1.	Stałe pole magnetyczne	8
2.1.2.	Zmienne pole magnetyczne	8
2.1.3.	Ultradźwięki	9
2.2.	Makroalgi jako surowiec do wytwarzania bioproduktów do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin	9
2.2.1.	Surowiec – charakterystyka	9
2.2.2.	Technologia wytwarzania produktów na bazie alg dla rolnictwa – ekstrakty algowe	16
2.2.3.	Technologia wytwarzania produktów na bazie alg dla rolnictwa – biosynteza nanocząstek	17
2.2.4.	Zagospodarowanie pozostałości poekstrakcyjnej z makroalg w kontekście gospodarki o obiegu zamkniętym	30
2.3.	Zastosowanie czynników fizycznych i bioproduktów na bazie makroalg w rolnictwie	34
2.3.1.	Zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym ..	34
2.3.2.	Zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym	39
2.3.3.	Zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami	42
2.3.4.	Zastosowanie makroalgi <i>Cladophora glomerata</i> w rolnictwie	44
2.3.5.	Zastosowanie makroalgi <i>Enteromorpha</i> sp. (<i>Ulva</i> sp.) w rolnictwie	46
2.3.6.	Zastosowanie makroalgi <i>Sargassum</i> sp. w rolnictwie	49
2.3.7.	Zastosowanie makroalgi <i>Fucus vesiculosus</i> w rolnictwie	52
2.3.8.	Zastosowanie nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi w rolnictwie	52
2.3.9.	Jednoczesne zastosowanie czynników fizycznych i bioproduktów na bazie makroalg w rolnictwie	58
2.4.	Podsumowanie przeglądu bibliograficznego	59
3.	Cel i zakres pracy	60
4.	Materiały i metody	63
4.1.	Odczynniki i sprzęt	63
4.2.	Wybór makroalg do badań	66
4.3.	Wybór nasion do badań	67
4.4.	Wytwarzanie ekstraktu algowego metodą rozpuszczalnikową wspomaganą ultradźwiękami	69
4.5.	Biosynteza nanocząstek tlenków metali z użyciem ekstraktów algowych	70
4.6.	Zagospodarowanie biomasy odpadowej po ekstrakcji związków bioaktywnych z makroalg jako biosorbentu jonów metali ciężkich	73
4.7.	Metody analityczne	76
4.7.1.	Charakterystyka składu chemicznego makroalg	76
4.7.2.	Charakterystyka ekstraktów algowych	77
4.7.3.	Charakterystyka nanocząstek tlenków metali biosyntezowanych z użyciem ekstraktów algowych	80
4.8.	Metody stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin	82
4.8.1.	Przedsiewna stymulacja nasion stałym polem magnetycznym	84

4.8.2.	Przedsewna stymulacja nasion zmiennym polem magnetycznym	84
4.8.3.	Przedsewna stymulacja nasion ultradźwiękami.....	85
4.8.4.	Stymulacja kiełkowania nasion i wzrostu roślin ekstraktami algowymi	86
4.8.5.	Stymulacja kiełkowania nasion i wzrostu roślin biosyntezywanymi nanocząstkami tlenku cynku i tlenku miedzi.....	86
4.9.	Testy na roślinach	87
4.9.1.	Testy szalkowe/ <i>top paper</i>	87
4.9.2.	Testy <i>pleated paper</i>	92
4.9.3.	Testy <i>between paper</i>	93
4.9.4.	Testy w zestawach Phytotoxkit.....	94
4.9.5.	Testy doniczkowe	95
4.9.6.	Testy polowe	102
4.9.7.	Badanie właściwości przeciwgrzybiczych nanocząstek ZnO na nasionach..	105
4.9.8.	Pomiary biometryczne roślin	106
4.10.	Analiza statystyczna.....	108
5.	Wyniki i dyskusja	109
5.1.	Charakterystyka makroalg	109
5.1.1.	Zawartość popiołu w makroalgach	109
5.1.2.	Analiza składu chemicznego makroalg	110
5.2.	Charakterystyka ekstraktów makroalgowych	113
5.2.1.	Profil fitochemiczny ekstraktów algowych	113
5.2.2.	pH i przewodność elektryczna ekstraktów algowych.....	115
5.2.3.	Analiza wielopierwiastkowa makroalg, ekstraktów algowych i pozostałości poekstrakcyjnej.....	116
5.2.4.	Stężenie chlorków i siarczanów w ekstrakcie algowym.....	125
5.2.5.	Zawartość polifenoli w ekstraktach algowych.....	125
5.2.6.	Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów algowych	127
5.3.	Otrzymywanie i charakterystyka nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi	130
5.3.1.	Synteza nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi.....	130
5.3.2.	Widmo UV-Vis nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi.....	138
5.3.3.	Analiza wielopierwiastkowa nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi.....	139
5.3.4.	Spektroskopia fourierowska w podczerwieni nanocząstek tlenku cynku.....	143
5.3.5.	Skaningowa mikroskopia elektronowa nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi.....	145
5.3.6.	Dyfraktometria rentgenowska nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi	147
5.3.7.	Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi	148
5.4.	Testy na roślinach	155
5.4.1.	Wpływ ekstraktów z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> i <i>Enteromorpha</i> sp. oraz brunatnicy <i>Fucus vesiculosus</i> na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej	155
5.4.2.	Wpływ ekstraktu z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost łubinu wąskolistnego	158
5.4.3.	Wpływ ekstraktu z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> i nanocząstek ZnO i CuO biosyntezywanych przy użyciu tego ekstraktu na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej	165
5.4.4.	Wpływ nanocząstek ZnO biosyntezywanych przy użyciu ekstraktu z brunatnicy <i>Fucus vesiculosus</i> na kiełkowanie nasion i wzrost gorczycy białej	173

5.4.5.	Wpływ nanocząstek ZnO i CuO biosyntezyowanych przy użyciu ekstraktu z zielenicy <i>Enteromorpha</i> sp. na kiełkowanie nasion i wzrost gorzycy białej oraz zawartość cynku i miedzi w części nadziemnej roślin	178
5.4.6.	Wpływ stałego pola magnetycznego i ekstraktu z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej	183
5.4.7.	Wpływ ekstraktu z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> i stałego pola magnetycznego na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej	194
5.4.8.	Wpływ ekstraktu z brunatnicy <i>Sargassum</i> sp. i zmiennego pola magnetycznego na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi zwyczajnej.....	206
5.4.9.	Wpływ ekstraktów z krasnorostów <i>Porphyra</i> sp. i <i>Palmaria palmata</i> oraz ultradźwięków na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej.....	216
5.4.10.	Wpływ nanocząstek tlenku cynku biosyntezyowanych z użyciem ekstraktu z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> i ultradźwięków na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej oraz rozwój grzybów obecnych na powierzchni nasion.....	225
5.5.	Zagospodarowanie pozostałości poekstrakcyjnej do biosorpcji jonów Cr(III)	231
5.5.1.	Wpływ pH.....	234
5.5.2.	Wpływ stężenia początkowego jonów chromu.....	235
5.5.3.	Wpływ stężenia biosorbentu	235
5.5.4.	Wpływ rodzaju makroalgi.....	235
6.	Podsumowanie.....	237
	Spis tabel.....	242
	Spis rysunków.....	246
	Bibliografia.....	250
	Dorobek naukowy.....	294
	Załączniki	297

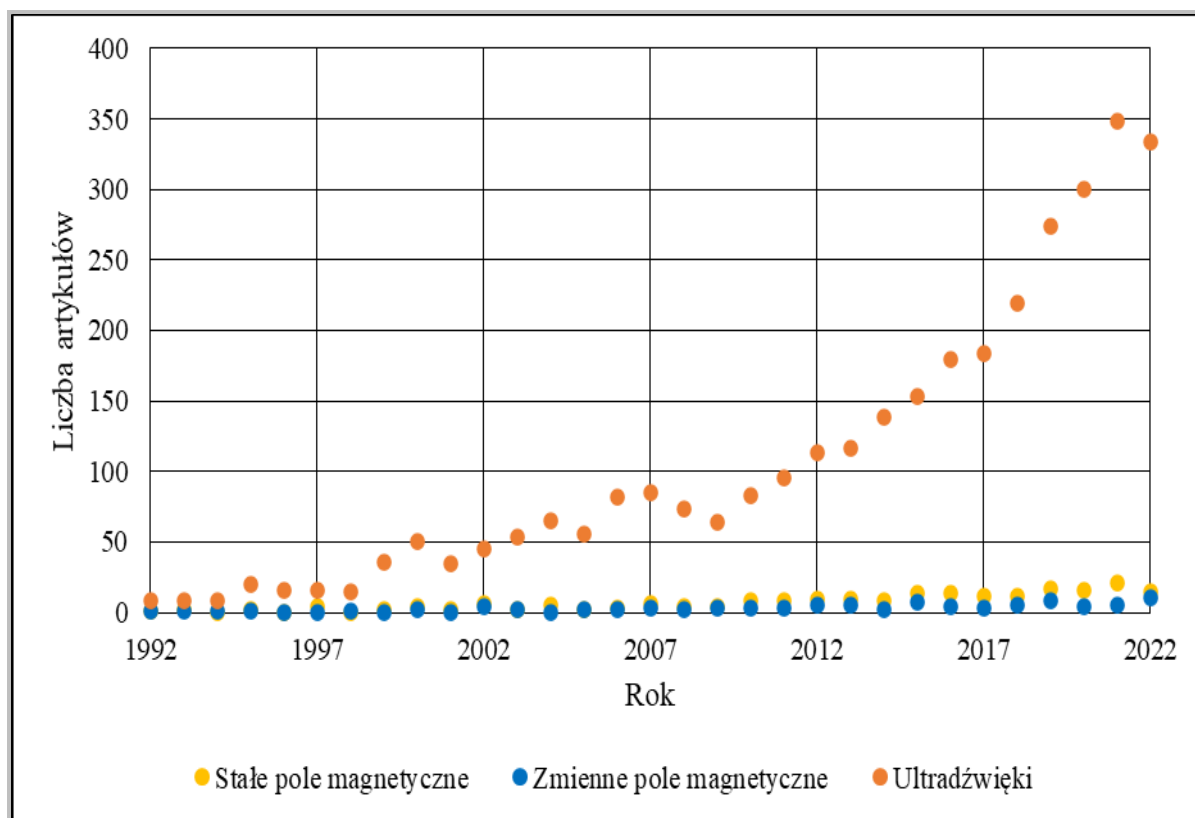
1. Problem badawczy

Zaspokojenie potrzeb żywieniowych ludności stanowi jeden z głównych problemów ekonomicznych oraz społecznych współczesnego świata. Jest to także ogromne wyzwanie dla zrównoważonej produkcji żywności [1], [2]. Proces intensyfikacji produkcji roślinnej, zapoczątkowany Zieloną Rewolucją w latach 60. XX wieku, znacznie poprawił sytuację żywnościową w krajach rozwijających się, jednak wpłynął negatywnie na środowisko. Zanieczyszczenia pochodzące z intensywnego rolnictwa (m.in. pestycydy, nawozy mineralne) doprowadziły do degradacji gleb oraz zanieczyszczeń wód podziemnych i wód powierzchniowych (w wyniku eutrofizacji) [2]–[4]. Problemy z jakimi mierzy się współczesne rolnictwo to głównie zmniejszanie się powierzchni użytków rolnych, wyczerpywanie zasobów naturalnych oraz problemy globalne, związane ze zmianami klimatycznymi (susza, katastrofy klimatyczne). Dodatkowo liczba ludzi na świecie stale wzrasta, przez co zwiększa się także zapotrzebowanie na żywność. Z tego powodu działania dążące do zaspokojenia potrzeb żywieniowych ludzkości powinny skupiać się na zwiększaniu wielkości i jakości plonów oraz ich ochronie, jednocześnie ograniczając chemizację rolnictwa. Konieczna jest produkcja większej ilości żywności na ograniczonych arealach ziemi i przy niekorzystnych warunkach atmosferycznych [2], [3], [5]. W tym celu, poszukiwane są nowe, nieszkodliwe dla środowiska metody stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin, takie jak ekstrakty z biomasy (roślinnej, algowej) [5]–[8] lub czynniki fizyczne [9]–[12]. W ramach niniejszej pracy doktorskiej zbadano wpływ pojedynczego i jednoczesnego stosowania bioproduktów na bazie makroalg (ekstraktów, nanocząstek tlenków metali syntezowanych przy użyciu ekstraktów) oraz czynników fizycznych (stałe i zmienne pole magnetyczne, ultradźwięki) na kiełkowanie nasion i parametry wzrostu roślin.

2. Przegląd stanu wiedzy

2.1. Przedsiewna stymulacja nasion czynnikami fizycznymi

Przedsiewna stymulacja nasion czynnikami fizycznymi staje się coraz bardziej popularna ze względu na próby ograniczenia chemizacji rolnictwa. Według doniesień literaturowych jest ona bezpieczna dla środowiska [13], [14]. Czynniki fizyczne stosuje się do stymulacji nasion zazwyczaj w celu zwiększenia ich zdolności kiełkowania, gdyż są one w stanie przerwać spoczynek nasion [15]. Najczęściej wykorzystywanym czynnikiem fizycznym jest pole magnetyczne (stałe lub zmienne) [13], [14], [16]–[19]. Inne często wykorzystywane czynniki to ultradźwięki [20]–[23], mikrofałe [24], [25] oraz promieniowanie podczerwone [12]. W niniejszej pracy zastosowano stałe pole magnetyczne, zmienne pole magnetyczne oraz ultradźwięki do przedsiewnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Na Rysunku 1 przedstawiono liczbę opublikowanych w ciągu ostatnich 30 lat artykułów na temat zastosowania każdego z tych czynników do stymulacji nasion według bazy Web of Science.



Rysunek 1. Liczba opublikowanych artykułów dotyczących stymulacji nasion poszczególnymi czynnikami fizycznymi. Dane zebrano za pomocą bazy Web of Science (18.03.2023)

Zainteresowanie każdym z tych czynników wzrosło, zwłaszcza w ciągu ostatnich 10 lat. Artykuły związane z wykorzystaniem ultradźwięków do stymulacji nasion pojawiały się znacznie częściej niż artykuły związane z wykorzystaniem pola magnetycznego. Wynika to z faktu, iż ultradźwięki były stosowane także m.in. do produkcji ekstraktów roślinnych do stymulacji wzrostu roślin.

2.1.1. Stałe pole magnetyczne

Pole magnetyczne stosuje się do przedświejnej stymulacji nasion głównie ze względu na to, iż umożliwia ono przerwanie spoczynku nasion. To jednak nie jedyna jego zaleta, ponieważ wpływa ono także pozytywnie na wzrost roślin, dzięki zwiększeniu stężenia przeciwutleniaczy, zmniejszeniu stresu oksydacyjnego u roślin i modulacji szlaków sygnałowych wapnia oraz prolin i poliamin, przez co obniża ono wskaźnik chorób roślin [15]. Pole magnetyczne stosuje się także do stymulacji wzrostu innych żywych organizmów, między innymi w hodowli mikroalg, dzięki czemu również w pośredni sposób może zostać zastosowane w rolnictwie do zwiększenia wzrostu alg, które następnie mogłyby zostać wykorzystane jako surowiec do wytwarzania biostymulatorów wzrostu roślin [15], [26]. Pierwsze badania dotyczące wpływu pola magnetycznego na rozwój roślin [27] oraz kiełkowanie nasion [28] zostały opublikowane już w drugiej połowie XIX wieku [14]. Jedną z najważniejszych zalet pola magnetycznego jako metody stymulacji nasion jest fakt, iż nie stanowi ono zagrożenia dla środowiska, pomimo iż zwiększa efektywność procesów fizjologicznych roślin [18]. Przy przedświejnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym brane są pod uwagę dwa parametry – indukcja magnetyczna i czas ekspozycji nasion na działanie tego pola.

2.1.2. Zmienne pole magnetyczne

Podobnie jak w przypadku stałego pola magnetycznego, przedświejną stymulację nasion zmiennym polem magnetycznym stosuje się głównie w celu przerwania ich stanu spoczynku, a przez to zwiększenie procentu kiełkowania. W przypadku zmiennego pola magnetycznego używa się zazwyczaj niższych wartości indukcji magnetycznej niż w przypadku stałego pola magnetycznego [13]. Dla tego pola oprócz indukcji magnetycznej i czasu ekspozycji nasion na jego działanie sterować można jeszcze jednym parametrem – częstotliwością. Jednak w zdecydowanej większości badań stosuje się częstotliwość napięcia sieciowego – 50 Hz [29]–[31] (m.in. w Europie) lub 60 Hz [32]–[34] (m.in. w większości krajów Ameryki Płn. i Pd.) oraz rzadziej około 16-16,6 Hz [35], [36] (częstotliwość napięcia stosowana dla potrzeb trakcyjnych w niektórych krajach), gdyż są one najbardziej dostępne.

2.1.3. Ultradźwięki

Termin ultradźwięki odnosi się do fal dźwiękowych o zakresie częstotliwości przewyższającym 20 kHz [37]. Ultradźwięki są znacznie rzadziej wykorzystywanym czynnikiem fizycznym do przedśiewnej stymulacji nasion niż pole magnetyczne. Jednak mają one duży potencjał do stymulacji kiełkowania nasion, gdyż udowodniono, że umożliwiają one zwiększenie wchłaniania wody przez nasiona. Dzieje się tak, ponieważ oscylacje ultradźwiękowe powodują rozdrobnienie okrywy nasiennej, co sprzyja uwodnieniu nasion [22], [38], również tych które były w stanie spoczynku [39]. Można zatem przypuszczać, że po zastąpieniu wody ekstraktem algowym, nasiona poddane stymulacji ultradźwiękami będą w stanie wchłonać większą ilość ekstraktu, a przez to większą ilość składników odżywczych znajdujących się w tym ekstrakcie. Dodatkowo mogą sprzyjać kiełkowaniu nasion [21], [22], [40]–[42], wzrostowi siewek [11], [40]–[42] i produkcji użytecznych związków aktywnych, takich jak flawonoidy i fenole [39]. Ponadto mogą także spowodować zmniejszenie ilości bakterii [40] i grzybów [42], [43] na powierzchni nasion – wykazują właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne. Ultradźwięki mogą również wpłynąć na strukturę ścian komórkowych i sprzyjać uwalnianiu z nich enzymów, co poprawia metabolizm nasion oraz zwiększa zawartość substancji bioaktywnych i aktywność przeciwutleniającą w nasionach [39]. Ultradźwięki zazwyczaj wykorzystuje się na etapie wstępnej obróbki nasion polegającej na umieszczeniu ich w urządzeniu wytwarzającym ultradźwięki (najczęściej w kąpeli ultradźwiękowej) oraz modyfikacji parametrów takich jak częstotliwość, moc, czas ekspozycji i temperatura, aby wpłynąć na aktywność fizjologiczną nasion. Najczęstszym mechanizmem oddziaływania ultradźwięków na nasiona jest kawitacja indukowana akustycznie (proces powstawania, wzrostu i późniejszego zapadania się pęcherzyków w odpowiedzi na wprowadzenie do cieczy fal ultradźwiękowych). Zwykle wpływ ultradźwięków na rośliny jest związany z lokalnymi oscylacjami, które wytwarzają wysoce niejednorodne pola akustyczne w komórkach [37], [39].

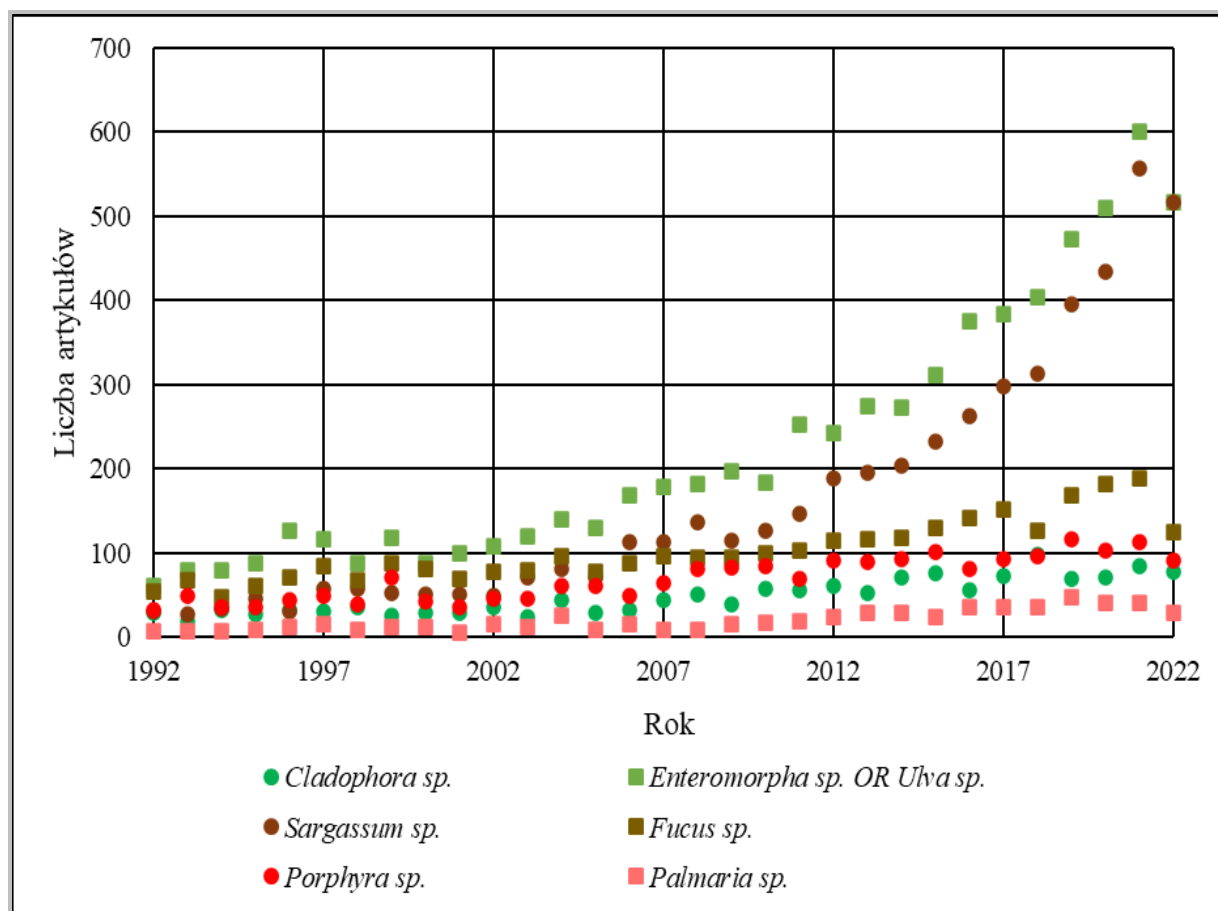
2.2. Makroalgi jako surowiec do wytwarzania bioproduktów do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

2.2.1. Surowiec – charakterystyka

Algi są najpowszechniej występującymi organizmami w środowisku wodnym (występują zarówno w środowisku morskim, jak i słodkowodnym) i bardzo zróżnicowaną grupą pod względem taksonomicznym, morfologicznym, biochemicznym i ekologicznym. Ich polska

nazwa to glony, jednak obecnie w literaturze często stosuje się nazwę algi (od łacińskiego *algae*). Wśród alg wyróżnia się mikroalgi (mikroskopowe wielkości) i makroalgi o rozmiarach od kilkudziesięciu centymetrów aż do 50 metrów [44], [45]. W przypadku makroalg morskich powszechnie używa się także nazwy wodorosty. Główne gromady makroalg to zielenice (*Chlorophyta*), brunatnice (*Phaeophyta*) i krasnorosty (*Rhodophyta*), których nazwy wywodzą się od charakterystycznych dla nich barwników, odpowiednio chlorofilu, fukoksantyny i fikoerytryny [44]. Biomasy makroalg stanowią problem środowiskowy, gdyż namnażają się na skutek eutrofizacji zbiorników wodnych [44], [46].

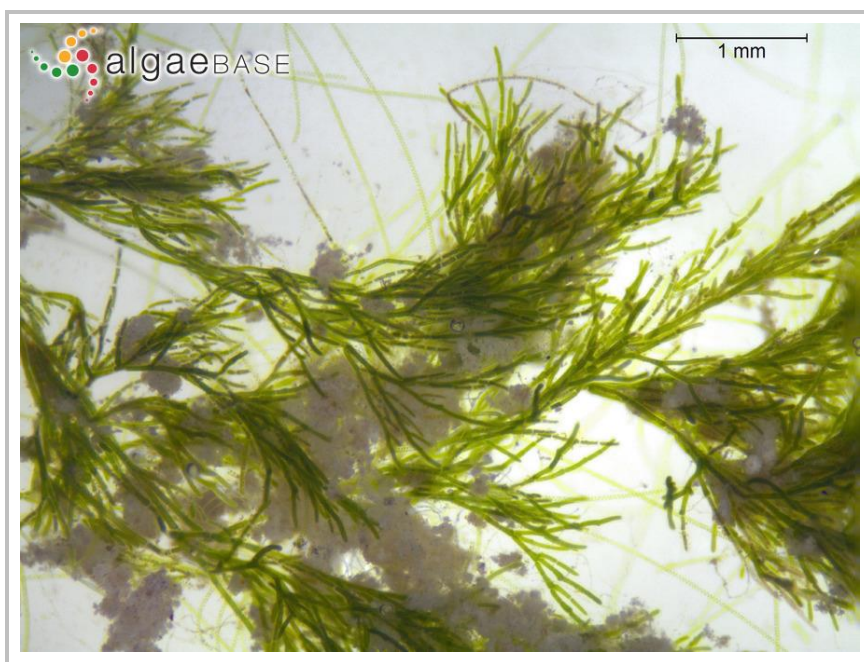
W niniejszej pracy oceniono możliwości zastosowania w rolnictwie sześciu gatunków makroalg: dwóch zielenic – słodkowodnej *Cladophora glomerata* i morskiej *Enteromorpha* sp. (syn. *Ulva* sp.), dwóch brunatnic morskich – *Sargassum* sp. i *Fucus vesiculosus* i dwóch krasnorostów morskich *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata*. Na wykresie (Rysunek 2) porównano liczbę artykułów dotyczących wybranych makroalg: *Cladophora* sp., *Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp., *Fucus* sp., *Porphyra* sp. i *Palmaria* sp. opublikowanych w ciągu ostatnich 30 lat według bazy Web of Science.



Rysunek 2. Liczba opublikowanych artykułów dotyczących poszczególnych alg.
Dane zebrano za pomocą bazy Web of Science (18.03.2023)

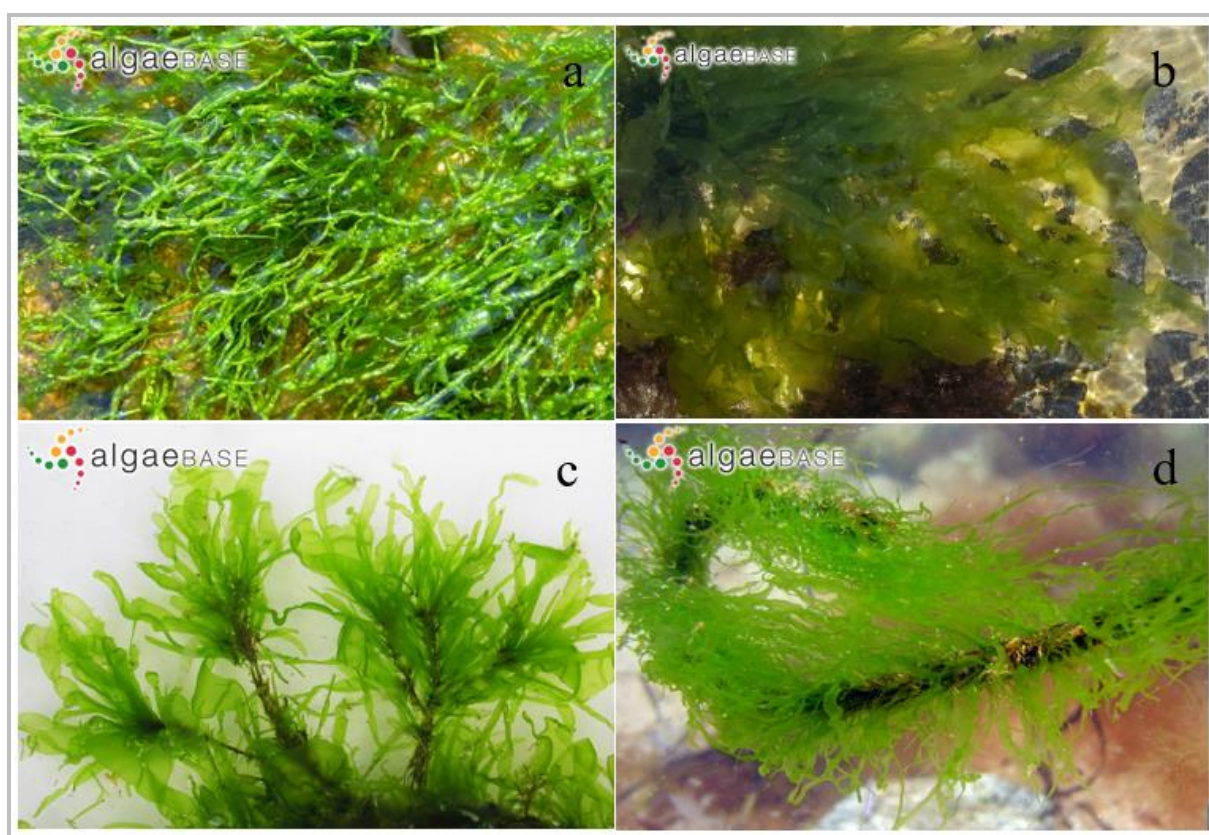
Analizując powyższy wykres można zauważyć, iż zainteresowanie makroalgami znacznie wzrosło, zwłaszcza w ciągu ostatnich 10 lat. Najczęściej badane z pośród wymienionych makroalg były *Enteromorpha* sp. oraz *Sargassum* sp., zaś najrzadziej *Palmaria* sp.

Cladophora glomerata (gałęzatka kłębiasta) (Rysunek 3) może być zarówno makroalgą morską, jak i słodkowodną. Należy ona do jednej z najczęściej występujących makroalg w polskim ekosystemie wodnym, ponieważ występuje w eutroficznych wodach słodkich [47]. Uważana jest za szkodliwą, gdyż występuje szczególnie często w miejscach silnie eutroficznych (co spowodowane jest m.in. spływającymi nawozami mineralnymi z pól, ściekami rolniczymi zawierającymi odchody z ferm zwierzęcych, dopływami ścieków z miast zawierających m.in. fosforany z detergentów oraz wodami odpadowymi z przemysłu) oraz wykazuje znaczny przyrost biomasy (nawet trzykrotny na dobę) [44]. Mimo że uważana jest za problem dla środowiska to znalazła ona zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, dzięki zawartości w jej biomacie karotenoidów, minerałów, witamin A, C, E, B1, B2, aminokwasów i białek, kwasów tłuszczowych, steroli, terpenów, węglowodanów, glikozydów, substancji lotnych, enzymów i polifenoli [47]. *Cladophora glomerata* wykorzystywana jest między innymi w rolnictwie do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin [6], [7], [12], [13], [16], [17], [48], w ochronie środowiska jako biosorbent jonów metali ciężkich (m.in. Cr(VI) [49]), jako odnawialne źródło energii (biogaz) oraz w zaawansowanych technologiach (high-tech) [46].



Rysunek 3. Przykładowe zdjęcie zielenicy *Cladophora glomerata* [50]

Rodzaj *Enteromorpha* sp. (syn. *Ulva* sp.) (Rysunek 4) zwany sałatą morską obejmuje przede wszystkim gatunki *E. prolifera*, *E. linza*, *E. compressa*, *E. intestinalis* i *E. clathrata* [51]. *Enteromorpha* sp. jest stosowana w różnych obszarach, m.in. w przemyśle spożywczym [51] oraz w rolnictwie [52], [53] do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin [6], [7], [46], [48], [52]–[64]. Jest ona także często stosowana jako biosorbent jonów metali ciężkich z roztworów wodnych, m.in. Cd(II) [65]–[69], Co(II) [70], Cr(III) [71], [72], Cr(VI) [49], [71], [73], [74], Cu(II) [65], [69], [75], Hg(II) [76], Ni(II) [65], [69], Pb(II) [65], [68], [69], [77] i Zn(II) [65], [78], [79]. Na podstawie danych przedstawionych na wykresie na Rysunku 2 można zauważyć, że jest to najczęściej badana alga spośród biomas wykorzystanych w tej pracy.



Rysunek 4. Przykładowe zdjęcia zielenic z rodzaju *Enteromorpha* sp.: a) *E. compressa* [80]; b,c) *E. linza* [81]; d) *E. flexuosa* [82]

Brunatnica *Sargassum* sp. (polska nazwa – gronorosty) (Rysunek 5) swoją nazwę zawdzięcza Morzu Sargassowemu znajdującemu się w północnej części Oceanu Atlantyckiego. Morze to mieści w sobie od 4 do 10 megaton ponad 100 gatunków tego wodorostu [83]. Jak widać na wykresie przedstawionym na Rysunku 2 alga ta jest drugą najczęściej badaną (po *Enteromorpha* sp.) ze wszystkich wykorzystanych biomas w niniejszej pracy. Makroalga *Sargassum* sp. znajduje zastosowanie jako stymulator kiełkowania nasion i wzrostu roślin [61],

[62], [84]–[97], w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym [83], do oczyszczania ścieków (jako biosorbent jonów metali ciężkich, m. in. Cd(II) [65], [98]–[101], Cr(III) [99], [102], Cr(VI) [99], [103], [104], Cu(II) [65], [75], Ni(II) [65], [101], [105], [106], Pb(II) [65], [98], [99], [101] i Zn(II) [65], [98]) [65], [75], [98]–[106]) oraz w produkcji biogazu [83].



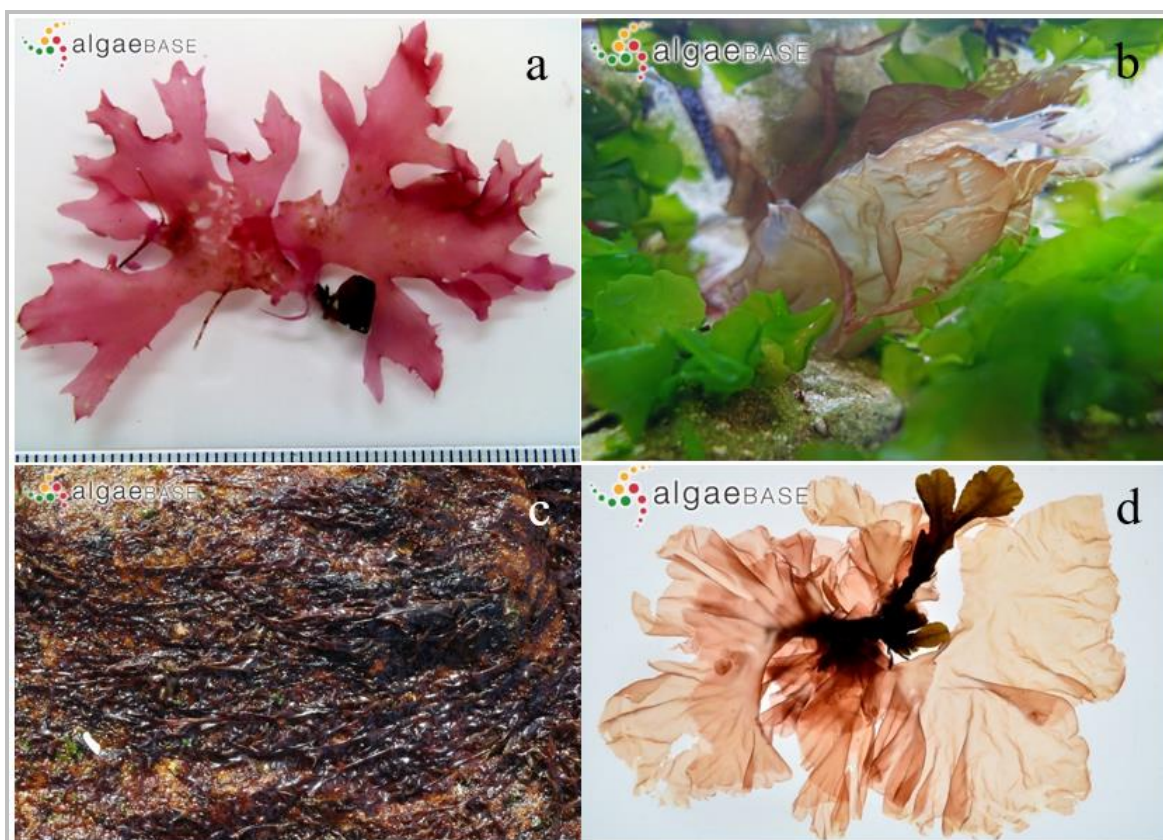
Rysunek 5. Przykładowe zdjęcia brunatnic z rodzaju *Sargassum* sp.: a) *S. muticum* [107]; b) *S. trichocarpum* [108]; c) *S. vulgare* [109]; d) *S. polyceratium* [110]

Fucus vesiculosus (morszczyn pęcherzykowaty) (Rysunek 6) jest jedną z dominujących alg na skalistym dnie Morza Bałtyckiego, tworzącą gęste „baldachimy” [111]. Ma potencjał do zastosowania w wielu gałęziach przemysłu, m.in. w przemyśle spożywczym, w farmacji, jako źródło bioenergii [111], w rolnictwie do stymulacji wzrostu roślin [111]–[113] oraz w oczyszczaniu ścieków [111], [112] z jonów metali ciężkich, m.in. Cd(II) [114]–[116], Cr(III) [71], Cr(VI) [71], Cu(II) [114], Ni(II) [115], Pb(II) [114], [115] i Zn(II) [117].



Rysunek 6. Przykładowe zdjęcie brunatnicy *Fucus vesiculosus* [118]

***Porphyra* sp.**, zwana w Polsce szkarłatnicą, (przykładowe gatunki przedstawiono na Rysunku 7) jest szeroko uprawiana w krajach Azji Wschodniej, w szczególności w Chinach, Japonii i Korei [119]. *Porphyra* sp. może być stosowana w rolnictwie, do oczyszczania ścieków, jako biosorbent jonów metali ciężkich [120]–[122] (m.in. Cr(VI) [121] i Cu(II) [122]), jednak nie opublikowano jeszcze żadnych badań na temat jej zastosowania do biostymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Posiada ona z kolei szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Od tysięcy lat była używana w medycynie chińskiej i uważana jest za skuteczny środek na takie dolegliwości jak gorączka czy flegma. Według nowszych doniesień literaturowych stosowana jest także w leczeniu nadciśnienia, zapalenia oskrzeli, zapalenia krtani, obrzęku, odry i woli. Wykazuje ona także działanie przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, przeciwstarzeniowe, przeciwzakrzepowe, przeciwhiperglikemiczne i ochronne dla wątroby [119].



Rysunek 7. Przykładowe zdjęcia krasnorostów z rodzaju *Porphyra* sp.: a) *P. laciniata* [123]; b) *P. lucasii* [124]; c) *P. saldanhae* [125]; d) *P. leucosticta* [126]

Palmaria palmata (Rysunek 8) jest krasnorostem powszechnie znanym pod nazwą *dulse* i spożywanym w wielu krajach. Pierwsze informacje dotyczące stosowania tej algi w kuchni pochodzą z V wieku [127]. Oprócz tego może ona być także wykorzystywana jako biosorbent jonów Cr(III), Cr(VI) [71] oraz Cu(II) [128]. Nie opublikowano do tej pory badań dotyczących wpływu tego krasnorostu na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.



Rysunek 8. Przykładowe zdjęcie krasnorostu *Palmaria palmata* [129]

Bioprodukty na bazie makroalg są szeroko wykorzystywane w rolnictwie i przemyśle pod wieloma postaciami. Stosuje się je zarówno w postaci suchej lub mokrej biomasy, kompostu [48], jak i ekstraktu aplikowanego doglebowo [6], [7], [17], [52], [61], [84], [91], [130], [131], donosiennie [12], [86], [89], [92], [132] lub dolistnie [61], [85], [87], [92], [97]. Oprócz tego ekstrakty algowe mogą posłużyć do biosyntezy nanocząstek metali i tlenków metali, które znajdują zastosowanie w stymulacji wzrostu roślin [133]–[135], jako dodatki paszowe dla zwierząt [136] oraz w sorpcji jonów metali ciężkich z roztworów wodnych [137], [138].

Ekstrakty algowe to podstawowa grupa biostymulatorów wzrostu roślin. Biostymulatory to ekstrakty otrzymywane z surowców organicznych zawierające związki bioaktywne. Najczęstszymi składnikami biostymulatorów są substancje humusowe, witaminy, minerały, aminokwasy, chityna, chitozan oraz poli- i oligosacharydy [139].

2.2.2. Technologia wytwarzania produktów na bazie alg dla rolnictwa – ekstrakty algowe

Proces ekstrakcji rozpuszczalnikowej w układzie ciało stałe-ciecz polega na wyekstrahowaniu związków biologicznie aktywnych z ciała stałego (w tym przypadku z makroalgi) przy użyciu rozpuszczalnika (najczęściej organicznego) [140], [141]. Proces ten jest poprzedzony odpowiednią obróbką badanej biomasy, na którą w przypadku alg składa się dokładne jej umycie zaraz po zebraniu ze środowiska naturalnego w celu pozbycia się piasku i śmieci, wysuszenie algi, mielenie i analiza sitowa. Otrzymana w ten sposób próbka jest jednorodna i cechuje się wysokim stosunkiem powierzchni do objętości [141].

Obecnie przy ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z makroalg (a także innych organizmów, np. roślin) zwraca się dużą uwagę na niestosowanie toksycznych rozpuszczalników organicznych lub agresywnych warunków ekstrakcji, które mogłyby zniszczyć związki biologicznie czynne znajdujące się w komórkach alg [140], [141]. Z tego powodu coraz częściej wybieranymi metodami są nowoczesne metody ekstrakcji, takie jak: ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (*ang.* SFE – *Supercritical Fluid Extraction*), ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana ultradźwiękami (*ang.* UAE – *Ultrasonic-Assisted Extraction*), ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana mikrofalami (*ang.* MAE – *Microwave-Assisted Extraction*), przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (*ang.* PLE – *Pressurized Liquid Extraction*) oraz ekstrakcja wspomagana enzymatycznie (*ang.* EAE – *Enzyme-Assisted Extraction*). Metody te stopniowo zastępują konwencjonalne metody ekstrakcji z wykorzystaniem rozpuszczalnika organicznego, hydrolizę kwasową oraz zasadową i metody z wykorzystaniem wody (autoklawowanie, gotowanie i homogenizację) [141].

W niniejszej pracy została zastosowana ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana ultradźwiękami. W tej metodzie fale dźwiękowe migrują przez ośrodek wywołując zmiany ciśnienia. Generowane kawitacje akustyczne zwiększają i zapadają się, przekształcając fale dźwiękowe w energię mechaniczną, co powoduje rozerwanie komórki i ściany komórkowej, a także zmniejszenie rozmiaru cząstek i zwiększenie kontaktu między rozpuszczalnikiem a wyekstrahowanymi związkami [141]–[143]. Metoda wspomagana ultradźwiękami jest prosta i opłacalna [141], [144], [145]. Innymi jej zaletami są: wysoka wydajność reakcji, możliwość stosowania dla substancji nieodpornych termicznie, niska cena sprzętu w porównaniu do pozostałych nowoczesnych metod ekstrakcji, możliwość łączenia z innymi metodami (MAE lub SFE) w celu zwiększenia wydajności ekstrakcji [144], zużycie niewielkiej ilości rozpuszczalników oraz selektywność [145].

2.2.3. Technologia wytwarzania produktów na bazie alg dla rolnictwa – biosynteza nanocząstek

Termin nanomateriał odnosi się do materiałów o rozmiarach rzędu 1-100 nm. Nanocząstki produkowane są w celu uzyskania unikalnych właściwości fizycznych i chemicznych, które wynikają z ich małego rozmiaru, kształtu, powierzchni i przewodnictwa [146]. Nanocząstki tlenków metali można otrzymywać na wiele sposobów. Podstawowy podział wyróżnia metody fizyczne (tzw. metoda „top-down”), chemiczne (tzw. metoda „bottom-up”) i biologiczne [147]–[149].

Metoda „top-down” polega na rozdrabnianiu litych materiałów do nanocząstek, czyli ich odpowiedników w skali „nano”. Odbywa się to m.in. poprzez kruszenie, mielenie w młynach kulowych oraz litografię. Metoda ta cechuje się dużymi różnicami w wielkości otrzymanych nanocząstek oraz dużą ilością zanieczyszczeń [147]–[150].

Metoda „bottom-up” polega na wzroście nanokrystalitów i jego kontrolowanym zaprzestaniu, poprzez tworzenie nanostruktur „atom po atomie”. Odbywa się to poprzez samoistne łączenie się pojedynczych atomów w tzw. klastery i ich dalszą agregację do nanocząstek. Metoda ta pozwala na uzyskanie nanocząstek o precyzyjnym rozmiarze oraz mniejszej ilości zanieczyszczeń niż w przypadku metod fizycznych [147]–[150].

W ostatnim czasie coraz większe znaczenie zaczynają zdobywać metody biologiczne, wykorzystujące naturalne produkty lub żywe organizmy, takie jak grzyby, bakterie, rośliny lub algi. Metody te cechują niższe straty energii, niższa toksyczność w porównaniu z metodami chemicznymi, precyzyjny rozmiar nanocząstek i powolna synteza [147]–[149]. W dodatku są niedrogie w porównaniu do metod tradycyjnych i bardziej przyjazne dla środowiska,

a jednocześnie można je przenieść na skalę przemysłową [147], [149]. Ponadto uważa się, iż nanomateriały syntetyzowane konwencjonalnymi metodami fizykochemicznymi są niebezpieczne dla środowiska [134], ponieważ do ich produkcji wykorzystywane są toksyczne związki, takie jak rozpuszczalniki organiczne, środki redukujące i stabilizatory [151].

Najbardziej powszechne są metody biosyntezy nanocząstek metali/ tlenków metali z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych. Podczas ich biosyntezy, jony metali pochodzące z tzw. prekursorów metali są redukowane do nanocząstek metali poprzez roślinne fitochemikalia, takie jak kwas fenolowy, polifenole, alkaloidy i terpenoidy, a także polisacharydy i białka [149]. Najczęściej stosowaną częścią rośliny do wytwarzania ekstraktów są liście [147], [152]–[170]. Rzadziej badane są ekstrakty z nasion [171]–[174], ekstrakty z owoców [155], [175] lub soków owocowych [132], [176], ekstrakty z łusek owoców [177], [178], ekstrakty ze skórek owoców [179]–[182], ekstrakty kwiatowe [183]–[187], ekstrakty z pąków kwiatów [188], [189], ekstrakty z gałęzi drzew [190], ekstrakty z kory łądyg [191]–[193], ekstrakty z cebul [157] oraz ekstrakty z korzeni [194], [195].

Poza ekstraktami roślinnymi, coraz częściej do biosyntezy nanocząstek wykorzystywane są ekstrakty algowe [134]. Wszystkie rodzaje mikro- i makroalg mogą być wykorzystywane do syntezy nanocząstek metali/ tlenków metali, dzięki obecności antyoksydantów, w szczególności polifenoli (m.in. flawonoidów) i tokoferoli oraz pigmentów (chlorofilu, karotenoidów i fikobilin), które działają jako czynniki redukujące [134], [149]. Przykładami alg wykorzystywanych do tego celu są: mikroalga *Chlorella* sp. [196]; zielenice: *Halimeda tuna* [197] oraz *Caulerpa peltata* [198]; brunatnice *Sargassum muticum* [199], [200], *Sargassum myriocystum* [198] i *Sargassum wightii* [201] oraz krasnorosty *Hypnea valencia* [198], *Corallina officinalis* [135], *Corallina mediterranea* [135] oraz *Gracilaria edulis* [202].

Biosyntezę nanocząstek z wykorzystaniem ekstraktu algowego inicjuje się poprzez mieszanie ekstraktu z prekursorem metalu w odpowiednich warunkach (temperatura, pH, czas, stężenie prekursora). Rozpoczęcie reakcji rozpoznaje się zazwyczaj dzięki zmianie koloru lub wytrąceniu osadu [134], [135], [203]. W celu potwierdzenia pojawienia się nanocząstek w roztworze zazwyczaj stosuje się spektroskopię UV-Vis [135], [203].

W ramach badań przeprowadzonych w niniejszej pracy doktorskiej skupiono się na nanocząstkach tlenku cynku oraz nanocząstkach tlenku miedzi, gdyż zarówno cynk, jak i miedź są ważnymi mikroelementami dla roślin. Dodatek nanocząstek tlenku cynku do gleby (aplikacja doglebowa/ do podłoża) może być doskonałym sposobem na uzupełnienie niedoboru tego mikroelementu [147]. Z kolei nanocząstki tlenku miedzi stosowane są w rolnictwie

w nawozach i pestycydach, ze względu na ich skuteczność w zwalczaniu patogenów, dzięki ich zdolności do silnego wiązania się ze ścianą komórkową, uwalniania jonów i indukowania nieszczelności membran [204]. Zestawienie różnych metod biologicznych wykorzystywanych do wytworzenia nanocząstek tlenku cynku oraz tlenku miedzi przedstawiono w Tabeli 1. W przedstawionym podsumowaniu uwzględniono metody, które po niewielkich modyfikacjach mogłyby zostać zastosowane do biosyntezy nanocząstek przy użyciu ekstraktów algowych.

Tabela 1. Zestawienie różnych metod biologicznych wykorzystywanych do wytworzenia nanocząstek tlenku cynku

(a) Nanocząstki ZnO						
Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
Biosynteza nanocząstek tlenku cynku z wykorzystaniem ekstraktu algowego						
<i>Caulerpa peltata/ Hypnea valencia/ Sargassum myriocystum</i>	woda/ podgrzewanie*/ 5 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 0,25, 0,5, 1, 2 mM, 95 mL	5-10 min/ 1 h, 1, 3 dni, 1, 2, 3 mies.	50, 60, 70, 80, 90, 100/ pokojowa	5, 6, 7, 8, 9, 10	[198]
<i>Chlorella</i> sp.	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 80 mL	1 h/ 25 min	58/85	-	[196]
<i>Gracilaria edulis</i>	woda/ ekstrakcja wspomagana mikrofalami/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 1 mM, 90 mL	12 h/ -	pokojowa	-	[202]
<i>Sargassum muticum</i>	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 2 mM, 10 mL	3-4 h/ -	70	-	[199]
<i>Sargassum wightii</i>	woda/ podgrzewanie*/ 5 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ , 1 mM, 95 mL	3-4 h/ -	70	-	[201]
Biosynteza nanocząstek tlenku cynku z wykorzystaniem ekstraktu roślinnego						
orzech wschodnioindyjski (<i>Albizia lebbek</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 10, 50, 100 mM, 90 mL	5 h/ -	60	4, 6, 8, 10	[191]
cebula (<i>Allium cepa</i>)/ czosnek (<i>Allium sativum</i>)/ pietruszka (<i>Petroselinum crispum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 2 g	20 min/ 12 h	60/95	-	[157]
natywna roślina z Iranu i Turcji (<i>Allium saralicum</i>)	woda/ mieszanie/ 40 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 100 mM, 10 mL	1 h w kąpeli ultradźwiękowej/ -	60	8	[152]
miodla indyjska (<i>Azadirachta indica</i>)	woda/ mieszanie/ 1 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 2000 mM, 50 mL	2 h/ -	pokojowa	dodano 50 mL 2 M NaOH	[156]
bauhinia omszona (<i>Bauhinia tomentosa</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	ZnSO ₄ , 2 mM, 80 mL	do wymieszania/ 4 dni	pokojowa	-	[165]
berberys (<i>Berberis vulgaris</i>)	80% etanol/ maceracja/ 20 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 2 g	1 h/ -	60	-	[205]

Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
kadziłowiec indyjski (<i>Boswellia ovalifoliolata</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 1 mM, 90 mL	do wymieszania	pokojowa	-	[192]
mlecza olbrzymia (<i>Calotropis gigantea</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 15 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 200 mM, 35 mL	6 h/ 12 h	pokojowa/ 60	dodano 50 mL 2 M NaOH	[154]
mlecza wyniosła (<i>Calotropis procera</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 2 g	2 h/ -	pokojowa	-	[155]
celozja srebrzysta (<i>Celosia argentea</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 15 mL	ZnSO ₄ ·7H ₂ O, 100 mM, 100 mL	2 h/ 12 h	60/ pokojowa	12	[203]
natywna roślina z Indii (<i>Ceropegia candelabrum</i>)	woda/ mieszanie/ 20 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 2 g	do uzyskania konsystencji pasty/ -	60	-	[169]
czerpnia gujańska (<i>Couroupita guianensis</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 4 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 0,25 g, 50 mL	10 min/ -	pokojowa	-	[158]
limonka (<i>Citrus aurantifolia</i>)/ grejpfrut (<i>Citrus paradisi</i>)/ pomarańcza (<i>Citrus sinensis</i>)/ pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	woda/ maceracja w podwyższonej temperaturze/ 42,5 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 2 g	1 h/ do uzyskania struktury szklatego karmelu	pokojowa/ 60	-	[180]
pomarańcza (<i>Citrus sinensis</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	ZnCl ₂ , 250 mM, 20 mL	do zmętnienia roztworu/ -	40	6	[132]
kolendra (<i>Coriandrum sativum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂	10 min/ 2 h	60-80/ pokojowa	-	[206]
wieloletnie zioło kłączone (<i>Costus pictus</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 100 mM, 50 mL	4 h/ -	80	-	[207]
kmin rzymski (<i>Cuminum cyminum</i>)	woda /mieszanie/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 0,001 mM, 100 mL	2 h/ -	70	-	[172]
kwitnąca roślina z Azji Południowo-Wschodniej i Australii (<i>Glycosmis pentaphylla</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 200 mM	1 h/ do ochłodzenia	60	-	[166]

Alga/roślina	Rozpuszczalnik/sposób ekstrakcji/objętość ekstraktu	Sól/prekursor metalu	Czas mieszania/inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
figa Roxburgh (<i>Ficus auriculata</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 100 mM, 50 mL	10 min/ 1 h	80	dodano 50 mL 0,2 M NaOH	[208]
bawełna (<i>Gossypium</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 20 mM, 50 mL	4 h/ 2 h (w kąpieli ultradźwiękowej)	pokojowa	dodano 50 mL NaOH	[171]
iksora szkarłatna (<i>Ixora coccinea</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 1 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O 500 mM, 50 mL	10 min/ 2 h	pokojowa	12	[209]
jakaranda mimozolistna (<i>Jacaranda mimosifolia</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₄ Zn·H ₂ O 100 mM, 100 mL	15 min/ 5 min (promieniowanie mikrofalowe – 1000 W, 2,45 GHz)	pokojowa	dodano 100 mL 4 M NaOH	[184]
wasak (<i>Justica abhatada</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 1 mM, 100 mL	10 min/ -	80	10	[160]
lagerstremia wspaniała (<i>Lagerstroemia speciosa</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 15g na 75 mL wody	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O 200 mM, 15 mL	do otrzymania zawiesiny	60	-	[167]
lawenda wąskolistna (<i>Lavandula vera</i>)	woda/ 10 mL	ZnSO ₄ , 1 mM, 40 mL	1 min (promieniowanie mikrofalowe, 850 W)/ -	pokojowa	-	[210]
guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 1/3 objętości roztworu soli	Zn(NO ₃) ₂ , 10 mM	4 h/ -	pokojowa	-	[211]
feronia słoniowa (<i>Limonia acidissima</i>)	woda/ mieszanie/ 5 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 95 mL	10 min/ 3 dni	80/ pokojowa	10	[161]
mango indyjskie (<i>Mangifera indica</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	Zn(NO ₃) ₂ , 100 mM, 80 mL	4 h/ 2 h	pokojowa	-	[164]
moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	90% metanol/ podgrzewanie*/ 20 mL	5 g ZnCl ₂ i 1 gNa ₂ S na 100 mL H ₂ O, 40 mL	4 h/ -	pokojowa	-	[212]
moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 0,3444-10,333 g	18 h/ -	pokojowa	-	[170]
jagodzian rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i>)	woda i etanol 2:1/ podgrzewanie*/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 100 mM, 50 mL	2 h/ -	80	-	[179]
jagodzian rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i>)	woda i etanol 2:1/ podgrzewanie*/ 10 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 100 mM, 50 mL	2 h/ 1 dzień	80/ pokojowa	-	[213]
drzewo z rodziny oliwkowatych/ (<i>Nyctanthes arbor-tristis</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 1 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ , 10 mM, 50 mL	2 h/ -	90	12	[183]

Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
bazyliia azjatycka (<i>Ocimum tenuiflorum</i>)	90% etanol/ podgrzewanie*/ 250 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 20 mM, 50 mL	10 min/ 2 h	pokojowa	dodano 2 M NaOH do zmiany koloru na jasnożółty	[159]
żeń-szeń (<i>Panax ginseng</i>)	woda /podgrzewanie*/ 30 mL	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3 mM, 100 mL	3 h/ -	70	-	[194]
partenium ambrozjowate (<i>Parthenium hysterophorus</i>)	1 – woda; 2 – metanol; 3 – etanol/ 1 – podgrzewanie*; 2 i 3 – mieszanie/ 9:1 – stosunek objętości ekstraktu do objętości soli	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, 1 mM	1 dzień/ -	pokojowa	-	[214]
palma daktylowa (<i>Phoenix dactylifera</i>)	woda/ mieszanie/ 100 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 100 mL	2 h/ -	70-80	-	[173]
palma daktylowa (<i>Phoenix dactylifera</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 200 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, 59,5 g, 100 mL; Na_2S 1 M, 200 mL	12 h/ 5 h	pokojowa/ 70	-	[215]
amla (<i>Phyllanthus emblica</i>)	metanol/ metoda Soxhleta/ 20 mL	ZnSO_4 , 14,4 g, 80 mL	do otrzymania konsystencji pasty/ -	60-80	-	[216]
amla (<i>Phyllanthus emblica</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, 200 mM, 50 mL	1 h/ -	60	-	[217]
kubańskie oregano (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, 100 mM, 30 mL	4 h/ -	80	-	[218]
granat (<i>Punica granatum</i>)	woda/ mieszanie/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, 5 g	do otrzymania konsystencji pasty/ -	60-80	-	[219]
dąb (<i>Quercus</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 30 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 g	4 h/ -	60	-	[177]
drzewo arakowe (<i>Salvadora persica</i>)	woda/ maceracja/ 50 mL	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3 mM, 50 mL	5 h/ -	80	-	[190]
szpinak (<i>Spinacia oleracea</i>)	etanol/ mieszanie/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mM	30 min /-	60	-	[153]
Juliman (<i>Suaeda aegyptiaca</i>)	woda/ 1 – podgrzewanie*; 2 – ekstrakcja wspomagana mikrofalami/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2 mM, 50 mL	3 h/ -	70	-	[168]

Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
chwast z rodziny astrowatych (<i>Tridax procumbens</i>)	metanol/ metoda Soxhleta/ 20 mL	ZnSO ₄ , 1 mM, 80 mL	2 h/ -	pokojowa	-	[220]
koniczyna łąkowa (<i>Trifolium pratense</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 30 mL	ZnO, 500 mM, 30 mL	4 h/ 1 dzień	90/30	-	[185]
pokrzywa (<i>Urtica dioica</i>)	1 – woda, 2 – etanol/ mieszanie/ 25 mL	Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, 2 g	1,5 h/ 1 h	60/100	-	[163]
Imbir (<i>Zingiber officinale</i>)	woda/ mieszanie/ 0,5 mL	Zn(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 100 mM, 50 mL	2 h/ -	-	12	[195]

* mieszanie w podwyższonej temperaturze

(b) Nanocząstki CuO						
Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
Biosynteza nanocząstek tlenku miedzi z wykorzystaniem ekstraktu algowego						
<i>Corallina officinalis/ Corallina mediterranea</i>	woda/ podgrzewanie*/ objętość taka sama jak roztworu soli	CuSO ₄ , 1 mM	10 min/ 45 min	pokojowa/ 80	-	[135]
Biosynteza nanocząstek tlenku miedzi z wykorzystaniem ekstraktu roślinnego						
kleiszce smakowite (<i>Aegle marmelos</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 1mL	CuCl ₂ , 1 mM, 100 mL	12 h/ -	pokojowa	-	[221]
bożodrzew gruczołowaty (<i>Ailanthus altissima</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ , 1-3 g, 100 mL	10 min/ 4 h	pokojowa	-	[222]
roślina tropikalna (<i>Alchornea laxiflora</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 1 mM, 80 mL	12 h/ -	pokojowa	-	[223]
czosnek (<i>Allium sativum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 1 mM, 50 mL	48 min/ -	pokojowa	-	[224]
aloes (<i>Aloe vera</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ ·H ₂ O, 5 mM, 20 mL	30 min/ 12 h	50/pokojowa	-	[225]
chlebowiec różnolistny (<i>Artocarpus heterophyllus</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 60 mL	CuSO ₄ , 5 mM, 40 mL	3 h/ 1 dzień	pokojowa	-	[226]
szparag (<i>Asparagus adscendens</i>)/ brahmi (<i>Bacopa monnieri</i>)/ bazylia (<i>Ocimum basilicum</i>)/ ashwagandha (<i>Withania somnifera</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 1 mM, 90 mL	40 min/ -	pokojowa	-	[227]
brezylka nadobna (<i>Caesalpinia pulcherrima</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	Cu(NO ₃) ₂ ·xH ₂ O, 1 mM, 100 mL	20 min (pod wpływem działania ultradźwięków)/ -	pokojowa	-	[187]
mlecza wyniosła (<i>Calotropis procera</i>)	brak rozpuszczalnika – ekstrakt otrzymano po rozcięciu łodygi/ 20 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ , 3 mM, 20 mL	1 h/ -	pokojowa	-	[228]
krzew z lasów subkontynentu indyjskiego (<i>Capparis zeylanica</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 25 mL	CuSO ₄ , 1 mM, 100 mL	24 h/ -	pokojowa	-	[229]
pantropiczna roślina z Ameryki (<i>Cassia occidentalis</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Cu(NO ₃) ₂ , 1 mM, 50 mL	4 h (promieniowanie mikrofalowe)/ -	pokojowa	-	[230]

Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
wąkrota azjatycka (<i>Centella asiatica</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 mM, 10 mL	7 min/ -	pokojowa	-	[231]
roślina winoroślatowata (<i>Cissus arnottiana</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	CuSO_4 , 10 mM, 90 mL	4 h/ -	pokojowa	-	[232]
cytron (<i>Citrus medica</i>)	brak rozpuszczalnika – ekstrakt otrzymano poprzez wyciśnięcie soku z owoców/ 1/10 objętości roztworu soli	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 mM	15 min/ -	50	-	[176]
Cytrus (<i>Citrus</i>)/ mięta (<i>Mentha</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	CuSO_4 , 10 mM, 80 mL	20 min/ 2 h	50	-	[233]
jadalny chwast (<i>Commelina nudiflora</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 mM, 90 mL	6 h/ -	45	-	[234]
palczatka cytrynowa (<i>Cymbopogon citratus</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 29% objętości całego roztworu (ekstraktu, soli i wody)	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 mM, 70% objętości całego roztworu (ekstraktu, soli i wody)	3 dni/ -	pokojowa	-	[235]
hopbush (<i>Dodonaea viscosa</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 5 mL	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 mM, 10 mL	do zmiany koloru z niebieskiego na czerwień wina/ -	50	10	[236]
drzewo z Indii i Sri Lanki (<i>Drypetes sepiaria</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 40 mL	3 h/ 5 h	70/ pokojowa	-	[237]
zioło z Indii (<i>Eclipta prostrata</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, 3 mM, 80 mL	2 h/ 1 dzień	pokojowa	-	[238]
eichornia gruboogonkowa (<i>Eichhornia crassipes</i>)	brak rozpuszczalnika – ekstrakt otrzymano poprzez zmielenie kwiatów/ 100 mL	CuSO_4 , 20 mM, 100 mL	2 dni/ -	pokojowa	-	[186]

Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
eukaliptus (<i>Eucalyptus globules</i>)/ bazylia azjatycka (<i>Ocimum tenuiflorum</i>)/ amla (<i>Phyllanthus emblica</i>)/ gujawa (<i>Psidium guajava</i>)/ granat (<i>Punica granatum</i>)/ rącznik pospolity (<i>Ricinus communis</i>)/ aksamitka (<i>Tagetes sp.</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	CuSO ₄ , 1, 5, 10, 20 mM, 100 mL	30-60 min/ 12 h	pokojowa	-	[239]
wilczomlecz (<i>Euphorbia esula</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	CuCl ₂ ·2H ₂ O, 5 mM, 10 mL	20 min/ -	pokojowa	-	[240]
sierpnica (<i>Falcaria vulgaris</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	CuSO ₄ 40 mM, N ₂ H ₄ 1000 mM, C ₆ H ₈ O ₆ 1 mM	1 h/ -	pokojowa	12	[241]
kumkwat (<i>Fortunella japonica</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 20 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 25 mM, 100 mL	5 min/ 1 h	90	10	[175]
mangostan (<i>Garcinia mangostana</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 5 mL	Cu(NO ₃) ₂ , 1 mM, 95 mL	1 h/ -	70	-	[242]
gurmar (<i>Gymnema sylvestre</i>)	1 – woda; 2 – metanol/ metoda Soxhleta/ 25 mL	CuSO ₄ , 0,01 mM, 100 mL	1 dzień/ -	pokojowa	-	[243]
helikonia papuzia (<i>Heliconia psittacorum</i>)	woda/ mieszanie /100 mL	CuSO ₄ , 20 mM, 100 mL	1 dzień/ -	25	-	[244]
ślaz dziki (<i>Malva sylvestris</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	CuCl ₂ ·2H ₂ O, 1-4 mM, 400 mL	2 min/ -	80	dodawano 1 M NaOH do wytrącenia się brązowego osadu	[245]
przepękla ogórkowata (<i>Momordica charantia</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 25 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 100 mM, 75 mL	3 h/ -	60	-	[246]

Alga/ Roślina	Rozpuszczalnik/ Sposób ekstrakcji/ Objętość ekstraktu	Sól/ Prekursor metalu	Czas mieszania/ Czas inkubacji	Temperatura mieszania/inkubacji [°C]	pH	Źródło
bergera koenigii (<i>Murraya koenigii</i>)	woda/ metoda Soxhleta/ 1 mL	CuSO ₄ , 5 mM, 10 mL	1 h/ -	pokojowa	12	[247]
oleander (<i>Nerium oleander</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 100 mL	CuSO ₄ , 1 mM, 100 mL	2 h/ -	70	-	[138]
bazylia (<i>Ocimum basilicum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 1 mM, 100 mL	4 h/ 15 h	pokojowa	-	[248]
bazylia azjatycka (<i>Ocimum sanctum</i>)	metanol/ mieszanie/ 15 mL	CuSO ₄ , 1 mM, 100 mL	10 min/ -	pokojowa	-	[249]
bazylia azjatycka (<i>Ocimum sanctum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 25 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 1 mM, 100 mL	1 dzień/ -	31	-	[250]
bazylia azjatycka (<i>Ocimum sanctum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	CuSO ₄ , 1 mM, 50 mL	2 min/ 12 h	30/ pokojowa	-	[251]
roślina z tropikalnej Azji (<i>Ormocarpum cochinchinense</i>)	etanol/ metoda Soxhleta/ 50 mL	CuCl ₂ , 0,003 mM, 50 mL	3 h/ -	60	-	[252]
pieprz (<i>Piper nigrum</i>)	woda/ maceracja w podwyższonej temperaturze/ 20 mL	CuSO ₄ ·5H ₂ O, 1 mM, 80 mL	1 – 3 h/-; 2 – 2 min (promieniowanie mikrofalowe, 900 W)/ -	pokojowa	-	[174]
granat (<i>Punica granatum</i>)	metanol/ metoda Soxhleta/ 50 mL	CuSO ₄ , 50 mM, 50 mL	10 min/ 4 h	80/ 40	-	[181]
granat (<i>Punica granatum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 400 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ , 2,8 g, 500 mL	5 min/ 10 min	pokojowa	-	[182]
czapetka pachnąca (<i>Syzygium aromaticum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 10 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ , 1 mM, 50 mL	15 min/ -	30	-	[188]
czapetka pachnąca (<i>Syzygium aromaticum</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 25 mL	Cu(NO ₃) ₂ , 100 mM, 20 mL	30 min/ -	60-70	14	[189]
migdałecznik (<i>Terminalia arjuna</i>)	woda/ ekstrakcja wspomagana mikrofalami/ 10 mL	Cu(NO ₃) ₂ , 1 mM, 50 mL	8 min (w mikrofalach)/ -	pokojowa	-	[193]
chwast z rodziny astrowatych (<i>Tridax procumbens</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 25 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ , 1 mM, 75 mL	3 h/ -	pokojowa	-	[253]
kukurydza (<i>Zea mays</i>)	woda/ podgrzewanie*/ 50 mL	Cu(CH ₃ COO) ₂ ·H ₂ O, 2,25 g	3 min/ 2 h	pokojowa/ 60-70	-	[178]

* mieszanie w podwyższonej temperaturze

Porównując metody biosyntezy nanocząstek tlenku cynku przedstawione w Tabeli 1a można zauważyć, że do wytworzenia ekstraktów algowych oraz roślinnych najczęściej wykorzystywane były tradycyjne metody ekstrakcji, takie jak maceracja (np. [180], [190], [205]), mieszanie (np. [152], [156], [169]), mieszanie w podwyższonej temperaturze (np. [196], [198], [199]) oraz ekstrakcja w aparacie Soxhleta (np. [216], [220]). Tylko w dwóch publikacjach została zastosowana jedna z nowoczesnych metod – ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana mikrofalami [168], [202]. Najczęściej stosowanym rozpuszczalnikiem była woda (np. [196], [198], [199]), jednak stosowano także alkohol metylowy (metanol) (sam [214] i po wymieszaniu z wodą [212]) oraz alkohol etylowy (etanol) (sam [153], [163], [214] i po wymieszaniu z wodą [179], [205], [213]). Objętość ekstraktu używanego do biosyntezy wahała się od 0,5 [195] do 250 mL [159], zazwyczaj jednak było to w granicach od 10 do 100 mL (np. [155], [199], [202]). Najczęściej stosowanymi solami były $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (np. [152], [157], [191]), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (np. [190], [194], [203]) oraz $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (np. [156], [196], [199]). Stężenia soli zazwyczaj nie przekraczały 200 mM (np. [154], [191], [201]), ale pojawiały się także wyższe, aż do 2 M [156]. Czas mieszania i inkubacji wahał się od 1 minuty [210] do 6 miesięcy [198], jednak najczęściej były to 2 godziny (np. [155], [156], [172]). Niektórzy autorzy wykorzystali na tym etapie mikrofałę [184], [210] lub ultradźwięki [152], [171], aby zwiększyć wydajność syntezy. Najczęściej stosowaną temperaturą było 60 °C (np. [152], [157], [191]), ale wiele z przedstawionych procesów biosyntezy było prowadzonych w temperaturze pokojowej (np. [156], [165], [202]). W większości artykułów nie dokonywano korekty pH mieszaniny (np. [196], [199], [202]), jednak w niektórych publikacjach wykazano, że zwiększenie pH wpływa korzystnie na wydajność syntezy (np. [191], [198]).

Porównując metody biosyntezy nanocząstek tlenku miedzi przedstawione w Tabeli 1b można zauważyć, iż podobnie jak w przypadku nanocząstek tlenku cynku najczęściej wykorzystywano tradycyjne metody ekstrakcji związków aktywnych z biomasy – macerację [174], mieszanie [244], [249], mieszanie w podwyższonej temperaturze (np. [135], [221], [222]) lub ekstrakcję z wykorzystaniem aparatu Soxhleta (np. [243], [247], [252]). Tylko w jednej publikacji zastosowano jedną z nowoczesnych metod ekstrakcji – ekstrakcję wspomaganą mikrofalami [193]. Jako rozpuszczalnik wykorzystywano zazwyczaj wodę (np. [135], [221], [222]), ale pojawiły się też publikacje, w których wykorzystano metanol [181], [243], [249], etanol [252] lub nie wykorzystano żadnego rozpuszczalnika [176], [186], [228]. Najczęściej wykorzystywanymi solami były $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (np. [178], [225],

[237]), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (np. [223], [224], [227]) i $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (np. [237]). Stężenia zastosowanych soli były w tym przypadku niższe niż dla nanocząstek tlenku cynku, zazwyczaj nie przekraczały one 100 mM (np. [135], [232], [246]). Czas mieszania/inkubacji wahał się od 2 min [245] do 3 dni [235]. Proces biosyntezy prowadzony był najczęściej w temperaturze pokojowej (np. [221]–[223]). W większości publikacji nie dokonywano korekty pH (np. [135], [221], [222]), natomiast w niektórych wykazano, że zwiększenie pH do 10–14 umożliwiło zajście lub zwiększenie biosyntezy (np. [189], [236], [241]).

2.2.4. Zagospodarowanie pozostałości poekstrakcyjnej z makroalg w kontekście gospodarki o obiegu zamkniętym

Podczas ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z makroalg oprócz ekstraktu otrzymywana jest także pozostałość poekstrakcyjna. Uznawana jest za odpad, który pozostaje niewykorzystywany przez większość badaczy. Jednak według niektórych badań może być ona wartościowym dodatkiem doglebowym lub biosorbentem [73], [254]–[260]. W ramach niniejszej pracy doktorskiej zaproponowano wykorzystanie pozostałości poekstrakcyjnej jako biosorbentu do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych. Do tej pory powstało wiele badań dotyczących wykorzystania samych makroalg w procesie biosorpcji jonów metali (Załącznik 1), ale pojawiły się także publikacje dotyczące wykorzystania w tym samym celu pozostałości po ekstrakcji różnych związków z alg, m.in. alginianu, agaru i olejów (Załącznik 2).

Procesami biosorpcji nazywa się procesy adsorpcji oparte na wykorzystaniu adsorbentów pochodzenia naturalnego. Biosorpcja to odwracalny proces wiązania jonów (kationów lub anionów) do grup funkcyjnych znajdujących się na powierzchni biomasy. Kinetyka procesu biosorpcji opisuje zależność pomiędzy ilością adsorbentu (w tym przypadku jonów metali ciężkich) zaadsorbowanego na biosorbencie, określaną jako pojemność biosorpcyjna, a czasem kontaktu. Statyka procesu biosorpcji pozwala na wyznaczenie maksymalnej pojemności biosorpcyjnej danego biosorbentu. Głównym zastosowaniem procesu biosorpcji jest oczyszczanie roztworów wodnych (ścieków) z jonów metali ciężkich oraz produkcja biologicznych dodatków paszowych z mikroelementami [261]–[264].

Ścieki przemysłowe zawierające jony metali ciężkich stanowią w obecnych czasach istotny problemem dla środowiska. Jony te mogą być toksyczne i stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego i całego środowiska. Wśród wielu istniejących metod usuwania jonów metali ze ścieków, biosorpcja jest atrakcyjną i przyjazną dla środowiska opcją. Stosowane w tym procesie biosorbenty są tanie, łatwo dostępne i łatwe do regeneracji. Biomasa makroalg

jest bardzo interesująca jako biosorbent, biorąc pod uwagę obfitość makroalg oraz łatwość w ich przygotowaniu do procesu sorpcji.

Obecnie najczęściej stosowanymi metodami usuwania jonów metali ciężkich ze ścieków są: wytrącanie chemiczne, wymiana jonowa, filtracja membranowa, flokulacja, techniki elektrochemiczne oraz oparte na nich różne metody kombinowane [265], [266]. Chociaż większość z tych metod ma wiele wad: niską skuteczność (szczególnie gdy są stosowane do usuwania niskich stężeń jonów metali ciężkich z dużych objętości ścieków), niską selektywność, wysokie zużycie odczynników chemicznych i energii, generują duże ilości osadów ściekowych (które z kolei stanowią zagrożenie dla środowiska), to nadal są one wykorzystywane na skalę przemysłową do oczyszczania ścieków. Z tego powodu opracowywanie nowych, bardziej efektywnych ekonomicznie i ekologicznie metod, jest wciąż aktualnym zagadnieniem, szczególnie ważnym z praktycznego punktu widzenia.

Metale ciężkie to pojęcie określające metale i półmetale charakteryzujące się dużą gęstością. Nie ulegają one biodegradacji i mogą powodować zanieczyszczenie środowiska. Typowymi metalami ciężkimi niebezpiecznymi dla środowiska są arsen [267], kadm, rtęć, ołów i chrom sześciowartościowy [268]. Biosorpcję stosuje się także do usuwania innych jonów metali ciężkich, które w niskich dawkach są niezbędnymi mikroelementami, ale w wyższych stężeniach są toksyczne dla organizmu człowieka. Zalicza się do nich chrom trójwartościowy, kobalt, miedź, nikiel, srebro oraz cynk. Do metali ciężkich zaliczane są także wszystkie lantanowce i aktynowce [268].

Na podstawie danych zebranych w Załączniku 1 można stwierdzić, że do biosorpcji jonów metali ciężkich częściej wykorzystywane i z większą skutecznością są brunatnice niż zielenice i krasnorosty. Brunatnice są bardziej efektywnymi biosorbentami ze względu na wysoką zawartość polisacharydów w ścianie komórkowej, takich jak: alginian sodu i fukoidan. Związki te posiadają grupy funkcyjne (m.in. hydroksylowe i karboksylowe), które stanowią miejsca wiązania jonów metali podczas procesu biosorpcji [269]–[271]. Natomiast za wysoką skuteczność krasnorostów w usuwaniu jonów metali ciężkich z roztworów wodnych odpowiada obecność agaru i karagenu, w porównaniu z zielenicami, które posiadają w ścianach komórkowych jedynie ulwan [122], [269]. Jednak stosowanie brunatnic i krasnorostów jako biosorbentów ma również istotną wadę, a mianowicie uwalnianie znacznej ilości barwnych pigmentów, które są odpowiedzialne za wtórne zanieczyszczenie oczyszczonych ścieków wodnych [104]. W przypadku zielenic wtórne zanieczyszczenie jest nieznaczne [272].

W celu pełnego scharakteryzowania właściwości biosorpcyjnych danego biosorbentu (np. makroalgi, pozostałości poekstrakcyjnej), wymagane jest przeprowadzenie szczegółowych eksperymentów. Wyznaczenie maksymalnej zdolności biosorpcyjnej wymaga doboru optymalnych warunków eksperymentalnych, takich jak pH, stężenie biosorbentu, początkowe stężenie jonów metali, temperatura oraz czas kontaktu. Wartość pH roztworu zawierającego jony metali jest jednym z najważniejszych parametrów w przypadku biosorpcji, ponieważ wpływa na uprotonowanie grup funkcyjnych znajdujących się na powierzchni ściany komórkowej, do których wiązane są jony metali [273]. Z danych zebranych w Załączniku 1 wynika, że proces biosorpcji stosuje się do usuwania jonów metali, których stężenie w roztworze zwykle nie przekracza 500 mg/L. W większości przypadków, proces prowadzony jest w temperaturze pokojowej, dzięki czemu koszty związane z nim nie są wysokie. Ważnym elementem jest również rodzaj wybranej makroalgi oraz miejsce jej pochodzenia. Makroalgi mogą być uniwersalnym sorbentem stosowanym na całym świecie.

Na podstawie danych przedstawionych w Załączniku 1 można stwierdzić, iż najczęściej badano (w kontekście biosorpcji przez makroalgi) jony metali ciężkich, takie jak: kadm, ołów, nikiel, chrom, cynk i miedź. Rzadziej analizowane były jony kobaltu i arsenu. Istnieją również pojedyncze badania dotyczące biosorpcji ceru, rtęci, lantanu, selenu i uranu. Generalnie najczęściej badanymi makroalgami były brunatnice, zwłaszcza *Fucus* sp. i *Sargassum* sp.. Na drugim miejscu znalazły się zielenice (w szczególności *Cladophora* sp. i *Ulva* sp.).

Chociaż biosorpcja od dziesięcioleci uważana jest za jedną z najbardziej obiecujących metod usuwania jonów metali ciężkich ze ścieków, nadal istnieją problemy, które uniemożliwiają jej zastosowanie na skalę przemysłową. Jednym z nich jest zagospodarowanie biosorbentów wzbogaconych w jony metali ciężkich, które otrzymujemy w tym procesie. Obecnie istnieje kilka rozwiązań pozwalających na waloryzację biosorbentów wzbogaconych w jony metali ciężkich. Najbardziej popularne to regeneracja (desorpcja) i ponowne wykorzystanie biosorbentów w wielu cyklach biosorpcji; piroliza biosorbentów w ściśle określonych warunkach [274]; szybkie i proste spalanie w stosunkowo niskiej temperaturze (poniżej 400 °C) w celu wytworzenia popiołu danego metalu [275]; stosowanie wzbogaconych biosorbentów jako nawozu dla gleb ubogich w mikroelementy [274]; lub wykorzystanie biomasy wzbogaconej jonami metali (zwłaszcza jonami miedzi, cynku lub manganu) jako dodatków paszowych [276], [277].

Ciekawym podejściem jest połączenie właściwości sorpcyjnych alg i ich zastosowanie w rolnictwie [72]. Wzbogacona w mikroelementy biomasa może być stosowana jako dodatek

doglebowy poprawiający jakość gleby oraz dostarczający roślinom łatwo przyswajalnych składników odżywczych. Dotyczy to głównie jonów takich jak: Cu(II), Zn(II), Ni(II), Co(II), Mn(II) i Mo(VI). Podejście to można zastosować dla biosorbentów takich jak odpady rolnicze, algi, odpady drzewne, torf i osady pofermentacyjne, ponieważ są one dostępne w dużych ilościach, są łatwe w przygotowaniu i mają duże zdolności biosorpcyjne. Co więcej, biomasa ta jest łatwo rozkładana w glebie i ma wysoką zawartość materii organicznej oraz innych składników odżywczych, które są również uwalniane do gleby podczas jej degradacji [274]. Według Bădescu i in. [78] makroalga *Ulva* sp. wzbogacona w jony Zn(II), ponad czterokrotnie zwiększyła zawartość cynku w swoim składzie po 8 tygodniach prowadzenia procesu biosorpcji. Sprawia to, że algi morskie wzbogacone w jony Zn(II) podczas procesu biosorpcji mogą być realną alternatywą dla nawozów w kwestii poprawy jakości gleby.

Makroalgi są już dość często stosowane do biosorpcji jonów metali ciężkich, natomiast znacznie rzadziej w tym celu wykorzystywana jest pozostałość po ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z makroalg. Stosowanie pozostałości poekstrakcyjnej zamiast samej makroalgi, pozwala na wyeliminowanie ryzyka wtórnego zanieczyszczenia roztworu oczyszczanego z jonów metali ciężkich, gdyż większość łatwo ekstrahowanych związków organicznych (takich jak pigmenty, alginian, agar, oleje itp.) nie znajduje się już w składzie tej pozostałości. Porównanie zdolności pozostałości poekstrakcyjnych uzyskanych z różnych makroalg do biosorpcji różnych jonów metali ciężkich przedstawiono w Załączniku 2. Na podstawie informacji zebranych w Załączniku 2 można zauważyć, że pojemność biosorpcyjna w stosunku do badanych jonów metali jest zazwyczaj niższa w przypadku stosowania pozostałości poekstrakcyjnej, w porównaniu z samymi makroalgami. Jednak badań na ten temat jest znacznie mniej i z pewnością będzie on bardziej eksplorowany w przyszłości. Biomasa brunatnic i krasnorostów jest coraz częściej wykorzystywana do ekstrakcji polisacharydów, takich jak alginian oraz agar, które znajdują zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, biomedycznym. Obecnie większość publikacji na temat zastosowania pozostałości po ekstrakcji związków organicznych z makroalg jako biosorbentów dotyczy biosorpcji jonów kadmu [73], [254]–[256], [258], miedzi [254], [255], [257], [259] i ołowiu [73], [254], [255], [260], ale są także pojedyncze badania na temat srebra [254], kobaltu [73], chromu (III) [254], manganu [255], niklu [254] i cynku [254].

2.3. Zastosowanie czynników fizycznych i bioproduktów na bazie makroalg w rolnictwie

2.3.1. Zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym

Większość badań na temat przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym prowadzonych jest w warunkach laboratoryjnych (np. [278]–[280]), jednak przeprowadzono także badania polowe na nasionach ciecierzycy, kukurydzy, pszenicy i soi (np. [278], [281]–[283]). Do tej pory pole magnetyczne było wykorzystywane do przedsiewnej stymulacji głównie nasion z rodziny bobowatych, takich jak soja (np. [283]–[285]), fasola (np. [280], [286], [287]) czy ciecierzycy (np. [278], [279]). Czasy stymulacji są bardzo różne i wahają się od kilku sekund [222], [288] do tygodnia [289]. Najczęściej wykorzystywane wartości indukcji magnetycznej mieszczą się w zakresie 100-200 mT (np. [19], [279], [290]), ale wykorzystywane było także pole o indukcji aż 10 T [291]. Naukowcy wykazali, że przesiewna stymulacja nasion stałym polem magnetycznym jest w stanie poprawić nie tylko parametry kiełkowania nasion (np. [278]–[280]) i wzrostu roślin (np. [278], [279], [289]), ale także zniwelować efekty stresu abiotycznego (np. wysokiego zasolenia [18], [19], [279], [292], [293], suszy [10], promieniowania UV [294], obecności metali ciężkich w glebie, w tym kadmu [287]). Podsumowanie przeprowadzonych do tej pory badań dotyczących zastosowania zmiennego pola magnetycznego do przedsiewnej stymulacji nasion przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Wpływ przedśiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym na kiełkowanie nasion i wzrost roślin

Indukcja magnetyczna [mT]	Czas ekspozycji	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
50-250	1-4 h	ciecierzyca (<i>Cicer arietinum</i>)	istotne zwiększenie szybkości kiełkowania nasion, długości i suchej masy siewek w przypadku badań laboratoryjnych; najlepsze rezultaty uzyskano przy zastosowaniu pola o indukcji 50 mT przez 2 h, 100 mT przez 1 h i 150 mT przez 2 h; zwiększenie suchej masy 1-miesięcznych roślin oraz długości, powierzchni i objętości korzeni w warunkach polowych (L, P)	[278]
100	1 h	ciecierzyca (<i>Cicer arietinum</i>)	zwiększenie szybkości kiełkowania nasion i wzrostu korzenia i łodygi, większy pobór wody przez rośliny, zwiększenie aktywności α -amylazy i proteazy w warunkach stresu solnego i w warunkach normalnych (L)	[279]
60; 116; 168; 200	1 h	fasola (<i>Phaseolus</i>)	pozytywny wpływ (przy wszystkich wartościach indukcji magnetycznej) na szybkość i proces kiełkowania nasion (L)	[280]
87-226	100 min	fasola (<i>Phaseolus</i>)	wzrost szybkości kiełkowania oraz pochłaniania wody przez nasiona wraz ze wzrostem indukcji magnetycznej (L)	[286]
400; 600; 800; 1000	16; 18; 20; 22; 27 h	fasola (<i>Phaseolus</i>)	zwiększenie wzrostu roślin, obecności pigmentów fotosyntetycznych oraz tempa fotosyntezy w warunkach stresu abiotycznego (obecność kadmu) i w warunkach normalnych (L)	[287]
4; 7	7 dni	fasola (<i>Phaseolus</i>)/ pszenica (<i>Triticum</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion i wzrostu siewek; najkorzystniejsze wyniki przy 7 mT; zwiększenie suchej masy korzeni i łodyg dla obu roślin (w przypadku pszenicy otrzymano różnice istotne statystycznie) (L)	[289]
60	b.d.	groch (<i>Pisum</i>)/ jabłoń (<i>Malus</i>)/ morela (<i>Prunus armeniaca</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion wszystkich roślin (L)	[295]
180	b.d.	jęczmień (<i>Hordeum</i>)	przyspieszenie kiełkowania nasion (L)	[296]
35	b.d.	jęczmień (<i>Hordeum</i>)	zwiększenie kiełkowania nasion zarówno w warunkach stresu solnego, jak i w warunkach normalnych (L)	[293]
125	1; 10; 20 min; 1; 24 h	jęczmień (<i>Hordeum</i>)	pozytywny wpływ na długość i masę łodygi (L)	[297]
150	b.d.	jęczmień (<i>Hordeum</i>)/ pszenica (<i>Triticum</i>)	zwiększenie szybkości kiełkowania nasion i aktywności α -amylazy (L)	[290]
200	1 h	kukurydza (<i>Zea mays</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion, wzrostu siewek oraz aktywności α -amylazy i proteazy w porównaniu z grupą kontrolną, zniwelowanie skutków stresu solnego (L)	[19]
50; 100; 150; 200; 250	1; 2; 3; 4 h	kukurydza (<i>Zea mays</i>)	badania laboratoryjne wykazały, że stymulacja polem o indukcji 200 mT przez 1 h wpłynęła najbardziej pozytywnie na procent i szybkość kiełkowania nasion oraz długość i suchą masę siewek; badania polowe wykazały, że pole magnetyczne wpłynęło pozytywnie na ilość i powierzchnię liści, zawartość chlorofilu, długość łodygi i suchą masę korzeni i łodyg (L, P)	[281]

Indukcja magnetyczna [mT]	Czas ekspozycji	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
200	1 h	kukurydza (<i>Zea mays</i>)	zwiększenie wysokości roślin, szybkości fotosyntezy, plonu i powierzchni liści w warunkach stresu solnego i w warunkach normalnych; złagodzenie skutków stresu solnego (L)	[292]
200	b.d.	marakuja (<i>Passiflora edulis</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost siewek w porównaniu z grupą kontrolną (L)	[298]
500; 1000	3; 6; 12	marchewka (<i>Daucus carota</i>)	brak wpływu na procent kiełkowania nasion; najwyższa wartość indukcji magnetycznej i czasu stymulacji wpłynęła na zwiększenie zawartości węgla i sodu w siewkach (L)	[16]
125	1; 10; 20 min; 1; 24 h	nagietek (<i>Calendula</i>)/szałwia (<i>Salvia officinalis</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion szalwii; negatywny wpływ na kiełkowanie nasion nagietka (L)	[299]
7000-10000	b.d.	ogórek (<i>Cucumis</i>)	pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion (L)	[291]
100-250	1; 2; 3 h	ogórek (<i>Cucumis</i>)	zwiększenie szybkości kiełkowania nasion i procentu kiełkowania oraz długości i suchej masy siewek; najlepsze rezultaty otrzymano przy 200 mT i 1 h; zwiększenie aktywności enzymów hydrolitycznych, tlenu reaktywnego i enzymów antyoksydacyjnych (L)	[300]
57-60	b.d.	papryka (<i>Capsicum</i>)	zwiększenie kiełkowania nasion, wzrostu siewek oraz plonu i jakości owoców (L)	[301]
125; 250	1; 10; 20 min; 1; 24 h	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i szybkość wzrostu siewek (L)	[302]
50,6; 108,7; 332,1	1; 2; 24 h	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion, brak wpływu na akumulację biomasy (L)	[303]
100	30 min	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>)	zwiększenie szybkości kiełkowania nasion; zwiększenie aktywności katalazy i peroksydazy askorbinowej (L)	[304]
20-215	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na wzrost roślin (P)	[282]
10	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na szybkość kiełkowania nasion (L)	[305]
180	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	spowolnienie wzrostu łodygi i przyspieszenie wzrostu korzeni (L)	[306]
25; 50; 100; 150; 185; 220; 240	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	negatywny wpływ na kiełkowanie nasion przy stymulacji polem o indukcji 25, 50, 220 i 240 mT; pozytywny wpływ przy 100, 150 i 185 mT; najkorzystniejszy efekt przy 100 mT (L)	[307]
150; 250	20 min	ryż (<i>Oryza</i>)	pozytywny wpływ na szybkość i procent kiełkowania nasion (L)	[308]
8; 20	3; 12 min	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion i długości siewek; najlepsze rezultaty przy stymulacji 20 mT przez 12 min (L)	[309]
0-250	1; 2; 3; 4 h	słonecznik (<i>Helianthus</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion i długości oraz suchej masy siewek (L)	[310]
150	3; 6; 9; 12 min	soczewica (<i>Lens culinaris</i>)	czasy stymulacji 6 i 9 min wpłynęły najbardziej pozytywnie na wzrost roślin (L)	[311]
72-128	13-27 min	soja (<i>Glycine max</i>)	największy wzrost plonu soi otrzymano przy indukcji magnetycznej 100 mT i stymulacji przez 25 min (P)	[283]
2,9-4,6	2,2; 6,6; 19,8 s	soja (<i>Glycine max</i>)	formacja łodygi najwyższa przy czasie stymulacji 2,2 s; formacja korzenia najwyższa przy 6,6 s; istotny wzrost świeżej masy przy 6,6 s; najwyższa zawartość chlorofilu <i>a</i> i <i>b</i> przy 2,2 s (L)	[284]

Indukcja magnetyczna [mT]	Czas ekspozycji	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
50; 100; 150; 200; 250; 300	30; 60; 90 min	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie szybkości kiełkowania nasion, długości siewek, świeżej masy, suchej masy, powierzchni liści, świeżej masy liści, wskaźnika wigoru I (procent kiełkowania · długość siewki) i wskaźnika wigoru II (procent kiełkowania · sucha masa siewki) dla wszystkich wartości indukcji magnetycznej i czasu stymulacji; najlepsze rezultaty otrzymano dla 150 i 200 mT i 60 min (L)	[285]
150; 200	60 min	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie produkcji reaktywnych form tlenu, w której pośredniczy peroksydaza związana ze ścianą komórkową; spadek zawartości kwasu askorbinowego, dysmutazy ponadtlenkowej i aktywności peroksydazy askorbinianowej w hipokotylu (L)	[312]
100; 150; 200	0,5 min	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion i długości korzenia; brak wpływu na długość łodygi oraz świeżą i suchą masę (L, P)	[313]
2,9-4,6	2,2; 19,8 s	soja (<i>Glycine max</i>)	formacja łodygi i korzenia najwyższa przy czasie stymulacji 2,2 s; zwiększenie świeżej masy otrzymanych sadzonek; wzrost chlorofilu <i>a</i> i <i>b</i> oraz całkowitej zawartości chlorofilu dla 2,2 s; istotny wzrost aktywności peroksydazy i stężenia RNA dla obu czasów (L)	[288]
200	1 h	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie liczby brodawek korzeniowych, świeżej masy, akumulacji biomasy i wydajności fotosyntezy zarówno w warunkach stresu związanego z zasoleniem, jak i w warunkach normalnych; zwiększenie aktywności reduktazy azotanowej; wzrost zawartości leghemoglobiny i hemechromu w brodawkach korzeniowych (L)	[314]
200	1 h	soja (<i>Glycine max</i>)	złagodzenie negatywnych skutków związanych z zasoleniem we wczesnej fazie wzrostu sadzonek; zwiększenie aktywności α -amylazy i proteazy oraz poziomu rodników ponadtlenkowych i nadtlenu wodoru (L)	[19]
200	1 h	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie wysokości roślin, powierzchni liści i zawartości hemechromu w brodawkach korzeniowych; zwiększenie szybkości fotosyntezy zarówno w obecności stresu związanego z promieniowaniem UV, jak i w warunkach normalnych (L)	[294]
200	1 h	soja (<i>Glycine max</i>)	znaczne zwiększenie parametrów wzrostu siewek i wydajności fotosyntezy zarówno w warunkach suszy, jak i w warunkach normalnych; zwiększenie wskaźnika wydajności opartego na absorpcji energii świetlnej oraz aktywności reduktazy azotanowej; złagodzenie negatywnych skutków suszy (L)	[10]
30	5 h (przez 4 dni)	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie wskaźnika wigoru II; brak wpływu na kiełkowanie nasion; istotny wzrost stosunku świeżej masy do suchej masy i zawartości ferrytyny; ochrona siewek przed ryzykiem wzrostu wewnętrznej zawartości wapnia (L)	[315]
20; 30	5 h (przez 5 dni)	soja (<i>Glycine max</i>)	przy indukcji magnetycznej 20 mT – zmniejszenie ekspresji genów transferryiny, zawartości żelaza i H ₂ O ₂ oraz zawartości i aktywności ferrytyny i katalazy; odwrotne rezultaty przy 30 mT (L)	[316]
200	1 h	soja (<i>Glycine max</i>)	znaczny wzrost powierzchni liści, masy liści, aktywności fotosyntezy i azotazy oraz stosunku kwasu askorbinowego do dehydroaskorbinianu; znaczny spadek zawartości H ₂ O ₂ , kwasu askorbinowego i enzymów antyoksydacyjnych; zwiększenie akumulacji biomasy, plonu i współczynnika uprawy soi zarówno w warunkach stresu spowodowanego zasoleniem jak i w warunkach normalnych; kompensacja negatywnych efektów stresu spowodowanego zasoleniem (L)	[18]

Indukcja magnetyczna [mT]	Czas ekspozycji	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
400	3; 6; 12 min	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion dla wszystkich czasów stymulacji; najlepsze rezultaty dla czasów 6 i 12 min (L)	[17]
400	3; 6; 12 min	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion dla czasów stymulacji 6 i 12 min; zwiększenie zawartości chlorofilu dla czasów 3 i 12 min (L)	[13]
200	1 h	soja (<i>Glycine max</i>)	wzrost tolerancji siewek na stres spowodowany promieniowaniem UV-B; zwiększenie masy liści, aktywności anhidrazy węglanowej i azotazy; zawartości kwasu nukleinowego, protein i tlenu azotu oraz zwiększenie plonu (L)	[317]

b.d. – brak danych; L – testy w laboratorium; P – testy polowe

kontrola – nasiona, które nie były poddane żadnej stymulacji przedsiewnej

2.3.2. Zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym

Według dostępnych doniesień literaturowych, najczęściej nasiona pszenicy były poddawane przedsiewnej stymulacji z wykorzystaniem zmiennego pola magnetycznego [35], [36], [318]–[323]. Wartości indukcji magnetycznej w przypadku tego pola są zazwyczaj niższe niż w przypadku stałego pola i wahają się od 350 nT [324] do 480 mT [325], [326]. W zdecydowanej większości publikacji stosowana była częstotliwość napięcia sieciowego – 50 (np. [29]–[31]) lub 60 Hz (np. [32]–[34]). Czasy ekspozycji wahały się od 8 sekund [320] do 60 godzin [318]. Większość przeprowadzonych do tej pory badań odbywała się w warunkach laboratoryjnych (np. [29]–[31]), ale w literaturze pojawiły się także wyniki badań uzyskanych w warunkach polowych (np. [325], [327], [328]). Podsumowanie przeprowadzonych do tej pory badań, dotyczących zastosowania zmiennego pola magnetycznego do przedsiewnej stymulacji nasion przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Wpływ przewidzianej stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym na kiełkowanie nasion i wzrost roślin

Indukcja magnetyczna [mT]	Częstotliwość [Hz]	Czas ekspozycji	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
30	50	30 s	amarantus (<i>Amaranthus</i>)	pozytywny wpływ na zawartość białka, błonnika i popiołu w roślinach oraz suchą masę roślin; zmniejszenie zawartości tłuszczu i węglowodanów (L)	[29]
30	50	30 s	amarantus (<i>Amaranthus</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion (L)	[30]
30	50	b.d.	amarantus (<i>Amaranthus</i>)	znaczny spadek poziomu potasu, wapnia, magnezu, sodu, miedzi i manganu w siewkach; brak wpływu na poziom fosforu; znaczny wzrost poziomu cynku i żelaza; wzrost niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych i spadek większości nasyconych kwasów tłuszczowych (L)	[31]
0,000350-0,002	50	b.d.	babka średnia (<i>Plantago media</i>)	pozytywny wpływ na długość korzenia, zawartość dialdehydu malonowego i niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy oraz wzmocnienie aktywności dysmutazy nadtlenkowej (L)	[324]
30; 85	50	b.d.	bób (<i>Vicia faba</i>)/ groch (<i>Pisum</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i plon obu roślin (P)	[327]
75	50	b.d.	burak cukrowy (<i>Beta vulgaris</i>)	pozytywny wpływ na plon (P)	[328]
0,015	50	b.d.	dąb korkowy (<i>Quercus suber</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion (L)	[329]
0,04-0,078	60	b.d.	gorczyca (<i>Sinapis</i>)/ jęczmień (<i>Hordeum</i>)/ rzodkiewka (<i>Raphanus</i>)	pozytywny wpływ na wzrost siewek jęczmienia i rzodkiewki; brak wpływu na wzrost siewek gorczycy (L)	[32]
60; 120; 180	50	b.d.	groch (<i>Pisum</i>)	zwiększenie zawartości chlorofilu oraz długości i świeżej i suchej masy korzeni i łodyg (L)	[330]
0,088; 0,128	b.d.	12; 24 h	kianianka (<i>Cuscuta</i>)	negatywny wpływ na procent kiełkowania nasion i suchą masę siewek przy 0,128 mT w porównaniu z grupą kontrolną; brak wpływu na świeżą masę siewek i suchą masę łodyg; pozytywny wpływ na długość łodyg przy 0,088 mT (L)	[331]
2	60	3 min	kawowiec (<i>Coffea arabica</i>)	zwiększenie wydajności fotosyntezy i zawartości pigmentów fotosyntetycznych (L)	[33]
20; 60; 100	60	7,5; 15; 30 min	kukurydza (<i>Zea mays</i>)	znaczny wzrost szybkości kiełkowania nasion i suchej masy siewek dla 1 z 3 badanych genotypów kukurydzy; najlepsze rezultaty otrzymano przy stymulacji 100 mT przez 7,5 min (L)	[34]
480	60	3; 6; 9; 12; 15 min	kukurydza (<i>Zea mays</i>)	pozytywny wpływ na tempo kiełkowania nasion i suchą masę części nadziemnej sadzonek (P)	[325]
480	60	3; 6; 9; 12; 15 min	kukurydza (<i>Zea mays</i>)	przy czasie stymulacji 12 min uzyskano większą wysokość roślin, średnicę łodyg i większy plon na 1 hektar (L, P)	[326]

Indukcja magnetyczna [mT]	Częstotliwość [Hz]	Czas ekspozycji	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
25	4; 8; 12; 14; 16; 18; 20	1 h	kukurydza (<i>Zea mays</i>)/ sorgo (<i>Sorghum</i>)	stymulujący wpływ na aktywność mitotyczną (L)	[332]
0,088; 0,128	b.d.	10; 30 min	lucerna (<i>Medicago</i>)	pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion przy czasie stymulacji 10 min; pozytywny wpływ na długość korzeni i łodyg przy czasie 10 min dla 2 z 3 odmian (L)	[331]
30	50	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion (L)	[319]
7,5; 20; 35; 44; 50; 65; 80; 100	50	36-60 h	pszenica (<i>Triticum</i>)	największa wartość procentu kiełkowania nasion dla stymulacji polem o indukcji 35 mT (L)	[318]
30	50	8; 15 s	pszenica (<i>Triticum</i>)	brak wpływu na plon (P)	[320]
15	50	15; 30 s	pszenica (<i>Triticum</i>)	brak wpływu na proces kiełkowania nasion; pozytywny wpływ na świeżą masę po 4 dniach od rozpoczęcia testów przy 15 s stymulacji i negatywny przy 30 s stymulacji; pozytywny wpływ na zawartość chlorofilu po 4 dniach przy 15 s stymulacji, a negatywny przy 30 s stymulacji oraz po 8 dniach dla obu czasów stymulacji (L)	[321]
5	16	2; 4; 8; 12; 24 h	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion przy stymulacji przez 2 i 4 h (L)	[35]
30	50	10; 30 s	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie i plon nasion (L, P)	[322]
40	b.d.	3,5; 5 min	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na zawartość chlorofilu i plon (różnice nieistotne statystycznie) (P)	[323]
0,02	16,6	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)/ słonecznik (<i>Helianthus</i>)	pozytywny wpływ na tempo kiełkowania nasion pszenicy, świeżą i suchą masę korzeni pszenicy, świeżą masę siewek pszenicy i słonecznika oraz świeżą masę korzeni i łodyg słonecznika; brak wpływu na tempo kiełkowania i suchą masę słonecznika (L)	[36]
0,1	50	b.d.	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>)	pozytywny wpływ na wzrost siewek (L)	[333]
6	50	3; 12 min	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>)	negatywny wpływ na procent kiełkowania nasion i długość siewek dla czasu 12 min; pozytywny dla czasu 3 min (L)	[309]
0,5	50	b.d.	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>)	zwiększenie produkcji lipidów polarnych, zawartości glikolipidów i fosfolipidów (L)	[334]
150	50	15; 30 s	słonecznik (<i>Helianthus</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion (L)	[335]
30	50	1; 2,5; 5 min	soja (<i>Glycine max</i>)	najbardziej pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i zawartość chlorofilu w liściach przy stymulacji przez 2,5 min (L)	[13]

b.d. – brak danych; L – testy w laboratorium; P – testy polowe
kontrola – nasiona, które nie były poddane żadnej stymulacji przedsewnej

2.3.3. Zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami

Większość badań dotyczących przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami prowadzono do tej pory w laboratoriach [11], [20]–[23], [38], [40]–[42], [336], ale przeprowadzono także badania w szklarni oraz w warunkach polowych na nasionach pszenicy [323]. Najczęściej wykorzystywane do tych badań były nasiona zbóż, takich jak pszenica [23], [41], [42], [323] i jęczmień [11], [22], [336]. Temperatura, w której prowadzono badania wahała się od 15 [23] do 30 °C [22], [336]. Częstotliwość stosowanych ultradźwięków mieściła się w zakresie od 20 [11], [22], [336] do 45 [41] kHz, moc stosowanego urządzenia wynosiła od 160 [41] do 1000 W [11], a czas stymulacji wahał się od 1 minuty [40] do 1 godziny [23]. Podsumowanie przeprowadzonych do tej pory badań dotyczących zastosowania ultradźwięków do przedsiewnej stymulacji nasion przedstawiono w Tabeli 4.

Tabela 4. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami na kiełkowanie nasion i wzrost roślin

Czas stymulacji [min]	Częstotliwość [kHz]/moc [W]	Temperatura [°C]	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
5; 10; 15; 30; 45; 60	40/b.d.	15; 20	arbuz (<i>Citrullus lanatus</i>)/ ciecierzyca (<i>Cicer arietinum</i>)/ pieprz (<i>Piper nigrum</i>)/ pszenica (<i>Triticum</i>)	brak wyraźnego wpływu na procent kiełkowania nasion; pozytywny wpływ na szybkość kiełkowania nasion ciecierzycy (najbardziej przy 45 min), pszenicy (najbardziej przy 30 min) i arbuza (najbardziej przy 5 min); brak wpływu na szybkość kiełkowania nasion pieprzu (L)	[23]
1	40/b.d.	25	groch (<i>Pisum</i>)	zwiększenie procentu i szybkości kiełkowania oraz długości korzeni i hipokotylu oraz świeżej masy siewek; zmniejszenie ilości bakterii na powierzchni nasion (L)	[40]
5; 10; 15	20/460	30	jęczmień (<i>Hordeum</i>)	stymulujący wpływ na aktywność enzymów (L)	[336]
5; 10; 15	20/460	30	jęczmień (<i>Hordeum</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion; skrócenie czasu kiełkowania; zwiększenie wchłaniania wody przez nasiona (L)	[22]
b.d.	20/1000	b.d.	jęczmień (<i>Hordeum</i>)	pozytywny wpływ na wzrost roślin przy niskiej intensywności ultradźwięków w porównaniu z grupą kontrolną, negatywny przy wysokiej intensywności (L)	[11]
5; 10; 15; 30	35/b.d.	b.d.	komosa (<i>Chenopodium album</i>)	największy wzrost procentu kiełkowania nasion, suchej masy siewek, I wskaźnika wigoru i II wskaźnika wigoru dla czasu 15 min; największy wzrost długości siewek dla czasu 30 min (L)	[21]
10	45/160	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	zwiększenie procentu kiełkowania nasion, zawartości chlorofilu i białka, szybkości fotosyntezy i wzrostu siewek; zniwelowanie stresu wywołanego obecnością kadmu i ołowiu (L)	[41]
3,5; 5	b.d./b.d.	b.d.	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na zawartość chlorofilu oraz plon (brak różnic istotnych statystycznie) (P)	[323]
3; 9; 21	42/b.d.	22	pszenica (<i>Triticum</i>)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost roślin dla krótszych czasów stymulacji (3 i 9 min), negatywny dla najdłuższego; zwiększenie energii kiełkowania, szybkości kiełkowania i wzrostu siewek przy czasie 3 min; zmniejszenie długości liści przy czasie 21 min; zmniejszenie ilości grzybów na powierzchni nasion (L)	[42]
5; 10; 15; 30	28/b.d.	b.d.	ryż (<i>Oryza sativa</i>)	zwiększenie szybkości kiełkowania nasion przy stymulacji przez 5 min; spadek zawartości skrobi; wzrost zawartości cukrów redukujących; większa akumulacja kwasu gamma-aminomasłowego, przeciwutleniaczy i proliny; zwiększenie biodostępności wapnia i żelaza (L)	[20]
30	25/b.d.	b.d.	soja (<i>Glycine max</i>)	zwiększenie nawodnienia roślin i zdolności nasion do wchłaniania wody w porównaniu z grupą kontrolną (L)	[38]

b.d. – brak danych; L – testy w laboratorium; P – testy polowe

kontrola – nasiona, które nie były poddane żadnej stymulacji przedsiewnej

2.3.4. Zastosowanie makroalgi *Cladophora glomerata* w rolnictwie

Makroalga *Cladophora glomerata* najczęściej jest stosowana w uprawie roślin w postaci ekstraktu algowego [6], [7], [12], [13], [16], [17], [337], ale była także stosowana jako kompost oraz ekstrakt z kompostu [48]. W przeprowadzonych do tej pory badaniach wykorzystywano algę zebraną w Polsce zarówno ze zbiorników słodkowodnych [12], [13], [16], [17], [337], jak i morskich [6], [7], [48]. Skuteczność działania tych produktów sprawdzono w testach kiełkowania [6], [7], [12], [13], [16], [17], [48] oraz w badaniach polowych [337]. Ekstrakty były aplikowane do podłoża [6], [7], [13], [16], [17], [48] lub donasiennie [12] w przypadku testów kiełkowania, natomiast w testach polowych dolistnie [337]. Stosowane stężenia ekstraktu wahały się od 0,5 [6], [7] do 100% [12], [16]. Najczęściej badanymi roślinami były soja [12], [13], [17], [337] oraz rzeżucha [6], [7], [48], ale powstały także publikacje na temat wykorzystania produktów na bazie *C. glomerata* do stymulacji nasion marchewki [16] oraz rzodkiewki [48]. Wyniki dotyczące zastosowania makroalgi *C. glomerata* w rolnictwie do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin przedstawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Zastosowanie makroalgi *Cladophora glomerata* do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

Miejsce zbioru makroalgi (Polska)	Nasiona poddane stymulacji	Metoda zastosowania (ekstrakt wodny)	Efekty (w porównaniu do kontroli)	Źródło
Tomaszówek (k. Łodzi)	marchewka (<i>Daucus carota</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 20; 40; 60; 80 i 100% (aplikacja do podłoża)	stężenie 20% - największy procent kiełkowania nasion	[16]
Morze Bałtyckie, plaża k. Sopotu	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt z alg: <i>Cladophora glomerata</i> , <i>Enteromorpha flexuosa</i> , <i>Enteromorpha clathrata</i> i <i>Polysiphonia fucoides</i> , stężenia: 0,5; 2,5 i 10% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na długość rośliny i zawartość chlorofilu	[7]
Morze Bałtyckie, plaża k. Sopotu	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt z alg: <i>Cladophora glomerata</i> , <i>Enteromorpha flexuosa</i> , <i>Enteromorpha clathrata</i> i <i>Polysiphonia fucoides</i> , stężenia: 0,5; 2,5 i 10% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na wzrost i masę roślin, zawartość chlorofilu oraz mikro- i makroelementów	[6]
Morze Bałtyckie, plaża k. Sopotu	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>)/ rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>) (testy kiełkowania)	kompost z 4 makroalg (<i>Cladophora glomerata</i> , <i>Enteromorpha flexuosa</i> , <i>Enteromorpha clathrata</i> i <i>Polysiphonia fucoides</i>), ekstrakt z kompostu (aplikacja do podłoża)	kompost – pozytywny wpływ na masę obu roślin, ekstrakt – pozytywny wpływ na masę rzeżuchy	[48]
Tomaszówek (k. Łodzi)	soja (<i>Glycine max</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenie: 10% (aplikacja do podłoża)	wzrost procentu kiełkowania nasion i zawartości chlorofilu w liściach	[13]
Tomaszówek (k. Łodzi)	soja (<i>Glycine max</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenie: 10% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion	[17]
Tomaszówek (k. Łodzi)	soja (<i>Glycine max</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 50 i 100% (aplikacja donasienna)	negatywny wpływ na procent kiełkowania nasion i zawartość chlorofilu w liściach	[12]
Tomaszówek (k. Łodzi)	soja (<i>Glycine max</i>) (testy polowe)	ekstrakt, stężenie: 20% (aplikacja dolistna)	znaczny wzrost plonu, wysokości roślin, ilości rozgałęzień 1. rzędu, masy 1000 nasion	[337]

kontrola – grupa podlewana wodą destylowaną

2.3.5. Zastosowanie makroalgi *Enteromorpha* sp. (*Ulva* sp.) w rolnictwie

Najczęściej wykorzystywanym do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin gatunkiem makroalg z rodzaju *Enteromorpha* sp. jest *E. lactuca* [54], [57], [58], [61], [64]. Inne gatunki wykorzystane do tej pory w rolnictwie to *E. fasciata* [55], [56], *E. fenestrata* [62], *E. flexuosa* [48], [52], *E. intestinalis* [53], [63] i *E. rigida* [60]. Do badań wykorzystano makroalgę, która najczęściej była zbierana w Polsce (plaża w Sopocie, Morze Bałtyckie) [6], [7], [48], Indiach (wybrzeża Mandapam, Rameswaram i Harnai) [52], [53], [56] i Meksyku (La Paz, Careyes, Zatoka Tencatita) [54], [57], [61], ale wykorzystywano także algę z Maroka (Akhfenir, El Jadida) [58], [60], Egiptu (Morze Śródziemne) [55], Rosji (Zatoka Piotra Wielkiego) [62], Wielkiej Brytanii (Llantwit Major) [63] i Algierii (Bidżaja) [64]. Najczęściej stymulowanymi przy użyciu tej algi roślinami są pomidor [57], [58], [61] i rzeżucha [6], [7], [48], ale prowadzone były także badania na fasoli mung [54], [57], fasolniku chińskim [55], kukurydzy [55], papryce [56], pszenicy [60], [64], rzodkiewce [48], [52], rzodkiewniku pospolitym [63] i soi [53], [62]. Ekstrakt z *Enteromorpha* sp. stosowany był zazwyczaj do podłoża (np. [6], [7], [48])/ doglebowo [61], [64], ale pojawiły się także badania, w których wykorzystano aplikację donasienną [53], [54], [58] oraz dolistną [55], [60], [61]. Stosowane stężenia wahały się od 0,0001% [52] do 100% [53]. Badania dotyczące oceny skuteczności działania ekstraktu z *Enteromorpha* sp. w rolnictwie prowadzone były zarówno podczas testów kiełkowania (np. [6], [7], [48]), jak i doniczkowych (np. [54], [61], [64]). Wyniki dotyczące zastosowania makroalgi *Enteromorpha* sp. w rolnictwie do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin przedstawiono w Tabeli 6.

Tabela 6. Zastosowanie makroalgi *Enteromorpha* sp. (*Ulva* sp.) do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

Gatunek	Miejsce zbioru makroalgi	Nasiona poddane stymulacji	Metoda zastosowania*	Efekty (w porównaniu do kontroli)	Źródło
<i>Enteromorpha</i> sp.	Morze Bałtyckie, plaża k. Sopotu, Polska	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt z alg: <i>Cladophora glomerata</i> , <i>Enteromorpha flexuosa</i> , <i>Enteromorpha clathrata</i> i <i>Polysiphonia fucoides</i> , stężenia: 0,5; 2,5 i 10% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na wzrost rośliny i zawartość chlorofilu	[7]
<i>Enteromorpha</i> sp.	Morze Bałtyckie, plaża k. Sopotu, Polska	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt z alg: <i>Cladophora glomerata</i> , <i>Enteromorpha flexuosa</i> , <i>Enteromorpha clathrata</i> i <i>Polysiphonia fucoides</i> , stężenia: 0,5; 2,5 i 10% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na wzrost i masę roślin, zawartość chlorofilu oraz mikro- i makroelementów	[6]
<i>Enteromorpha fasciata</i>	Morze Śródziemne, Abo Quire, Aleksandria, Egipt	fasolnik chiński (<i>Vigna sinensis</i>)/ kukurydza (<i>Zea mays</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 0,5; 1; 1,5; 2% (aplikacja donasienna)	pozytywny wpływ wszystkich stężeń na długość i masę siewek	[55]
<i>Enteromorpha fasciata</i>	Mandapam i Rameswaram, Tamilnadu, Indie i południowe wybrzeże Indii	papryka roczna (<i>Capsicum annuum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 2; 4; 6; 8 i 10% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion dla stężeń 8 i 10%; pozytywny wpływ stężeń 2-8% i negatywny stężenia 10% na długość łodygi	[56]
<i>Enteromorpha fenestrata</i>	Zatoka Piotra Wielkiego, Morze Japońskie, Rosja	soja (<i>Glycine max</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 10^{-13} - 10^{-2} g/mL (aplikacja do podłoża)	brak wpływu na wzrost korzenia	[62]
<i>Enteromorpha flexuosa</i>	Morze Bałtyckie, plaża k. Sopotu, Polska	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>)/ rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>) (testy kiełkowania)	kompost z 4 makroalg (<i>Cladophora glomerata</i> , <i>Ulva flexuosa</i> , <i>Ulva clathrata</i> i <i>Polysiphonia fucoides</i>), ekstrakt z kompostu (aplikacja do podłoża)	kompost – pozytywny wpływ na masę obu roślin, ekstrakt – pozytywny wpływ na masę rzeżuchy	[48]
<i>Enteromorpha flexuosa</i>	Harnai, Kolthare i Alibag, Maharashtra, Indie	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 0,0001; 0,001; 0,01 i 0,1% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ wszystkich stężeń na wzrost roślin; stężenie 0,0001% – pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion w porównaniu do kontroli i wyższych stężeń	[52]
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Llantwit Major, Południowa Walia, Wielka Brytania	rzodkiewnik pospolity (<i>Arabidopsis thaliana</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8, 1% (aplikacja do podłoża)	dla stężeń powyżej 0,1% – zmniejszenie procentu kiełkowania nasion i wzrostu korzeni; dla stężeń powyżej 0,1% – zwiększenie wzrostu korzeni; dla wszystkich stężeń – zmniejszenie wzrostu korzeni bocznych	[63]

Gatunek	Miejsce zbioru makroalgi	Nasiona poddane stymulacji	Metoda zastosowania*	Efekty (w porównaniu do kontroli)	Źródło
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Wybrzeże Mandapam, Zatoka Mannar, Tamilnadu, Indie	soja (<i>Glycine max</i>) (testy doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 20; 40; 60 i 100% (aplikacja donasienna)	stężenie 60% - największy procent kiełkowania nasion, pozytywny wpływ na długość rośliny	[53]
<i>Enteromorpha lactuca</i>	Costa Careyes, Jalisco, Meksyk	fasola mung (<i>Vigna radiata</i>)/ pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenie: 2; 4 i 10 mg/mL (tylko dla pomidora); ekstrakt wzbogacony w polisacharydy: 0,2; 0,4 i 1 mg/mL (aplikacja do podłoża)	negatywny wpływ ekstraktów niewzbogaconych w polisacharydy na kiełkowanie nasion; pozytywny wpływ stężenia 2 mg/mL na długość korzeni i siewek; negatywny wpływ stężenia 10 mg/mL na długość korzeni i siewek oraz suchą masę; pozytywny wpływ ekstraktów wzbogaconych w polisacharydy na kiełkowanie nasion pomidora i wzrost roślin oraz na wzrost korzeni fasoli	[57]
<i>Enteromorpha lactuca</i>	La Paz, Kalifornia Dolna Południowa, Meksyk	fasola mung (<i>Vigna radiata</i>) (testy kiełkowania i doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 i 1% (aplikacja do podłoża – testy kiełkowania i donasienna – testy doniczkowe)	najkorzystniejszy wpływ na badane parametry dla stężenia 0,2% - zwiększenie szybkości i procentu kiełkowania nasion, długości korzeni i łodyg, świeżej i suchej biomasy, zawartości protein i całkowitej zawartości chlorofilu	[54]
<i>Enteromorpha lactuca</i>	El Jadida, Maroko	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt metanolowy, stężenie: 1mg/mL (aplikacja donasienna)	zniwelowanie efektów stresu solnego, zwiększenie świeżej masy łodygi	[58]
<i>Enteromorpha lactuca</i>	Zatoka Tencatita, Jalisco, Meksyk	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>) (testy kiełkowania i doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,2, 0,4 i 1% (aplikacja do podłoża/ doglebowa i dolistna)	pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion przy stężeniu 0,2%; pozytywny wpływ wszystkich stężeń na długość korzenia i łodygi; pozytywny wpływ stężeń 0,2 i 1% aplikowanych dolistnie oraz 0,4 i 1% aplikowanych doglebowo na świeżą masę; pozytywny wpływ stężeń 0,2 i 1% na suchą masę	[61]
<i>Enteromorpha lactuca</i>	Bidżaja, Algieria	pszenica (<i>Triticum durum</i>) (testy doniczkowe)	ekstrakt, stężenie: 500 g/L (aplikacja doglebowa)	zwiększenie odporności roślin na stres wodny	[64]
<i>Enteromorpha rigida</i>	Akhfenir, Laâyoune, Maroko	pszenica (<i>Triticum durum</i>) (testy doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 12,5; 25 i 50% (aplikacja dolistna)	zniwelowanie efektów stresu solnego, zwiększenie wzrostu roślin, zawartości barwników fotosyntetycznych i aktywności enzymów antyoksydacyjnych dla wszystkich stężeń	[60]

kontrola – grupa podlewana wodą destylowaną

* Jeśli w tabeli nie zaznaczono inaczej, użyto ekstraktów wodnych

2.3.6. Zastosowanie makroalgi *Sargassum* sp. w rolnictwie

Do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin stosowane były do tej pory różne gatunki makroalg z rodziny *Sargassum* sp. – *S. latifolium* [85], *S. liebmannii* [61], *S. muticum* [91], [97], *S. myriocystum* [86], *S. palladium* [62], *S. polycystum* [94], *S. tenerrimum* [96], *S. virgatum* [89], *S. vulgare* [84], [92] i *S. wightii* [87], [88]. Algi przeznaczone do tych badań zbierane były najczęściej w Indiach (Zatoka Mannar, Rameswaram, Mandapan, Thirumullavaram) [86]–[88], [94], [96], ale także w Egipcie (Morze Czerwone) [89], [97], Malezji (Semporna) [95], Meksyku (Zatoka Tencatita) [61], Portugalii (Zatoka Buraco) [91], Rosji (Zatoka Piotra Wielkiego) [62] i Tunezji (Chott Mariem) [84]. Nasionami poddanymi stymulacji były najczęściej nasiona pomidora [61], [84], [89], [95], [96], ale wykorzystywano także nasiona ciecierzycy [97], fasoli [86], [94], gorczycy [90], grochu [89], guaru [87], kukurydzy [93], papryki [95], pszenicy [88], rozmarynu [85], rzodkiewki [92], sałaty [89], [91] i soi [62]. Wykonywano zarówno testy kiełkowania (np. [90], [91], [95]), jak i doniczkowe (np. [61], [85], [91]) oraz polowe (np. [92]–[94]). Dodatkowo pojawiły się badania, w których wykorzystano ekstrakt z *Sargassum* sp. w uprawie hydroponicznej sałaty [91]. Badane były wszystkie metody aplikacji – do podłoża (np. [61], [90], [91])/ doglebowa (np. [61], [91], [93])/ do medium w zestawie do hydroponiki [91], donasienna (np. [86], [92], [96]) i dolistna (np. [61], [92], [96]). Stężenia ekstraktu wahały się od 0,1% [97] do 100% [90]–[92]. Wyniki dotyczące zastosowania makroalgi *Sargassum* sp. w rolnictwie do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Zastosowanie makroalgi *Sargassum* sp. do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

Gatunek	Miejsce zbioru makroalgi	Nasiona poddane stymulacji	Metoda zastosowania*	Efekty (w porównaniu do kontroli)	Źródło
<i>Sargassum</i> sp.	b.d.	gorczyca sarepska (<i>Brassica juncea</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 20; 40; 60; 80 i 100% (sposób aplikacji – b.d.)	pozytywny wpływ wszystkich stężeń na: wysokość rośliny, liczbę i świeżą oraz suchą masę liści, świeżą masę korzenia; stężenie 100% – pozytywny wpływ na suchą masę korzenia	[90]
<i>Sargassum</i> sp.	b.d.	kukurydza (<i>Zea mays</i>) (testy polowe)	ekstrakt, stężenia: 30; 60 i 90% (aplikacja doglebowa)	pozytywny wpływ na mierzone parametry (obwód łodygi, masa łodygi i liści, masa, długość i średnica kolby, masa łuskanej kolby), negatywny w porównaniu do stymulacji nawozem NPK (zawierającym azot, fosfor i potas)	[93]
<i>Sargassum</i> sp.	Semporna, Sabah, Malezja	papryka roczna (<i>Capsicum annum</i>)/ pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt (rozpuszczalniki: heksan, dichlorometan, metanol i woda), stężenia: 0,5, 1, 2,5 i 5 mg/L (aplikacja do podłoża)	najdłuższy korzeń i roślina: pomidor – dichlorometan (2,5 mg/L), papryka – heksan (wszystkie stężenia)	[95]
<i>Sargassum latifolium</i>	b.d.	rozmaryn (<i>Salvia rosmarinus</i>) (testy doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,2; 0,4 i 0,6% (aplikacja dolistna)	stężenie 0,4% zniwelowało negatywne skutki zasolenia; stężenie 0,2% – największy wpływ na suchą i świeżą masę liści i łodygi	[85]
<i>Sargassum liebmannii</i>	Zatoka Tencatita, Jalisco, Meksyk	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>) (testy kiełkowania i doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,2; 0,4 i 1% (aplikacja do podłoża/ doglebowa i dolistna)	negatywny wpływ wszystkich stężeń na długość łodygi oraz świeżą i suchą masę rośliny	[61]
<i>Sargassum muticum</i>	Morze Czerwone, Safaga, Egipt	Ciecierzycza (<i>Cicer arietinum</i>) (testy doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,1; 0,5; 1; 1,5; 2 i 2,5% (aplikacja dolistna)	pozytywny wpływ na długość i suchą masę korzenia i łodygi oraz zawartość chlorofilu <i>a</i> , <i>b</i> , karotendoidów, cukrów rozpuszczalnych i związków fenolowych w roślinach; najlepsze rezultaty – stężenie 1%; niwelacja stresu solnego	[97]
<i>Sargassum muticum</i>	Zatoka Buarco, Figueira da Foz, Portugalia	sałata (<i>Lactuca sativa</i>) (testy kiełkowania, doniczkowe i w zestawie do hydroponiki)	ekstrakty wodny i etanolowy, stężenia: 25, 75 i 100% (aplikacja do podłoża/ doglebowa/ do medium)	stężenie 25% – największy wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost roślin w przypadku obu rozpuszczalników	[91]
<i>Sargassum myriocystum</i>	Rameswaram, Indie	fasola (<i>Vigna mungo</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 5; 10; 25; 50; 75 i 100% (aplikacja donasienna)	stężenie 10% – największy wpływ na wszystkie mierzone parametry (procent kiełkowania, długość korzenia i łodygi oraz świeżą i suchą masę siewek)	[86]
<i>Sargassum palladium</i>	Zatoka Piotra Wielkiego, Morze Japońskie, Rosja	soja (<i>Glycine max</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 10^{-13} - 10^{-2} g/mL (aplikacja do podłoża)	brak wpływu na wzrost korzenia	[62]

Gatunek	Miejsce zbioru makroalgi	Nasiona poddane stymulacji	Metoda zastosowania*	Efekty (w porównaniu do kontroli)	Źródło
<i>Sargassum polycystum</i>	Zatoka Mannar, Rameswaram, Indie	fasola złota (<i>Vigna radiata</i>)/ fasola mung (<i>Vigna mungo</i>) (testy polowe)	ekstrakt, stężenia: 0,5; 1; 2; 3; 4 i 5% (aplikacja doglebowa)	stężenie 3% – największy wpływ na wzrost roślin, zawartość pigmentów fotosyntetycznych i aminokwasów; stężenia 4 i 5% – negatywny wpływ na wzrost roślin	[94]
<i>Sargassum tenerrimum</i>	Zatoka Mannar, Rameswaram, Indie	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>) (testy kiełkowania i doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 i 1% (aplikacja donasienna dla testów kiełkowania i dolistna dla testów doniczkowych)	stężenia 0,4-1% – pozytywny wpływ na wszystkie parametry (długość i masa rośliny, ilość liści, powierzchnia liści)	[96]
<i>Sargassum virgatum</i>	Morze Czerwone, Al-Quser, Egipt	sałata (<i>Lactuca sativa</i>)/ pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i>)/ groch (<i>Hordeum vulgare</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt metanolowy, stężenia: 25; 50; 100 i 200 mL/L (aplikacja do podłoża)	stężenia 25 i 50 mL/L – pozytywny wpływ na procent wykiełkowanych nasion w porównaniu do kontroli; stężenia 100 i 200 mL/L – negatywny wpływ	[89]
<i>Sargassum vulgare</i>	Chott Mariem, Tunezja	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 0,2 i 0,5% (aplikacja do podłoża)	pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion, długość sadzonki, świeżą i suchą masę; zmniejszenie średniego czasu kiełkowania dla grupy bez NaCl i z 2 g/L NaCl, zwiększenie czasu dla grupy z 4 g/L NaCl w porównaniu z kontrolą	[84]
<i>Sargassum vulgare</i>	b.d.	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>) (testy polowe)	ekstrakt, stężenia: 1; 2 i 3 mL/L (aplikacja donasienna i dolistna jednocześnie)	aplikacja donasienna – pozytywny wpływ na plon w porównaniu do kontroli; najlepsze efekty – 3 mL/L dolistnie aplikowany ekstrakt	[92]
<i>Sargassum wightii</i>	Mandapan, Tamilandu, Indie	guar (<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>) (testy doniczkowe)	ekstrakt, stężenia: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 i 5% (aplikacja dolistna)	stężenie 1,5% – największy wpływ na plon i wzrost roślin	[87]
<i>Sargassum wightii</i>	Thirumullavaram, Kerala, Indie	pszenica zwyczajna (<i>Triticum annum</i>) (testy kiełkowania i polowe)	ekstrakt, stężenia: 5; 10; 20; 30; 40 i 50% (aplikacja donasienna)	stężenie 20% – najbardziej pozytywny wpływ na wszystkie mierzone parametry (procent kiełkowania nasion, długość korzenia i łodygi, liczba korzeni bocznych, liczba i sucha masa nasion)	[88]

kontrola – grupa podlewana wodą destylowaną

b.d. – brak danych

* Jeśli w tabeli nie zaznaczono inaczej, użyto ekstraktów wodnych

2.3.7. Zastosowanie makroalgi *Fucus vesiculosus* w rolnictwie

Do tej pory przeprowadzono niewiele badań dotyczących wykorzystania ekstraktów z makroalgi *Fucus vesiculosus* do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin [112], [113]. Badania były prowadzone na bazylii pospolitej [113] oraz rzeżusze [112]. Ekstrakt aplikowany był do podłoża (testy kiełkowania) [112], [113], a jego stężenie wahało się od 2,5% [112] do 75% [113]. Wyniki dotyczące zastosowania makroalgi *F. vesiculosus* w rolnictwie do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin przedstawiono w Tabeli 8.

Tabela 8. Zastosowanie makroalgi *Fucus vesiculosus* do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

Miejsce zbioru makroalgi	Nasiona poddane stymulacji	Metoda zastosowania (ekstrakt wodny)	Efekty (w porównaniu do kontroli)	Źródło
Samarra, Irak (zakupiona na lokalnym targu)	bazylija pospolita (<i>Ocimum basilicum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 25, 50 i 75% (aplikacja do podłoża)	stężenie 25 i 75% – obniżenie procentu kiełkowania nasion; wszystkie stężenia – zwiększenie liczby gałęzi, wysokości rośliny, suchej i świeżej masy, zawartości flawonoidów, fenoli, taniny i węglowodanów, stężenie 25% – zmniejszenie zawartości tłuszczu; stężenia 50 i 75% – zwiększenie zawartości tłuszczów	[113]
Zakupiona w firmie FLOS (Polska)	rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) (testy kiełkowania)	ekstrakt, stężenia: 2,5, 5 i 10%; sucha biomasa (aplikacja do podłoża)	stężenie 5% – największy wpływ na długość rośliny w porównaniu z ekstraktami 2,5 i 10% oraz kontrolą; stężenie 10% – pozytywny wpływ na długość łodygi	[112]

kontrola – grupa podlewana wodą destylowaną

2.3.8. Zastosowanie nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi w rolnictwie

Stosowanie nanocząstek metali/ tlenków metali w rolnictwie jest wciąż stosunkowo nową metodą zwiększania plonów i ochrony roślin przed szkodnikami w porównaniu ze stosowaniem nawozów mineralnych i tradycyjnych środków ochrony roślin (pestycydów). Jednak w ciągu ostatniej dekady znacznie wzrosło zainteresowanie wykorzystaniem nanocząstek w formie nanonawozów i nanopestycydów. Nanocząstki metali/ tlenków metali mogą pomóc w rozwiązaniu problemów związanych z produktywnością roślin i wzrostem plonów, odpornością na stres biotyczny (szkodniki, chwasty) i abiotyczny (susza, wysokie zasolenie, wysoka/niska temperatura, występowanie metali ciężkich w glebie) [133], [338]. Produkty zawierające nanocząstki mają nie tylko duży wpływ na rośliny uprawne – wchodzą w interakcje z roślinami uprawnymi, ale mają również pośredni wpływ na zdrowie ludzi i zwierząt poprzez ścieżki łańcucha troficznego. Z tego powodu potrzeba wielu badań, aby w pełni zrozumieć interakcje między nanocząstkami a roślinami, by móc przewidzieć ich akumulację w łańcuchu pokarmowym i wpływ na środowisko naturalne [133]. Istnieje wiele parametrów, które należy wziąć pod uwagę przy analizie wpływu nanocząstek na rośliny,

takich jak: zastosowany podczas biosyntezy prekursor metalu, rodzaj nanocząstek (metal, tlenek metalu lub inny) [339], metoda aplikacji [340], zastosowane stężenie nanocząstek [341] i rodzaj testowanej rośliny [133]. Innowacyjne zastosowania nanotechnologii w rolnictwie mogą pomóc w zaspokojeniu rosnącego zapotrzebowania na żywność. Jednak ze względu na nie do końca poznany mechanizm ich działania, dalszą obecność w środowisku, potencjalną toksyczność dla roślin oraz pozostałości na produktach roślinnych, wejście na rynek innowacyjnych produktów na bazie nanocząstek jest trudnym zadaniem. Zastosowanie nanocząstek w rolnictwie wymaga dokładnych, zaawansowanych i długoletnich badań potwierdzających ich skuteczność w uprawie roślin [133].

W ciągu ostatniej dekady, coraz popularniejsze stało się stosowanie nanocząstek metali i tlenków metali w rolnictwie, zarówno do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin oraz jako dodatki paszowe w hodowli zwierząt. Najszerzej badanymi nanocząstkami w kontekście rolniczym są nanocząstki: złota, srebra, glinu, żelaza, tlenku tytanu, tlenku cynku, tlenku glinu, tlenku żelaza (III), tlenku niklu, tlenku miedzi i ceru [133]. Ze względu na swój rozmiar i dużą powierzchnię, nanocząstki metali – w porównaniu z ich materiałami macierzystymi – mają ulepszone właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczną. Są w stanie wnikać do nasion, a przez to zwiększyć absorpcję wody przez nie [359]. Dzięki tym właściwościom, nawet małe dawki nanocząstek mogą wpływać pozytywnie na kiełkowanie nasion i wzrost roślin (parametry takie jak: wydłużenie korzeni, długość części nadziemnej roślin, zawartość chlorofilu, witamin, karotenoidów i związków fenolowych, aktywność fotosyntezy i odporność na stres oksydacyjny) [342], [343]. Co więcej, niektóre nanocząstki metali i tlenków metali wykazują działanie przeciwgrzybicze (np. nanocząstki ZnO i MgO przeciwko *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer* i *Mucor plumbeus* [344] lub nanocząstki ZnO przeciwko *Aspergillus niger* [345] i *Candida albicans* [345], [346]) i przeciwbakteryjne (np. nanocząstki złota przeciwko *Corynebacterium pseudotuberculosis* [347] lub nanocząstki ZnO przeciwko *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* [345], *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcus luteus*, *Neisseria gonorrhoea*, *Streptococcus mutans* i *Vibrio cholerae* [198]). Odgrywają również ważną rolę w produkcji wielu hormonów roślinnych – zwłaszcza auksyn, które są odpowiedzialne za wzrost roślin i plon [162].

Wyniki badań różnych naukowców dotyczących wpływu nanocząstek zawierających cynk oraz miedź na rośliny (kiełkowanie nasion, wzrost roślin, ich skład chemiczny i odporność na stres abiotyczny) zostały przedstawione w Tabeli 9.

Tabela 9. Wpływ nanocząstek (a) cynku i (b) miedzi na rośliny

(a) Cynk (Zn)				
Nanocząstki	Metoda syntezy	Roślina/dawka	Wpływ nanocząstek na roślinę (w porównaniu z grupą kontrolną)	Źródło
ZnO	biosyntezy z ekstraktu z zielenicy <i>Halimeda tuna</i> i ZnO	bawełna (<i>Gossypium hirsutum</i>); 25; 50; 75; 100; 200 mg/L (aplikacja do medium wodnego, testy w zestawach do hydroponiki)	wzrost stężenia chlorofilu <i>a</i> , <i>b</i> , karotenoidów, długości korzenia i łodygi wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek; wzrost świeżej i suchej masy siewek wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek od 25 do 100 mg/L (dla stężenia 200 mg/L otrzymano wartości niższe niż dla 75 mg/L, ale wyższe niż dla 50 mg/L); wzrost zawartości białka w roślinach dla wszystkich zbadanych stężeń (największy dla stężenia 200 mg/L)	[197]
ZnO	metodologia niedostępna	batat (<i>Ipomoea batatas</i>); 100; 500; 1000 mg/kg (aplikacja doglebowa, testy doniczkowe)	negatywny wpływ na biomase bulw przy stężeniu 1000 mg/kg; brak wpływu pozostałych stężeń	[348]
ZnO	metodologia niedostępna	cebula (<i>Allium cepa</i>); 10; 20; 30; 40 mg/L (aplikacja do podłoża, testy kiełkowania)	lepsze wyniki otrzymano dla niższych stężeń; procent kiełkowania był najwyższy przy 20 µg/ml; długość łodygi i korzenia, wysokość siewki oraz świeża i sucha biomasa były najwyższe przy 10 µg/ml	[341]
ZnO	komercyjnie dostępne	fasola zwykła (<i>Phaseolus vulgaris</i>); 3; 6 g/L (aplikacja doglebowa, testy doniczkowe)	brak istotnego wpływu na zawartość chlorofilu; znaczny spadek ilości strąków, świeżej masy strąków i masy nasion na strąk dla obu stężeń	[349]
ZnO	komercyjnie dostępne	kawa arabska (<i>Coffea arabica</i>); 10 mg/L (aplikacja dolistna, testy doniczkowe)	zwiększenie świeżej masy korzeni, świeżej masy liści, suchej masy korzeni, suchej masy łodyg i suchej masy liści	[350]
ZnO	komercyjnie dostępne	kukurydza (<i>Zea mays</i>); 2 mg/L (aplikacja doglebowa, testy doniczkowe)	zwiększenie suchej masy łodygi i powierzchni liści	[351]
ZnO	metodologia niedostępna	ogórek (<i>Cucumis sativus</i>); 400; 800 mg/kg (aplikacja doglebowa, testy doniczkowe)	brak wpływu na wzrost roślin, wymianę gazową i zawartość chlorofilu	[352]
ZnO	biosyntezy z ekstraktu z liści <i>Parthenium</i> i Zn(NO ₃) ₂	orzech ziemny (<i>Arachis hypogaea</i>); 100; 200; 300; 400 mg/L (aplikacja donasienna, testy doniczkowe)	pozytywny wpływ wszystkich stężeń na świeżą i suchą masę, długość łodygi i korzenia, zawartość chlorofilu, fenoli, cukrów redukujących, cukrów ogółem i liczbę strąków; najlepsze wyniki otrzymano dla stężenia 300 mg/L	[147]
ZnO	metodologia niedostępna	papryka roczna (<i>Capsicum annuum</i>); 0,25; 0,5; 0,75 g (aplikacja donasienna, testy kiełkowania)	większa ilość zaaplikowanych nanocząstek (0,5 i 0,75 g) wpłynęła istotnie na zwiększenie procentu kiełkowania oraz długości korzenia, łodygi i siewki; najmniejsza ilość zaaplikowanych nanocząstek (0,25 g) wpłynęła istotnie negatywnie na długość łodygi	[353]

Nanocząstki	Metoda syntezy	Roślina/dawka	Wpływ nanocząstek na roślinę (w porównaniu z grupą kontrolną)	Źródło
ZnO	syntezowane metodą zol-żel i $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>); 10; 100; 250; 500; 750; 1000 mg/kg (aplikacja dolistna i doglebowa, testy doniczkowe)	aplikacja dolistna dała lepsze rezultaty niż aplikacja doglebowa; najwyższą wysokość rośliny, długość korzenia i masę rośliny otrzymano dla stężenia 250 mg/kg; najwyższe stężenie likopenu i plon owoców dla 100 mg/kg; wzrost zawartości chlorofilu dla 750 mg/kg; a procent kiełkowania nasion dla 1000 mg/kg	[340]
ZnO	komercyjnie dostępne	pszenica (<i>Triticum aestivum</i>); 25; 50; 75; 100 mg/L (aplikacja donasienna, testy doniczkowe)	wzrost wysokości rośliny, długości kłosa, suchej masy łodygi, korzenia, kłosa i ziaren, zawartości chlorofilu <i>a</i> , <i>b</i> i karotenoidów wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek oraz spadek zawartości Cd w korzeniach, łodygach i ziarnach	[354]
ZnO	biosyntezowane z ekstraktu z liści <i>Mentha arvensis</i> L. i $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	rzepak (<i>Brassica napus</i>); 5; 15; 25 mg/L (aplikacja do podłoża, testy kiełkowania)	wszystkie stężenia zwiększyły istotnie długość korzenia i łodygi; nanocząstki istotnie poprawiły zdolność kiełkowania i wyzwoliły produkcję metabolitów wtórnych i enzymów antyoksydacyjnych	[162]
ZnO	komercyjnie dostępne	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>); 0,1; 1; 10; 100; 1000 mg/L (b.d. o sposobie aplikacji, testy kiełkowania)	pozytywny wpływ stężeń poniżej 10 mg/L na długość korzenia i łodygi; znaczny negatywny wpływ stężeń 100 i 1000 mg/L na długość korzenia i łodygi; negatywny wpływ stężeń powyżej 1 mg/L na świeżą masę siewek	[355]
ZnO	Syntezowane z karboksymetylocelulozy sodowej i $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	sałata (<i>Lactuca sativa</i>); 0,025; 0,05; 0,5; 5; 50 mg/L (aplikacja do podłoża, testy kiełkowania)	zwiększenie procentu kiełkowania dla stężeń 0,025 i 0,05 mg/L; negatywny wpływ wszystkich stężeń na długość korzenia	[356]
ZnO	metodologia niedostępna	słonecznik (<i>Helianthus annuus</i>); 2g/L (aplikacja dolistna, testy doniczkowe)	pozytywny wpływ nanocząstek na suchą masę łodygi w porównaniu z tlenkiem cynku podanym nie w formie nanocząstek	[357]
ZnS	chemiczna redukcja ZnSO_4 i Na_2S	kapusta (<i>Brassica juncea</i>); 5; 15; 25; 50; 100 mg/L (aplikacja dolistna, testy doniczkowe)	stężenie 15 mg/L wpłynęło pozytywnie na wzrost siewek i zwiększyło zawartość chlorofilu i cukrów; stężenia 15-100 mg/L spowodowały wzrost poziomu glutationu zredukowanego; stężenia 25-100 mg/L zwiększyły całkowitą zawartość askorbinianu	[358]
$\text{Mn}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$	metoda hydrotermiczna wspomagana mikrofalami i $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; temp. syntezy: 100, 120, 140, 160, 180 °C	dynia (<i>Cucurbita pepo</i>); 10; 20; 30 mg/L (aplikacja dolistna, testy polowe)	największy wzrost plonu otrzymano dla nanocząstek o stężeniu 10 mg/L syntezowanych w 160°C; największą zawartość składników organicznych oraz energię liści dla nanocząstek o stężeniu 30 mg/L syntezowanych w 180°C; największą zawartość składników organicznych oraz energię owoców dla nanocząstek o stężeniu 20 mg/L syntezowanych w 180 °C	[359]

grupa kontrolna – woda destylowana

b.d. – brak danych

(b) Miedź (Cu)				
Nanocząstki	Metoda syntezy	Roślina/dawka	Wpływ nanocząstek na roślinę (w porównaniu z grupą kontrolną)	Źródło
Cu	komercyjnie dostępne	dąb angielski (<i>Quercus robur</i>); 5; 25; 50 mg/L (aplikacja dolistna, testy w szklarni)	żadne stężenie nie wpłynęło znacząco na badane parametry wzrostu (długość łodygi, średnicę korzenia, suchą masę łodygi i korzenia oraz całkowitą długość korzenia)	[360]
Cu	chemiczna redukcja CuCl ₂ w medium żelatynowym przy zastosowaniu hydratu hydrazyny	nikla indyjska (<i>Cajanus cajan</i>); 10 mg/L (aplikacja doglebowa, testy doniczkowe)	zwiększenie długości łodygi i korzenia, świeżej i suchej masy łodygi i korzenia w porównaniu z grupą kontrolną; równoczesne zastosowanie nanocząstek i grzyba <i>Piriformospora indica</i> spowodowało poprawienie tych parametrów w porównaniu do zastosowania tych metod stymulacji osobno	[361]
Cu	biosyntezowane z soku z cytryny i CuSO ₄	nikla indyjska (<i>Cajanus cajan</i>); 20 mg/L (metoda aplikacji – b.d., testy doniczkowe)	znaczący wzrost wysokości roślin, długości korzeni oraz świeżej i suchej biomasy	[362]
Cu	metodologia niedostępna	pomidor (<i>Solanum lycopersicum</i>); 50; 125; 250; 500 mg/L (aplikacja dolistna, testy w szklarni)	dla wszystkich stężeń uzyskano zwiększenie parametrów owoców: całkowitej zawartości białka (największy dla 50 mg/L) zawartości witaminy C (największy dla 250 mg/L), zawartości likopenu (największy dla 50 mg/L); wzrost zawartości glutationu przy stężeniu 500 mg/L; wzrost całkowitej zawartości fenoli dla stężenia 250 mg/L, spadek dla stężeń 50 i 125 mg/L; wzrost zawartości flawonoidów dla stężeń 50-250 mg/L, spadek dla stężenia 500 mg/L	[343]
Cu	metodologia niedostępna	pszenica (<i>Triticum aestivum</i>); stężenie – b.d. (aplikacja do podłoża, testy kiełkowania)	spadek procentu kiełkowania nasion, długości korzenia i łodygi	[363]
Cu	redukcja z NaBH ₄ , karboksymetylocelulozą i CuSO ₄ ·5H ₂ O	soja (<i>Glycine max</i>); 0,080; 0,200; 0,320 g/ha (aplikacja donasienna, testy kiełkowania i polowe (tylko 0,080 g/ha))	Testy kiełkowania – wzrost procentu kiełkowania nasion dla stężenia 0,08 g/h, brak wpływu stężenia 0,2 g/h i negatywny wpływ stężenia 0,32 g/ha; pozytywny wpływ obu niższych stężeń na długość korzenia i łodygi, negatywny wpływ najwyższego stężenia; testy polowe – pozytywny wpływ na zawartość chlorofilu, liczę brodawek korzeniowych, liczbę strąków na roślinę, masę 1000 ziaren i plon; negatywny wpływ na masę strąków	[364]
Cu	komercyjnie dostępne	kolendra (<i>Coriandrum sativum</i>); 20; 80 mg/kg (aplikacja doglebowa, testy doniczkowe)	brak wpływu na kiełkowanie nasion i zawartość chlorofilu	[339]
CuO			negatywny wpływ na procent kiełkowania nasion; brak wpływu na zawartość chlorofilu	

Nanocząstki	Metoda syntezy	Roślina/dawka	Wpływ nanocząstek na roślinę (w porównaniu z grupą kontrolną)	Źródło
CuO	metodologia niedostępna	batat (<i>Ipomoea batatas</i>); 100; 500; 1000 mg/kg (aplikacja dogłębowa, testy doniczkowe)	negatywny wpływ na masę bulw przy stężeniu 1000 mg/kg; brak wpływu niższych stężeń	[348]
CuO	komercyjnie dostępne	rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>); 0,1; 1; 10; 100; 1000 mg/L (b.d. o sposobie aplikacji, testy kiełkowania)	brak wpływu stężeń poniżej 100 mg/L na długość korzenia i łodygi oraz stężeń poniżej 10 mg/L na świeżą masę siewek; znaczny negatywny wpływ stężeń 100 i 1000 mg/L na długość korzenia i łodygi; negatywny wpływ stężeń powyżej 1 mg/L na świeżą masę siewek	[355]
CuO	metodologia niedostępna	sałata (<i>Lactuca sativa</i>); kapusta (<i>Brassica oleracea</i>); 10; 250 mg na roślinę (aplikacja do medium, testy w zestawach do hydroponiki)	spadek masy roślin, poziomu fotosyntezy i zawartości wody dla obu stężeń	[365]
CuO	synteza z karboksymetylocelulozą sodową i $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	sałata (<i>Lactuca sativa</i>); 0,02; 0,04; 0,4; 4; 8 mg/L (aplikacja do podłoża, testy kiełkowania)	pozytywny wpływ stężeń 0,02-4 mg/L na procent kiełkowania nasion; negatywny wpływ stężenia 8 mg/L; negatywny wpływ wszystkich stężeń na długość korzenia;	[356]

grupa kontrolna – woda destylowana

b.d. – brak danych

Jednym z najważniejszych czynników branych pod uwagę przy stymulacji roślin nanocząstkami jest ich stężenie. W przypadku nanocząstek ZnO badane stężenia wahały się od 0,025 mg/L [356] do 6 g/L [349], natomiast w przypadku nanocząstek Cu i CuO od 0,02 mg/L [356] do 0,5 g/L [343], co wynika z większej toksyczności miedzi [348]. Niektóre parametry biometryczne roślin wzrastają ze wzrostem stężenia nanocząstek, ale zbyt wysokie stężenia mogą być toksyczne dla rośliny, co miało miejsce m.in. w przypadku masy świeżej i suchej biomasy bawełny stymulowanej nanocząstkami ZnO (dla stężeń do 100 mg/L wartości masy rosły wraz ze wzrostem stężenia, natomiast dla stężenia 200 mg/L zaobserwowano niższe wartości masy niż dla stężeń 75 i 100 mg/L) [197]. Na podstawie danych zebranych w Tabeli 9 można stwierdzić, że najskuteczniejsza dawka nanocząstek różni się w zależności od badanej rośliny i użytego metalu (lub tlenku metalu). Niektóre stężenia mogą poprawiać wzrost jednych roślin i być toksyczne dla innych, np. stężenia nanocząstek ZnO do maksymalnie 50 mg/L wpłynęły negatywnie na długość korzenia sałaty [356], ale znacznie wyższe stężenia (od 100 do 400 mg/L) wpłynęły pozytywnie na długość korzenia orzecha ziemnego [147]. Efekty mogą się różnić także w przypadku różnych metod aplikacji, np. najbardziej odpowiednie dawki do stosowania doglebowego (do podłoża) są wyższe od tych przeznaczonych do stosowania dolistnego [340]. Ze względu na różnice w sposobie aplikacji oraz w badanych gatunkach roślin w publikacjach zestawionych w Tabeli 9, trudno jest określić, które dawki danych nanocząstek są najskuteczniejsze.

2.3.9. Jednoczesne zastosowanie czynników fizycznych i bioproduktów na bazie makroalg w rolnictwie

Do tej pory opublikowano bardzo niewiele wyników badań dotyczących jednoczesnego wpływu stosowania bioproduktów na bazie makroalg i czynników fizycznych na kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Wszystkie te badania zostały wykonane w ramach współpracy zespołu badawczego dr hab. inż. Izabeli Michalak, prof. uczelni z Katedry Zaawansowanych Technologii Materiałowych Politechniki Wrocławskiej, prof. dr. hab. inż. Jerzego Detyny z Katedry Mechaniki, Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej z Politechniki Wrocławskiej i dr hab. inż. Sylwii Lewandowskiej, prof. uczelni z Katedry Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (UPWr) [12], [13], [16], [17], [337].

Dotychczas jedynym bioproduktem na bazie makroalg wykorzystywanym w celu jednoczesnej stymulacji nasion razem z czynnikiem fizycznym był ekstrakt z makroalgi słodkowodnej *Cladophora glomerata*. Wszystkie badania prowadzone były w warunkach

laboratoryjnych. Zestawienie wyników badań dla jednoczesnej stymulacji nasion czynnikiem fizycznym i ekstraktem algowym z *C. glomerata* przedstawiono w Tabeli 10.

Tabela 10. Zestawienie czynników fizycznych wykorzystywanych do przedsiewnej stymulacji nasion w połączeniu ze stymulacją ekstraktem algowym z *Cladophora glomerata*

Czynnik fizyczny	Parametry czynnika fizycznego	Stężenie ekstraktu algowego [%]	Roślina	Efekt (w porównaniu do kontroli)	Źródło
bliska podczerwień	3; 5 min; 700-2000 nm	50; 100	soja (<i>Glycine max</i>)	negatywny wpływ na procent kiełkowania nasion każdej kombinacji czasu stymulacji i stężenia ekstraktu; brak różnic istotnych statystycznie dla zwiększenia zawartości chlorofilu w liściach	[12]
stałe pole magnetyczne	3; 6; 12 min; 400 mT	10	soja (<i>Glycine max</i>)	najwyższy procent kiełkowania nasion przy czasie stymulacji 12 min	[17]
stałe pole magnetyczne	3; 6; 12 min; 400 mT	10	soja (<i>Glycine max</i>)	najwyższy procent kiełkowania nasion i zawartość chlorofilu w liściach przy czasie stymulacji 3 min	[13]
zmienne pole magnetyczne	1; 2,5; 5 min; 30 mT; 50 Hz	10	soja (<i>Glycine max</i>)	najwyższy procent kiełkowania nasion i zawartość chlorofilu w liściach przy czasie stymulacji 2,5 min	[13]
stałe pole magnetyczne	3; 6; 12 min; 500; 1000 mT	20	marchew zwyczajna (<i>Daucus carota</i>)	brak istotnie statystycznego wpływu na procent kiełkowania nasion; pozytywny wpływ jednoczesnej stymulacji ekstraktem algowym i polem magnetycznym (6 min, 1 T) na zawartość fosforu w siewkach w porównaniu do grup stymulowanych tylko jednym czynnikiem	[16]

2.4. Podsumowanie przeglądu bibliograficznego

Zarówno czynniki fizyczne, jak i bioprodukty wytworzone na bazie makroalg były często wykorzystywane w rolnictwie do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Jendak w badaniach tych, czynniki te badane były pojedynczo, w różnych warunkach doświadczalnych, co uniemożliwia wskazanie najlepszej metody stymulacji wzrostu roślin. Wyzwaniem badawczym podjętym w niniejszej pracy doktorskiej było przeprowadzenie szerokiej gamy doświadczeń, mających na celu wybór czynnika fizycznego oraz produktu na bazie alg, które warunkują najlepsze kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Nowatorskim podejściem było połączenie tych dwóch metod stymulacji nasion. Przeprowadzone kompleksowe badania umożliwią również wskazanie, które gatunki makroalg są skutecznymi biostymulatorami wzrostu roślin. Nowością w badaniach było także jednoczesne wykorzystanie czynników fizycznych i nanocząstek tlenków metali do przedsiewnej stymulacji nasion. Przeprowadzone badania literaturowe, pozwoliły na wskazanie luki badawczej, która stała się wyzwaniem badawczym.

3. Cel i zakres pracy

Problem badawczy: Obecnie stosowane metody stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin zakładają używanie środków chemicznych, które są szkodliwe dla środowiska. Konieczne jest więc poszukiwanie nowych, przyjaznych dla środowiska metod. Motywacją do podjęcia tematu mojej pracy jest chęć zwiększenia plonów roślin poprzez wykorzystanie niechemicznych metod stymulacji wzrostu roślin (czynników fizycznych) oraz produktów na bazie makroalg (ekstraktów i nanocząstek tlenków metali biosyntezyowanych z użyciem ekstraktów algowych), umożliwiających ograniczenie chemizacji rolnictwa.

Celem głównym mojej pracy doktorskiej jest opracowanie bezpiecznych dla środowiska metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin, poprzez zastosowanie przedsiewnej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi oraz bioproduktów na bazie biomasy makroalg (aplikowanych zarówno przedsiewnie, jak i w trakcie wzrostu roślin). W ramach celu głównego sformułowano następujące cele szczegółowe:

1. Wybór czynników fizycznych do przedsiewnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin.
2. Zbadanie wpływu czasu i wartości indukcji magnetycznej na kiełkowanie nasion i wzrost roślin dla przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym.
3. Zbadanie wpływu czasu, częstotliwości i wartości indukcji magnetycznej na kiełkowanie nasion i wzrost roślin dla przedsiewnej stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym.
4. Zbadanie wpływu czasu na kiełkowanie nasion i wzrost roślin dla przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami.
5. Wybór makroalg do produkcji bioproduktów (biostymulatorów wzrostu roślin) stosowanych do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin.
6. Zbadanie wpływu ekstraktów algowych otrzymanych przy użyciu ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganiej ultradźwiękami z różnych gatunków makroalg na kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Wybór odpowiedniego stężenia i metody aplikacji (donasienna, doglebowa/ do podłoża i dolistna) ekstraktu.
7. Biosynteza nanocząstek tlenków metali (cynku i miedzi) z użyciem ekstraktów algowych. Porównanie różnych parametrów metod biosyntezy.

8. Zbadanie wpływu wybranych nanocząstek na kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Wybór odpowiedniego stężenia nanocząstek. Analiza właściwości przeciwgrzybiczych i przeciwbakteryjnych otrzymanych nanocząstek.
9. Jednoczesna stymulacja nasion wybranym czynnikiem fizycznym i produktem na bazie makroalg
10. Zagospodarowanie biomasy odpadowej – pozostałości poekstrakcyjnej, otrzymanej w wyniku ekstrakcji na biosorbenty stosowane do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych.

Nowością w mojej pracy jest zastosowanie jednocześnie produktów na bazie makroalg (ekstraktów oraz nanocząstek ZnO i CuO), wytwarzanych z użyciem technologii przyjaznych dla środowiska i czynników fizycznych (stałe i zmienne pole magnetyczne, ultradźwięki) do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Dodatkowo w pracy została zaproponowana technologia zagospodarowania odpadowej biomasy makroalg (od surowca – biomasa alg, po produkt – ekstrakty oraz powstające produkty uboczne – pozostałość poekstrakcyjna).

Badania prowadzone w ramach niniejszego doktoratu są interdyscyplinarne, zakładają połączenie trzech dyscyplin naukowych – inżynierii chemicznej, inżynierii mechanicznej oraz rolnictwa i ogrodnictwa. Badania prowadzone są w pełnym cyklu badawczym – od badań podstawowych (dobór parametrów czynników fizycznych do stymulacji nasion, wytwarzanie i charakterystyka produktów na bazie alg), po analizę właściwości użytkowych – testy na wybranych gatunkach roślin, weryfikujące postawione hipotezy badawcze.

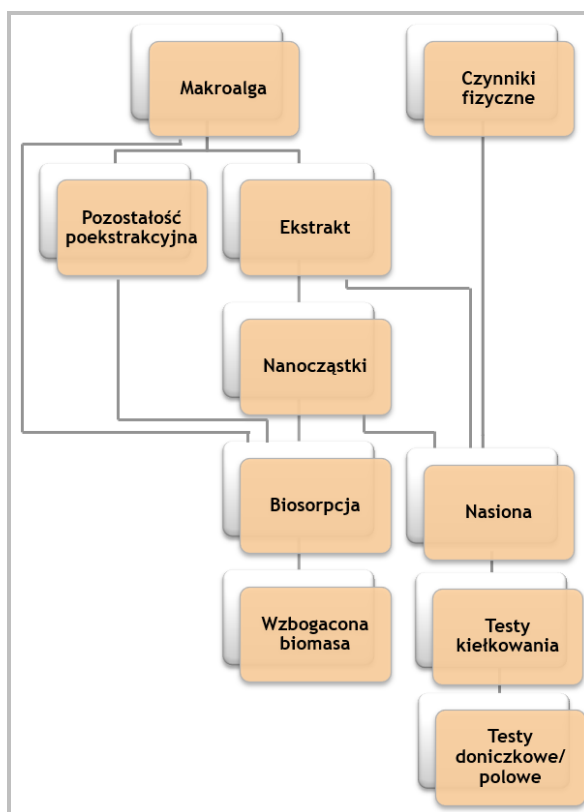
Uwzględniając wyniki z przeprowadzonego przeglądu bibliograficznego, jak również przyjęty cel pracy sformułowano następujące **hipotezy badawcze**:

1. Zaproponowane technologie waloryzacji biomasy odpadowej makroalg umożliwią wytworzenie skutecznych preparatów dla rolnictwa stymulujących kiełkowanie nasion i wzrost roślin.
2. Produkty na bazie makroalg (np. ekstrakty algowe, nanocząstki metali/ tlenków metali) oraz czynniki fizyczne (np. pole magnetyczne, ultradźwięki) wpływają pozytywnie na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.
3. Jednoczesna stymulacja nasion czynnikami fizycznymi oraz produktami na bazie makroalg pozwoli osiągnąć lepsze efekty dla parametrów takich jak: procent

kiełkowania nasion, masa części nadziemnej, długość części nadziemnej, długość korzenia, zawartość chlorofilu w liścieniach lub liściach.

4. Makroalgi oraz pozostałość poekstrakcyjna stanowią skuteczne biosorbenty do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych (np. ze ścieków).

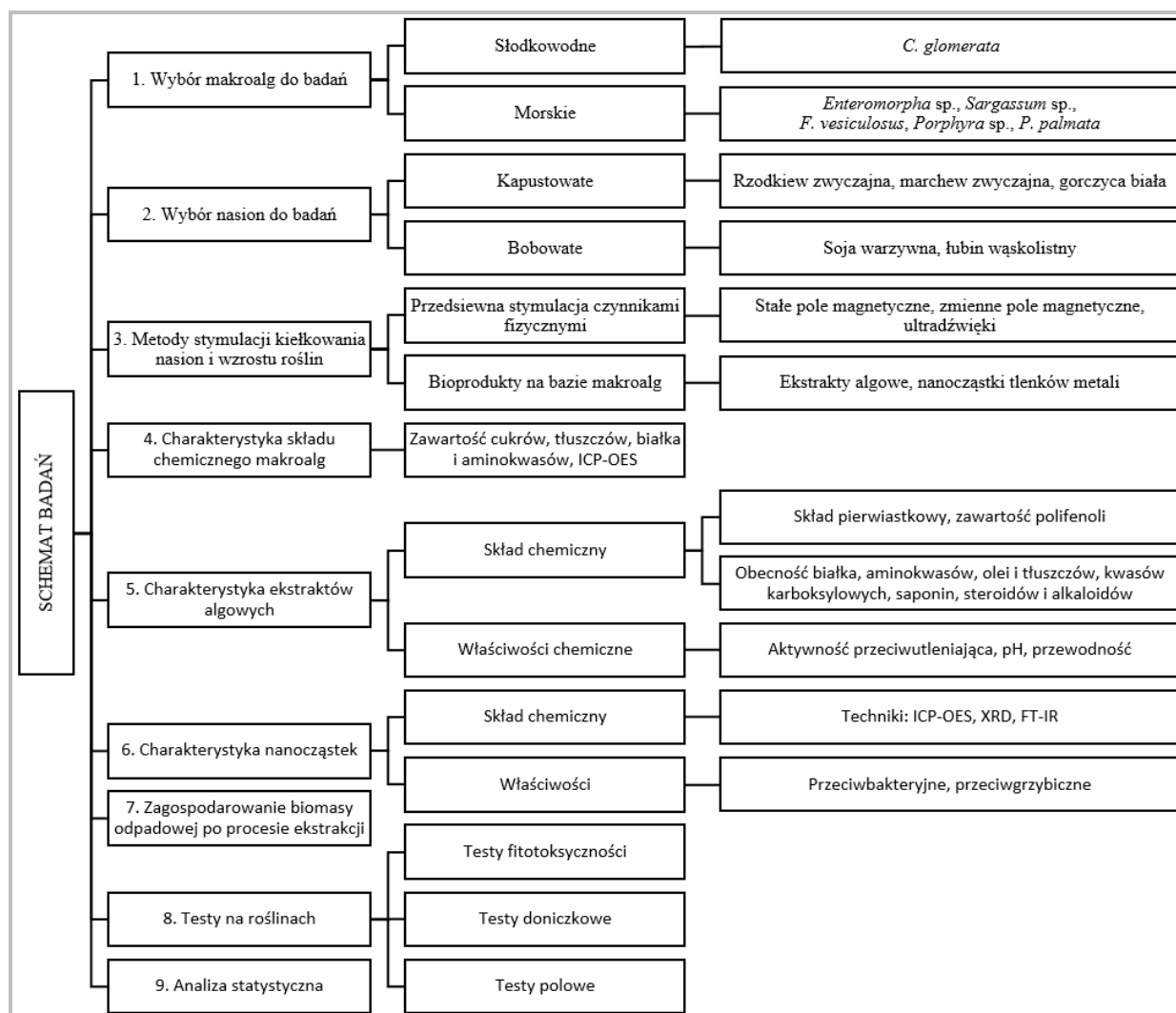
W celu weryfikacji postawionych hipotez badawczych, zaplanowane badania były podzielone na trzy części. Pierwsza część zakładała wykorzystanie czynników fizycznych, a druga makroalg do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Trzecia część dotyczyła zastosowania makroalg oraz uzyskanej pozostałości poekstrakcyjnej jako biosorbentów jonów metali ciężkich z roztworów wodnych. Z makroalg wytwarzany był ekstrakt (ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana ultradźwiękami), który posłużył zarówno do stymulowania kiełkowania nasion i wzrostu roślin, jak i do biosyntezy nanocząstek tlenków metali (cynku i miedzi). Nanocząstki zostały wykorzystane zarówno do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Podczas produkcji ekstraktu otrzymana została także pozostałość poekstrakcyjna, która (tak jak i sama alga) posłużyła do biosorpcji jonów metali ciężkich. Równocześnie, te same nasiona zostały poddane stymulacji czynnikami fizycznymi (stałym lub zmiennym polem magnetycznym, ultradźwiękami). Ogólny schemat badań przedstawiony jest na Rysunku 9.



Rysunek 9. Ogólny schemat badań przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej (źródło: K. Dziergowska)

4. Materiały i metody

Schemat badań, zrealizowanych w ramach rozprawy doktorskiej przedstawiono na Rysunku 10.



Rysunek 10. Schemat przeprowadzonych badań (źródło: K. Dziergowska)

4.1. Odczynniki i sprzęt

Odczynniki chemiczne użyte w ramach przeprowadzonych badań zostały wymienione w Tabeli 11, a wykorzystany sprzęt w Tabeli 12.

Tabela 11. Zestawienie odczynników chemicznych użytych do badań

Odczynnik	Wzór chemiczny	Producent	Miasto	Kraj
aceton	CH_3COCH_3	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
azotan chromu (III) 9-wodny	$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Honeywell Fluka™	Charlotte, NY	USA
azotan cynku (II) 6-wodny	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Chempur®	Piekary Śląskie	Polska
azotan srebra	AgNO_3	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
chlorek baru 0,1 mol/L	BaCl_2	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
chromian (VI) potasu	K_2CrO_4	Sigma-Aldrich	Saint Louis, MI	USA
chloroform	CHCl_3	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
Difco™ Potato Dextrose Agar	-	Becton Dickinson	Franklin Lakes, NJ	USA
2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (DPPH)	$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_6$	Sigma-Aldrich	Saint Louis, MI	USA
etanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
izopropanol	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	Chemsolute	Roskilde	Dania
kwaz azotowy (65%, m/m) EMSURE ACS	HNO_3	Merck	Darmstadt	Niemcy
kwaz chlorowodorowy (35–38%, m/m)	HCl	Chempur®	Piekary Śląskie	Polska
kwaz galusowy jednowodny	$\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich	Saint Louis, MI	USA
kwaz 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboksylowy (Trolox)	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$	Sigma-Aldrich	Saint Louis, MI	USA
kwaz siarkowy (VI)	H_2SO_4	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
kwaz taninowy	$\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$	Alfa Aesar	Haverhill, MA	USA
ninhydryna	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$	Sigma-Aldrich	Saint Louis, MI	USA
octan cynku (II) 2-wodny	$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Chempur®	Piekary Śląskie	Polska
octan miedzi (II) 1-wodny	$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$	Chempur®	Piekary Śląskie	Polska
odczynnik Folina-Ciocalteu	-	Merck	Darmstadt	Niemcy
metanol	CH_3OH	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
roztwory wzorcowe As, Hg, P, S i Se do analizy wielopierwiastkowej techniką ICP-OES	-	Merck	Darmstadt	Niemcy
siarczan cynku (II) 7-wodny	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
siarczan miedzi (II) 5-wodny	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Chempur®	Piekary Śląskie	Polska
siarczan streptomycyny	-	Sigma-Aldrich	Saint Louis, MI	USA

Odczynnik	Wzór chemiczny	Producent	Miasto	Kraj
Sudan III	-	Waldeck	Münster	Niemcy
winian potasu sodu 4-wodny	$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Merck	Darmstadt	Niemcy
wodorotlenek sodu	NaOH	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
wodorowęglan sodu	NaHCO_3	Honeywell Fluka™	Charlotte, NY	USA
wersenian disodu 2-wodny (EDTA)	-	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
węglan sodu	Na_2CO_3	Avantor Performance Materials	Gliwice	Polska
wielopierwiastkowy podstawowy roztwór wzorcowy do ICP	-	Merck	Darmstadt	Niemcy

Tabela 12. Zestawienie sprzętu wykorzystanego do badań

Urządzenie	Producent	Model	Kraj
Autoklaw	Sanyo	MLS-3781L	Japonia
Chlorofilomierz SPAD	Konica Minolta	502Plus	Polska
Czujnik pola magnetycznego	Asonik	SMS 102	Polska
Homogenizator ultradźwiękowy	Hielscher Ultrasonics	UP50H	Niemcy
Homogenizator ultradźwiękowy	Hielscher Ultrasonics	UP100H	Niemcy
Fitotron	POL-EKO	ST5C SMART	Polska
Fitotron	Biogenet	FITO	Polska
Fitotron	Sanyo	MLR-351H	Japonia
Generator pola magnetycznego	NDN	DF1642B	Polska
Mikrofalowy system roztwarzania	Anton Paar	Multiwave PRO	Austria
Mikroskop SEM/FIB	FEI Company	Helios NanoLab 450 HP	Holandia
Myjka ultradźwiękowa	Polsonic	Sonic 6D	Polska
pH-metr/konduktometr	Mettler Toledo	SevenCompactDuo	Polska
Sito 400, 500 i 2000 µm	Retsch	GM300	Niemcy
Skaner powierzchni liści z oprogramowaniem WinFOLIA	Epson	Perfection V700	Japonia
Spektrofotometr UV-Vis	Biosens	UV 5100	Polska
Spektrofotometr UV-Vis	Thermo Scientific	Genesys 10S	USA
Spektrometr ICP-OES	Agilent	5100	USA
Termowytrząsarka	Heidolph Instruments	Unimax 1010	USA
Wirówka	Thermo Scientific	Megafuge™ 40	USA
Wirówka	Ohaus	FC5706-K	USA
Wzmacniacz mocy	Brüel & Kjær	Type 2707	Dania

4.2. Wybór makroalg do badań

Biomasa makroalg stanowi odnawialną, taną i łatwo dostępną bazę surowcową. W ramach badań wykorzystano dwa gatunki zielenic *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp. oraz dwa gatunki brunatnic *Sargassum* sp. i *Fucus vesiculosus*, które pochodziły ze środowiska naturalnego. Algi po ręcznym zebraniu zostały oczyszczone w wodzie destylowanej z piasku i innych zanieczyszczeń, a następnie wysuszone napowietrznie. Wysuszona biomasa została zmielona w młynku i poddana analizie sitowej przy użyciu sita Retsch GM30 o wielkości ziarna 400 lub 500 µm. W celu przeprowadzenia kompleksowych badań, mających na celu porównanie właściwości biostymulujących/biosorpcyjnych alg pochodzących ze wszystkich trzech gromad, do badań zakupiono także dwa gatunki krasnorostów: *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata*. Algi występowały w formie wysuszonej i rozdrobnionej. Podobnie jak pozostałe algi zostały one dodatkowo zmielone w młynku i poddane analizie sitowej przy użyciu sita Retsch GM30 o wielkości ziarna 400 lub 500 µm. Makroalgi wykorzystane w badaniach wraz z miejscem i czasem ich zbioru zostały wymienione w Tabeli 13.

Tabela 13. Zestawienie makroalg wykorzystanych do badań

Nr	Makroalga	Rodzaj	Miejsce zbioru	Data zbioru	Osoba identyfikująca
1	<i>Cladophora glomerata</i>	zielenica słodkowodna	jezioro w miejscowości Tomaszówek koło Łodzi, Polska	październik 2016	dr hab. inż. Izabela Michalak, prof. uczelni
2	<i>Cladophora glomerata</i>	zielenica słodkowodna	Stawy Milickie, Nowy Zamek, Polska	maj 2021	dr hab. inż. Izabela Michalak, prof. uczelni
3	<i>Enteromorpha</i> sp.	zielenica morska	Morze Bałtyckie, Kołobrzeg, Polska	czerwiec 2020	dr hab. inż. Izabela Michalak, prof. uczelni
4	<i>Sargassum</i> sp.	brunatnica morska	Ocean Atlantycki, Vannes, Bretania, Francja	luty 2019	prof. Nathalie Bourgougnon
5	<i>Fucus vesiculosus</i>	brunatnica morska	Ocean Atlantycki, Vannes, Bretania, Francja	luty 2019	prof. Nathalie Bourgougnon
6	<i>Porphyra</i> sp.	krasnorost morski	Wybrzeże Północno-Zachodnie, Ameryka Północna	b.d.	zakupione z firmy Porto Munios
7	<i>Palmaria palmata</i>	krasnorost morski	zachodnie wybrzeże Irlandii/ zachodnia część kanału La Manche, Bretania, Francja	b.d.	zakupione z firmy Porto Munios

b.d. – brak danych

4.3. Wybór nasion do badań

W badaniach wykorzystano różne nasiona, gdyż zwiększenie innych parametrów kiełkowania nasion i wzrostu roślin jest kluczowe dla danego gatunku (np. zwiększenie długości hipokotylu dla rzodkwi zwyczajnej lub zwiększenie procentu kiełkowania dla marchwi zwyczajnej). Pochodzenie nasion wykorzystywanych do badań w niniejszej pracy przedstawiono w Tabeli 14.

Tabela 14. Zestawienie nasion wykorzystanych w badaniach

Roślina	Odmiana	Producent/ miejsce zakupu/ otrzymania nasion
rzodkiew zwyczajna (<i>Raphanus sativus</i>)	<i>Faraon</i>	WerbAna Sp. z o.o.
rzodkiew zwyczajna (<i>Raphanus sativus</i>)	<i>Saxa 2</i>	Vilmorin Garden Sp. z o.o.
marchew zwyczajna (<i>Daucus carota</i>)	<i>Amsterdam 3</i>	Torseed S.A.
gorczyca biała (<i>Sinapis alba</i>)	-	Tigret Sp. z o.o.
soja warzywna (<i>Glycine max</i>)	<i>Abelina</i>	Saatbau Polska Sp. z o.o.
soja warzywna (<i>Glycine max</i>)	<i>Enrei</i>	Tokyo University of Agriculture and Technology (TUAT), prof. Naoko Ohtsu
łubin wąskolistny (<i>Lupinus angustifolius</i>)	<i>Homer, Jowisz, Tytan</i>	Hodowla Roślin Smolice, Przebędowo, Polska

W badaniach wykorzystano nasiona z rodziny kapustowatych i bobowatych. Do pierwszej z tych rodzin należą rzodkiew zwyczajna, marchew zwyczajna oraz gorczyca biała, natomiast do drugiej soja warzywna oraz łubin wąskolistny.

Rzodkiew zwyczajna (*Raphanus sativus*) jest często stosowana jako roślina modelowa do testów kiełkowania ze względu na jej szybki wzrost oraz wysoką zdolność kiełkowania, a przez to łatwość w ocenie wpływu czynnika stymulującego na jej parametry wzrostu [366]. Ponadto jest to warzywo bardzo często spożywane ze względu na wysoką zawartość witamin, cukrów i kwasu foliowego oraz duże zdolności adaptacyjne do uprawiania w różnych warunkach klimatycznych [367].

Marchew zwyczajna (*Daucus carota*) w przeprowadzonych badaniach została zastosowana ze względu na wolny wzrost i niską zdolność kiełkowania (poniżej 70% [368]), co umożliwia obserwowanie efektów czynnika stymulującego na kiełkowanie nasion. Dodatkowo marchew jest niezbędnym źródłem karotenoidów (beta-karoten jest prowitaminą witaminy A) w diecie i jest bogata w błonnik pokarmowy. Jest to jedno z najczęściej spożywanych warzyw na świecie ze względu na wysoką zawartość witamin (zwłaszcza witaminy A) i minerałów. Z tego powodu bardzo ważne jest poszukiwanie metod zwiększających jej plonowanie [369], [370].

Gorzycza biała (*Sinapis alba*), podobnie jak rzodkiew zwyczajna i marchew zwyczajna, należy do rodziny kapustowatych. Nasiona gorzycy białej zostały wybrane do testów typu „Phytotoxkit”, ponieważ są one rekomendowane do oceny potencjalnego efektu fitotoksycznego stosowanych preparatów na rośliny. W przeprowadzonych badaniach testy te zostały wykorzystane do oceny fitotoksyczności nanocząstek tlenków metali [133].

Badania na nasionach z rodziny bobowatych (soja, łubin) zostały przeprowadzone w ramach współpracy z dr hab. inż. Sylwią Lewandowską, prof. uczelni z Katedry Genetyki Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Soja warzywna (*Glycine max*) należy do najważniejszych roślin strączkowych na świecie, a jej uprawa zyskuje na popularności, co wynika z możliwości jej wszechstronnego wykorzystania w różnych gałęziach przemysłu. Ze względu na swój cenny skład i właściwości służy do produkcji oleju roślinnego, paszy dla zwierząt i żywności (m.in. w postaci tofu, fasolki edamame i wegańskich zamienników mięsa). Ponieważ roślina ta jest bardzo popularna, wiele grup badawczych poszukuje nowych metod zwiększających jej plon [12], [13], [17]. Potwierdzają to dane, przedstawione w Rozdziale 2.3, dotyczące stymulacji nasion soi różnymi metodami. Dodatkowo soja, która jest obecnie dostępna na rynku, jest w większości modyfikowana genetycznie. Dlatego też w badaniach przeprowadzonych w ramach niniejsze pracy doktorskiej skupiono się na poszukiwaniu metod zwiększenia kiełkowania nasion i wzrostu soi niemodyfikowanej genetycznie.

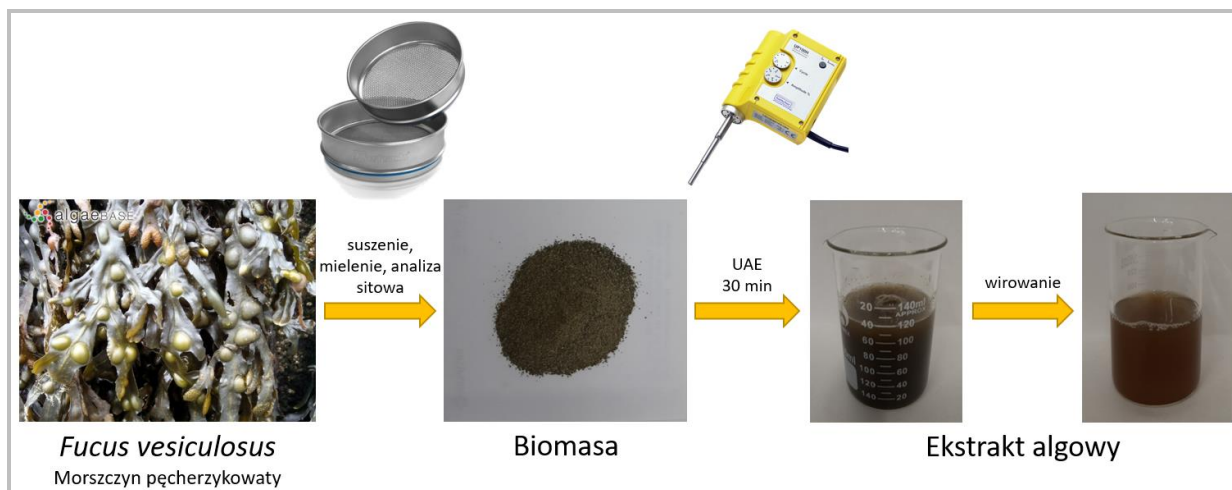
Łubin wąskolistny (*Lupinus angustifolius*) w przeciwieństwie do soi nie pojawił się w żadnych z przytoczonych badań, dlatego też interesujące było sprawdzenie wpływu biostymulatorów na kiełkowanie nasion i jego wzrost. Łubin wąskolistny podobnie jak inne rośliny strączkowe korzystnie wpływa na żyzność gleby. Roślina ta wiąże azot cząsteczkowy z atmosfery, wzbogacając w ten sposób glebę w jeden z najważniejszych składników pokarmowych roślin [371]. Jest on także używany jako pasza dla zwierząt, ze względu na wyższą niż w zbożach zawartość białka i aminokwasów egzogennych, wysoką strawność składników pokarmowych, w tym białka i aminokwasów oraz niski poziom substancji niepożądanych o szkodliwym wpływie na zwierzęta [372].

4.4. Wytwarzanie ekstraktu algowego metodą rozpuszczalnikową wspomaganą ultradźwiękami

Podczas badań przeprowadzonych w ramach realizacji pracy doktorskiej wykorzystywano czyste technologie (innowacyjne rozwiązania, które mają na celu zmniejszenie negatywnego wpływu otrzymywanych produktów na środowisko oraz promowanie długoterminowego zrównoważonego rozwoju), do których zaliczana jest ekstrakcja rozpuszczalnikowa związków bioaktywnych z makroalg wspomagana ultradźwiękami. Ekstrakt makroalgowy wytworzono z wykorzystaniem ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami zgodnie z metodyką opisaną przez Michałak i in. (2019) [13] z niewielkimi modyfikacjami. Do roztworu wodnego (lub etanolowego) dodano odpowiednią ilość biomasy w stosunku 1 g biomasy na 20 mL rozpuszczalnika i poddano działaniu homogenizatora ultradźwiękowego UP50H lub UP100H przez 30 minut przy parametrach pracy 50 lub 100 W (w zależności od użytego homogenizatora), 30 kHz i amplitudzie 100%. Mieszanina została odwirowana przez 10 min przy prędkości 4000 rpm przy użyciu wirówki Megafuge™ 40. Otrzymany supernatant traktowany był jako 100% ekstrakt algowy. Otrzymana pozostałość poekstrakcyjna była wysuszona w temperaturze 60 °C, zmielona w młynku i poddana analizie sitowej przy użyciu sita Retsch GM30 o wielkości ziarna 400 lub 500 µm (w celu późniejszego wykorzystania jako biosorbent jonów metali). W Tabeli 15 przedstawiono warianty, dla których przeprowadzono proces ekstrakcji biomasy alg. Przy każdym opisie badań z wykorzystaniem danego ekstraktu algowego znajduje się numer odpowiadający sposobowi jego przygotowania według danych zawartych w Tabeli 15. Schemat przygotowania ekstraktu algowego na przykładzie makroalgi *Fucus vesiculosus* został przedstawiony na Rysunku 11.

Tabela 15. Modyfikacje stosowane przy wytwarzaniu ekstraktów algowych

Numer	Masa algi [g]	Objętość rozpuszczalnika [mL]
1	4	80
2	6	120
3	8	160



Rysunek 11. Schemat przygotowywania ekstraktu algowego (źródło: K. Dziergowska)

4.5. Biosynteza nanocząstek tlenków metali z użyciem ekstraktów algowych

Nanocząstki tlenku cynku i miedzi syntezowano z wykorzystaniem ekstraktów makroalgowych na podstawie wybranych metod zebranych w Tabeli 1. Poszczególne parametry biosyntezy (rodzaj rozpuszczalnika, objętość rozpuszczalnika, objętość ekstraktu, użyty prekursor jonów metalu, odważka lub stężenie soli, czas mieszania, czas inkubacji, pH, temperatura, zastosowanie ultradźwięków lub mikrofal) były modyfikowane w celu uzyskania jak największej wydajności biosyntezy. Zestawienie wszystkich przeprowadzonych biosyntez nanocząstek przedstawiono w Tabeli 16. Ekstrakt algowy wytwarzany był zawsze przy użyciu ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami. Wszystkie otrzymane nanocząstki suszone były w temperaturze 80 °C, a po wysuszeniu rozdrobnione w moździerzu agatowym na proszek. Przedstawione zestawienie uwzględnia modyfikacje zastosowane w niniejszej pracy w porównaniu do metod podanych w źródłach literaturowych – warunki badań bez modyfikacji (zastosowane w poszczególnych publikacjach) podano w rozdziale 2.2.3 opisującym metody biosyntezy nanocząstek z ekstraktów algowych i roślinnych.

Tabela 16. Zestawienie przeprowadzonych biosyntez nanocząstek ZnO i CuO

Nr	Makroalga/ nr ekstraktu*	Rozpuszczalnik/ homogenizator/ objętość ekstraktu	Sól/ odważka lub stężenie soli/ objętość roztworu soli	Czas mieszania/ czas inkubacji [min]	Temperatura [°C]	pH	Źródło
Nanocząstki ZnO							
1	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 60 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1,2 g	120/0	80	6,7	[155]
2	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 40 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 200 mL	240/0	80	6,2	[207]
3	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 15 mL	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 100 mL	120/720	60	12,0	[203]
4	<i>Enteromorpha</i> sp./1	woda/ UP50H/ 15 mL	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 100 mL	120/720	60	12,0	[203]
5	<i>Sargassum</i> sp./1	woda/ UP50H/ 15 mL	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 100 mL	120/720	60	12,0	[203]
6	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 60 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 6 g	30/0	80	6,1	[219]
7	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 60 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 150 mL	10/0	60	7,2	[208]
8	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10,33 g	0/1080	pokojowa	12,0	[170]
9	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 15 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2,2 g, 35 mL	360/720	60	12,4	[154]
10	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
11	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
12	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
13	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	pokojowa	12,0	[206]
14	<i>C. glomerata</i> /3**	etanol/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
15	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	10,0	[206]
16	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	8,0	[206]
17	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	6,0	[206]
18	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
19	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
20	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/0	65	12,0	[206]
21	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 100 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/120	65	12,0	[206]
22	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 g	15/120	65	12,0	[206]
23	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/ 30 (poddano działaniu homogenizatora ultradźwiękowego UP100H)	pokojowa	12,0	[206]
24	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	15/ 0,5 (poddano działaniu mikrofal o mocy 850 W)	pokojowa	12,0	[206]
25	<i>F. vesiculosus</i> /2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	120/0	65	12,0	[206]
26	<i>Enteromorpha</i> sp./2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	120/0	65	12,0	[206]
27	<i>Sargassum</i> sp./2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	120/0	65	12,0	[206]
28	<i>Porphyra</i> sp./2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 g	120/0	65	12,0	[206]

Nr	Makroalga/ nr ekstraktu*	Rozpuszczalnik/ homogenizator/ objętość ekstraktu	Sól/ odważka lub stężenie soli/ objętość roztworu soli	Czas mieszania/ czas inkubacji [min]	Temperatura [°C]	pH	Źródło
Nanocząstki CuO							
29	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 25 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 mM, 100 mL	0/1440	pokojowa	10,0	[243]
30	<i>C. glomerata</i> /1**	etanol/ UP50H/ 25 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 mM, 100 mL	0/1440	pokojowa	10,0	[243]
31	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 60 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1,2 g	120/0	80	7,2	[155]
32	<i>C. glomerata</i> /1**	etanol/ UP50H/ 60 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1,2 g	120/0	80	11,9	[155]
33	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 15 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 100 mM, 100 mL	120/720	60	12,0	[203]
34	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 60 mL	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 6 g	30/0	80	4,5	[219]
35	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2,25 g	120/0	65	12,5	[178]
36	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 10 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3 g	240/0	pokojowa	12,0	[222]
37	<i>C. glomerata</i> /1**	woda/ UP50H/ 60 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,42 g, 75 mL	10/0	pokojowa	12,0	[182]
38	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	12,0	[206]
39	<i>C. glomerata</i> /3**	etanol/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	12,0	[206]
40	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	10,0	[206]
41	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	8,0	[206]
42	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	6,0	[206]
43	<i>C. glomerata</i> /3**	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/ 30 (poddano działaniu homogenizatora ultradźwiękowego UP100H)	pokojowa	12,0	[206]
44	<i>F. vesiculosus</i> /2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	12,0	[206]
45	<i>Enteromorpha</i> sp./2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	12,0	[206]
46	<i>Sargassum</i> sp./2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	12,0	[206]
47	<i>Porphyra</i> sp./2	woda/ UP100H/ 50 mL	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4 g	20/120	65	12,0	[206]

* na podstawie Tabeli 15

** makroalga nr 1 według Tabeli 13

4.6. Zagospodarowanie biomasy odpadowej po ekstrakcji związków bioaktywnych z makroalg jako biosorbentu jonów metali ciężkich

W ramach pracy doktorskiej zaproponowano również technologię zagospodarowania pozostałości poekstrakcyjnej, stanowiącej odpad po procesie ekstrakcji związków aktywnych z alg. Proponowanym zastosowaniem pozostałości poekstrakcyjnej jest wykorzystanie jej jako biosorbentu jonów metali ciężkich. W tym celu porównano zdolność do biosorpcji jonów Cr(III) z roztworów wodnych sześciu wybranych makroalg oraz powstających w wyniku ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganiej ultradźwiękami pozostałości poekstrakcyjnych. Jony chromu wybrano jako przykładowe jony metali ciężkich ze względu na prostą (spektrofotometryczną) metodę oznaczania ich stężenia w roztworach wodnych. Wcześniejsza analiza danych literaturowych (Załącznik 1) wykazała, że makroalga, która okazała się skutecznym sorbentem jonów jednego z metali ciężkich, zazwyczaj była także skutecznym sorbentem jonów innych metali ciężkich.

W pierwszym etapie badań przeprowadzono doświadczenia nad kinetyką procesu biosorpcji jonów Cr(III) w celu wyznaczenia czasu niezbędnego do osiągnięcia stanu równowagi. Zestawienie wszystkich wykonanych doświadczeń, dla różnych warunków doświadczalnych przedstawiono w Tabeli 17.

Tabela 17. Zestawienie wykonanych kinetyk procesu biosorpcji dla makroalg i pozostałości poekstrakcyjnych

Rodzaj sorbentu	pH	C ₀ [mg/L]	C _s [g/L]	t [min]
<i>Cladophora glomerata</i>				
alga	3; 4; 5	100; 200; 300 ¹	0,5; 1; 2	180
pozostałość poekstrakcyjna	3; 4; 5	100; 200; 300 ¹	0,5; 1; 2	180
<i>Enteromorpha</i> sp.				
alga ¹	3; 4; 5	100; 200; 300	0,5; 1; 2	180
pozostałość poekstrakcyjna ¹	3; 4; 5	100; 200; 300	0,5; 1; 2	180
<i>Sargassum</i> sp.				
alga	3; 4; 5 ²	100; 200; 300 ²	0,5; 1; 2	180
pozostałość poekstrakcyjna	3; 4; 5 ²	100; 200; 300 ²	0,5; 1; 2	180
<i>Fucus vesiculosus</i> (z Francji)				
alga	4; 4,5; 5	100; 200; 300	0,5; 1; 2	120
pozostałość poekstrakcyjna	4; 4,5; 5	100; 200; 300	0,5; 1; 2	120
<i>Porphyra</i> sp.				
alga	4; 4,5; 5	100; 200; 300	0,5; 1; 2	120
pozostałość poekstrakcyjna	4; 4,5; 5	100; 200; 300	0,5; 1; 2	120
<i>Palmaria palmata</i>				
alga	4; 4,5; 5 ³	100; 200; 300	0,5; 1; 2	120
pozostałość poekstrakcyjna	4; 4,5; 5 ³	100; 200; 300	0,5; 1; 2	120

C₀ – stężenie początkowe jonów Cr(III) w roztworze

C_s – stężenie sorbenta

¹ [373] ² [374] ³ [375]

Wszystkie badania prowadzone były w temperaturze pokojowej. Warunki do przeprowadzenia procesu biosorpcji (pH, stężenie początkowe jonów chromu, stężenie sorbentu, czas trwania biosorpcji) zostały wybrane na podstawie analizy danych literaturowych (Załącznik 1 i Załącznik 2). Według większości badań, usuwanie jonów Cr(III) z roztworu zachodziło najefektywniej w pH 5, ale pojawiły się też publikacje, w których uzyskano wyższe wartości pojemności biosorpcyjnej (Równanie 1) przy pH 4 lub 4,5. Przy badanych wartościach pH chrom występuje w roztworze w formie CrOH^{2+} ($\text{Cr}^{3+} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Cr(OH)}^{2+} + \text{H}^+$), natomiast przy pH 5,5 i wyższym wytrąca się osad (Cr(OH)_3) [72], [376]. Wartość pH roztworu przed biosorpcją została ustalona poprzez dodanie do roztworu wyjściowego NaOH (0,1, 1 lub 5 M) lub HCl (0,1 M). Do 200 mL przygotowanego roztworu jonów Cr(III) dodano odpowiednią ilość sorbentu (0,1, 0,2 lub 0,4 g w zależności od zadanego stężenia sorbentu). Mieszanina była mieszana na wytrząsarce (200 rpm) przez 2 lub 3 godziny. W odpowiednich odstępach czasowych (5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 min, a przy czasie trwania 3 h także 150 i 180 min) pobierano 7 mL roztworu i przesączało go przez papier filtracyjny. Stężenie jonów Cr(III) w roztworze przed i po biosorpcji badano metodą spektrofotometryczną opartą na tworzeniu fioletowego kompleksu pomiędzy jonami Cr(III) i EDTA. Po zakończeniu procesu biosorpcji 4 mL przesączu dodawano do odważonego wcześniej EDTA (0,095 g), podgrzewano przez 5 min w kąpeli wodnej w temperaturze 95 °C, mieszano przy pomocy mieszadła typu Vortex, ponownie podgrzewano przez 5 min i ochładzano do temperatury pokojowej. Następnie dokonano pomiarów absorbancji przy długości fali 540 nm. Przygotowano także krzywą standardową, która posłużyła do wyznaczenia stężenia jonów Cr(III) w roztworze.

Pojemność biosorpcyjna/sorpcyjna była obliczana ze wzoru:

$$q_t = \frac{C_0 - C_t}{C_s} \quad (1)$$

gdzie: C_0 [mg/L] – stężenie początkowe jonów Cr(III) w roztworze; C_t [mg/L] – stężenie jonów Cr(III) w danym czasie t ; C_s [g/L] – stężenie biosorbentu

Kinetyka adsorpcji opisuje zależność między ilością adsorbatów zaadsorbowanych na adsorbencie (pojemność sorpcyjna) a czasem kontaktu. Najczęściej stosowanymi modelami do opisu kinetyki adsorpcji są model kinetyczny pseudo-pierwszorzędowy oraz model kinetyczny pseudo-drugorzędowy. Zazwyczaj model kinetyczny pseudo-drugorzędowy lepiej opisuje wyniki doświadczalne [261], [262]. W celu opracowania wyników wykonanych biosorpcji użyto obu modeli, jednak tylko model pseudo-drugorzędowy pozwolił na uzyskanie wysokiego

współczynnika R^2 (czyli uzyskanie wysokiego stopnia dopasowania modelu do danych empirycznych). Model pseudo-drugorzędowy jest opisany równaniem:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_{eq} - q_t)^2 \quad (2)$$

Liniowa postać równania (2) to:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_{eq}^2} + \frac{1}{q_{eq}} t \quad (3)$$

gdzie: q_t [mg/g] – pojemność biosorpcyjna w danym czasie t ; k_2 [g/(mg·min)] – stała szybkości pseudo-drugorzędowego modelu adsorpcji; q_{eq} [mg/g] – równowagowa pojemność biosorpcyjna; t [min] – czas [261].

Dla wszystkich biosorbentów wymienionych w Tabeli 17 wykonano także statykę procesu biosorpcji dla wybranych najlepszych parametrów pH, stężenia sorbentu oraz czasu. Do przeprowadzenia procesu statyki przygotowano roztwory jonów Cr(III) o stężeniach początkowych 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250 i 300 mg/L o wybranym pH. Do 40 mL każdego roztworu dodano odpowiednią masę sorbentu, aby otrzymać wybrane stężenie sorbentu. Mieszaniny mieszano na wytrząsarce (100 rpm) przez 2 lub 3 godziny w temperaturze pokojowej. Po upływie tego czasu roztwory zostały przesączone przez papier filtracyjny. Następnie, tak samo jak w przypadku kinetyki procesu biosorpcji, 4 mL z każdego roztworu dodano do odważonego wcześniej EDTA (0,095 g), podgrzewano przez 5 min w kąpeli wodnej w temperaturze 95 °C, mieszano przy pomocy mieszadła typu Vortex, ponownie podgrzewano przez 5 min i ochładzane do temperatury pokojowej. Następnie dokonano pomiarów absorbancji przy długości fali 540 nm.

Do opisu statyki biosorpcji najczęściej wykorzystuje się model Langmuira, Freundlicha lub Temkina. Izoterma Langmuira zakłada adsorpcję jednowarstwową na homogenicznej powierzchni sorbentu i umożliwia wyznaczenie maksymalnej pojemności sorpcyjnej (q_{max}). Izoterma adsorpcji Freundlicha jest używana do opisu charakterystyki adsorpcji jednowarstwowej na powierzchni heterogenicznej mikroporowatej. Izoterma Temkina uwzględnia interakcje adsorbent-adsorbat. Model ten pomija skrajnie niskie i wysokie wartości stężeń oraz zakłada adsorpcję jednowarstwową na powierzchni niejednorodnej. Izoterma ta zakłada, że ciepło adsorpcji wszystkich cząsteczek w warstwie zmniejsza się liniowo z powodu interakcji adsorbent – adsorbat [263], [377], [378]. Dla przeprowadzonych badań najwyższy stopień dopasowania modelu do danych empirycznych (najwyższą wartość współczynnika R^2)

otrzymano w przypadku zastosowania modeli Langmuira. Model ten jest opisywany równaniem:

$$q_{eq} = q_{max} \cdot \frac{b \cdot C_{eq}}{1 + b \cdot C_{eq}} \quad (4)$$

Po linearyzacji równania (4) otrzymujemy:

$$\frac{C_{eq}}{q_{eq}} = \frac{1}{bq_{max}} + \frac{C_{eq}}{q_{max}} \quad (5)$$

gdzie: C_{eq} [mg/L] – równowagowe stężenie jonów Cr(III) w roztworze; q_{eq} [mg/g] – równowagowa pojemność biosorpcyjna; q_{max} [mg/g] – maksymalna pojemność biosorpcyjna; b [L/mg] – współczynnik izotermy adsorpcji [261], [377].

4.7. Metody analityczne

4.7.1. Charakterystyka składu chemicznego makroalg

Oznaczenie zawartości cukrów, tłuszczów, białka i aminokwasów w makroalgach

W suchej biomase trzech makroalg (zielenicy *C. glomerata* z 2016 roku, brunatnicy *Sargassum* sp. i krasnorostu *P. palmata*) oznaczono zawartość cukrów, tłuszczów, białka i aminokwasów. Badania te zostały wykonane w Laboratorium SGS Polska. Do badań wybrano po jednej, najczęściej stosowanej w ramach niniejszej pracy doktorskiej, makroalgi z każdej gromady.

Oznaczenie zawartości popiołu w makroalgach

We wszystkich makroalgach wymienionych w Tabeli 13 oznaczono zawartość popiołu. Spalanie próbek przeprowadzono w 815 °C przez 90 minut zgodnie z normą PN-ISO 1171:2002P (Paliwa stałe – oznaczanie popiołu). Badanie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Analiza wielopierwiastkowa makroalg

Analiza wielopierwiastkowa techniką ICP-OES (spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej) została wykonana dla wszystkich makroalg wymienionych w Tabeli 13, oprócz makroalgi nr 2 we współpracy z dr hab. inż. Mają Wełną, prof. uczelni i dr hab. inż. Anną Szymczycha-Madeja, prof. uczelni z Katedry Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Analizę

wielopierwiastkową próbek poprzedziła ich mineralizacja. Do rozkładu na mokro w układzie zamkniętym wspomagany energią mikrofalową zastosowano mikrofalowy system roztwarzania Multiwave PRO, wyposażony w rotor 24HVT50 w połączeniu ze zbiornikami technologii SMART VENT. Do naczynek teflonowych odważono około 0,25 g próbki stałej z dokładnością do 0,0001 g. Do każdej z próbek dodano 5,00 mL 65% kwasu azotowego. Naczynka teflonowe wraz z zawartością umieszczono w rotorze i włożono do mineralizatora mikrofalowego. Rozkład przeprowadzono z wykorzystaniem 6-stopniowego programu temperaturowego w maksymalnej temperaturze 190 °C przez 60 minut. Następnie próbki przeniesiono ilościowo do polipropylenowych pojemników o pojemności 30 mL, uzupełniając wodą dejonizowaną do 25 g (z dokładnością do 0,0001 g). Pojemniki zamknięto i przechowywano w lodówce (ok. 4 °C) do czasu pomiaru. Przygotowano po 3 równoległe powtórzenia dla każdej z analizowanych próbek. Z każdym zestawem próbek jednocześnie przygotowywano ślepe próby i uwzględniano je w końcowych wynikach. W celu uniknięcia różnic w gęstości, próbki roztworów przygotowano wagowo. Pomiary spektrometryczne wykonano przy użyciu spektrometru Ar-ICP z równoczesną emisją optyczną Agilent z palnikiem ustawionym osiowo. Do ilościowego określenia stężenia badanych pierwiastków w próbkach wykorzystano 6-punktowe krzywe kalibracyjne, obejmujące zakres stężeń 0–5,0 mg/L. Analizę wielopierwiastkową wykonaną techniką ICP-OES przeprowadzono dla wszystkich badanych makroalg. Badanie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

4.7.2. Charakterystyka ekstraktów algowych

Charakterystyka ekstraktów algowych metodami wizualnymi

Do wstępnej charakterystyki ekstraktów algowych wykorzystano metody wizualne, by sprawdzić obecność danej grupy związków. Analizy te przeprowadzono przykładowo dla ekstraktu z *Cladophora glomerata* otrzymanego przy użyciu homogenizatora UP50H (nr 1 w Tabeli 15), ponieważ był to najczęściej wykorzystywany ekstrakt do badań w ramach niniejszej pracy doktorskiej. Metody wizualne zostały wykorzystane w celu wykrycia obecności białka, aminokwasów, olei i tłuszczów, kwasów karboksylowych, saponin, steroidów i alkaloidów.

W celu identyfikacji obecności białka w ekstrakcie zastosowano reakcję biuretową. 1,5 g siarczanu miedzi 5-wodnego i 6 g winianu potasu sodu 4-wodnego rozpuszczono w 500 mL wody destylowanej, aby otrzymać odczynnik biuretowy. Następnie dodano 375 mL 2 M wodorotlenku sodu i uzupełniono roztwór wodą destylowaną do objętości 1 L. Kilka kropli otrzymanego roztworu dodano do ekstraktu algowego. Zmiana barwy na fioletową potwierdza

obecność białka w ekstrakcie [379]. Aby wykryć obecność aminokwasów w ekstrakcie algowym, przygotowano 0,2% roztwór ninhydryny w acetonie. Następnie do 2 mL otrzymanego roztworu dodano 2 mL ekstraktu i podgrzewano w kąpeli wodnej w temperaturze 100 °C przez 10 minut. Zmiana barwy na fioletową potwierdza obecność aminokwasów w ekstrakcie [379], [380]. Badanie na obecność olei i tłuszczów wykonano przy użyciu roztworu Sudan III. Roztwór ten przygotowano poprzez rozpuszczenie 0,5 g barwnika Sudan III w 99% izopropanolu. Następnie kilka kropli tak przygotowanego roztworu dodano do ekstraktu algowego. Zmiana barwy na pomarańczową potwierdza obecność olei i tłuszczów w ekstrakcie [379], [381]. Aby zidentyfikować obecność kwasów karboksylowych, 2 mL 5% węgla sodu zostały dodane do 2 mL ekstraktu algowego. Pojawienie się musowania (w wyniku otrzymania CO₂) potwierdza obecność kwasów karboksylowych w roztworze [379], [382]. Podczas badania na obecność saponin, 5 mL ekstraktu dodano do 1 mL wody destylowanej i mieszano energicznie na mieszadle typu Vortex przez 15 min. Następnie odstawiono probówkę na 5 min. Po upływie tego czasu zmierzono wysokość piany. Im wyższa piana, tym wyższa zawartość saponin w ekstrakcie [379]. Do wykrycia obecności steroidów posłużyła próba Salkowskiego. Do 2 mL ekstraktu dodano 2 mL chloroformu i 2 mL kwasu siarkowego (95%). Pojawienie się brązowego pierścienia świadczy o obecności steroidów w ekstrakcie [379]. W badaniu na wykrycie obecności alkaloidów dodano 1 mL 10% roztworu kwasu taninowego do 2 mL ekstraktu. Zmiana barwy roztworu na płowy świadczy o obecności alkaloidów w ekstrakcie [379].

Analiza wielopierwiastkowa ekstraktów algowych i pozostałości poekstrakcyjnej

Analiza wielopierwiastkowa techniką ICP-OES została wykonana dla ekstraktów algowych i pozostałości poekstrakcyjnej otrzymanych ze wszystkich makroalg wymienionych w Tabeli 13. Metodyka opisana została w rozdziale 4.6.1. Do mineralizacji ekstraktów algowych odważono 5 g próbki ciekłej z dokładnością do 0,0001 g.

Pomiar zawartości polifenoli w ekstraktach algowych

Ogólną zawartość związków fenolowych w ekstraktach algowych oznaczono zgodnie z normą ISO 14502-1, stosując odczynnik Folina-Ciocalteu [383]. Do przygotowania krzywej wzorcowej użyto kwasu galusowego. Absorbancję mierzono na spektrofotometrze przy długości fali 765 nm. Stężenie związków fenolowych w ekstrakcie wyrażono w mg/L równowartości kwasu galusowego (KG). Analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Badania stężenia chlorków i siarczanów w ekstrakcie algowym

Do wyznaczenia stężenia chlorków i siarczanów w ekstrakcie z *C. glomerata* wytwarzanego przy użyciu homogenizatora UP50H (nr 1 w Tabeli 15) zastosowano miareczkowanie. Do badań użyto rozcieńczonego ekstraktu (10%), żeby mieć możliwość obserwacji zmiany koloru w trakcie miareczkowania. Roztwór o stężeniu 100% miał ciemny oliwkowo-zielony kolor. Stężenie chlorków w ekstrakcie zostało wyznaczone poprzez miareczkowanie 100 mL 10% ekstraktu 0,1 M roztworem azotanu srebra do zmiany koloru na żółto-brunatny. Przed miareczkowaniem do ekstraktu dodano 1 mL 10% chromianu (VI) potasu. Stężenie chlorków w ekstrakcie zostało wyznaczone na podstawie równania (6):

$$C_{Cl^-} = \frac{(a - 0,3) \cdot 1000 \cdot 3,55}{V} \left[\frac{mg}{L} \right] \quad (6)$$

gdzie: a – objętość zużytego titranta (mL); V – objętość ekstraktu (mL).

Stężenie siarczanów w ekstrakcie algowym zostało wyznaczone poprzez miareczkowanie 50 mL 10% ekstraktu 0,01 M roztworem chlorku baru do zmiany koloru na niebieski. Przed miareczkowaniem do ekstraktu dodano 4 mL kwasu chlorowodorowego (1:10), 50 mL acetonu i 3-4 krople ninhydryny do zmiany barwy roztworu na fioletowy. Stężenie siarczanów w ekstrakcie zostało wyznaczone na podstawie równania (7):

$$C_{SO_4^{2-}} = \frac{a \cdot 0,01 \cdot 96 \cdot 1000}{V} \left[\frac{mg}{L} \right] \quad (7)$$

gdzie: a – objętość zużytego titranta (mL); V – objętość ekstraktu (mL).

Badania przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Pomiar pH i przewodności elektrycznej ekstraktów algowych

Dla każdego otrzymanego ekstraktu algowego dokonano pomiaru wartości pH i przewodności w 3 powtórzeniach przy użyciu pH-metru/konduktometru Seven Multi.

Oznaczanie aktywności przeciwutleniającej ekstraktów algowych przy użyciu DPPH

Aktywność przeciwutleniającą ekstraktów algowych wyznaczono za pomocą metody opisanej przez Brand-Wiliams i in. (1998) przy użyciu syntetycznego rodnika DPPH [384]. Do przygotowania krzywej wzorcowej użyty został Trolox. Absorbancja była mierzona na spektrofotometrze przy 515 nm. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów algowych została wyrażona jako pojemność przeciwutleniająca równoważna Trolox.

4.7.3. Charakterystyka nanocząstek tlenków metali biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktów algowych

Analiza wielopierwiastkowa nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Analiza wielopierwiastkowa techniką ICP-OES została wykonana dla nanocząstek tlenku cynku nr 3-5, 12, 14, 23 i 25-28 i tlenku miedzi nr 31, 33 i 44-47 według Tabeli 16. Metodyka opisana została w rozdziale 4.6.1.

Widmo UV-Vis nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Obecność nanocząstek w zawiesinach uzyskanych podczas ich biosyntezy potwierdzono wykorzystując metodę spektroskopii absorpcyjnej UV-Vis w zakresie długości fali 250-950 nm, w temperaturze pokojowej, z zastosowaniem spektrofotometru GENESYS™10S. Analizę spektrofotometryczną UV-Vis wykonywano w trakcie syntezy wszystkich nanocząstek, przed odwirowaniem zawiesiny. Celem tej analizy jest sprawdzenie czy na widmie pojawia się charakterystyczny pik, który można przypisać danym nanocząstkom. Roztwór przed wykonaniem widma był rozcieńczony 5-10 krotnie, tak aby możliwe było zaobserwowanie całego widma. Widmo UV-Vis wykonano dla tych samych nanocząstek, dla których przeprowadzono analizę wielopierwiastkową ICP-OES, czyli nanocząstek tlenku cynku nr 3-5, 12, 14, 23 i 25 tlenku miedzi nr 31, 33 i 44 według Tabeli 16. Obecność nanocząstek podczas wytwarzania nanocząstek nr 26-28 i 45-47 potwierdzono we wcześniej przeprowadzonych badaniach przy użyciu widma UV-Vis [385].

Spektroskopia fourierowska w podczerwieni nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Analizy spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni (FTIR) nanocząstek tlenku cynku (nr 3-5, 12, 14, 23 i 25, na podstawie Tabeli 16) zostały przeprowadzone przez Polski Ośrodek Rozwoju Technologii (PORT) będący częścią Sieci Badawczej Łukasiewicz. Do identyfikacji grup funkcyjnych w wybranych próbkach zastosowano spektrometr FTIR z przystawką ATR (Nicolet 6700, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Liczba wykonanych skanów wynosiła 32, a rozdzielczość 4 cm^{-1} . Wykonano także analizy FTIR dla nanocząstek tlenku cynku nr 26-28 i nanocząstek tlenku miedzi nr 45-47, które opisano we wcześniej opublikowanych badaniach [385].

Skaningowa mikroskopia elektronowa nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Zdjęcia mikroskopem SEM/FIB (Helios Nanolab 450 HP, FEI) zostały wykonane dla wybranych nanocząstek tlenku cynku (nr 12, 14, 23 i 25 na podstawie Tabeli 16) i tlenku miedzi (nr 33 na podstawie Tabeli 16) przez ośrodek PORT. Do obrazowania SEM próbki

przeniesiono bezpośrednio na taśmę węglową naklejoną na stoliki SEM. Ze względu na silne ładowanie próbek pokryto je warstwą węgla o małej grubości około 10 nm. Natomiast na potrzeby liczenia nanocząstek, w celu rozbicia większych aglomeratów, wszystkie próbki zdyspergowano w metanolu i naniesiono na podłoża krzemowe. Przeprowadzono także analizę składu pierwiastkowego (EDS) uśrednioną po dużym obszarze ok. 100 x 100 μm^2 . Zdjęcia SEM dla nanocząstek tlenku cynku nr 26-28 i nanocząstek tlenku miedzi nr 45-47 opisano we wcześniej opublikowanych badaniach [385].

Dyfraktometria rentgenowska nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Dyfraktometria rentgenowska (XRD) została wykonana w celu analizy struktury krystalicznej nanocząstek. Analizy zostały przeprowadzone w ośrodku PORT. Próbki do badań (3 g) były rozdrobnione w moździerzu agatowym. Następnie badano je za pomocą dyfraktometru rentgenowskiego wyposażonego w detektor PIXcel3D (Empyrean, PANalytical, Malvern, UK). Parametry pracy dyfraktometru to: napięcie 40 kV, prąd 40 mA, promieniowanie CuK α $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$. Zastosowano geometrię pomiarową Bragga-Brentano. Wyniki przedstawiono w postaci uzyskanych dyfraktogramów. Badania zostały przeprowadzone dla wybranych nanocząstek tlenku cynku (nr 3-5, 12, 14, 23 i 25 na podstawie Tabeli 16) i tlenku miedzi (nr 31, 33 i 44 na podstawie Tabeli 16). Wykonano także badania XRD dla nanocząstek tlenku cynku nr 26-28 i nanocząstek tlenku miedzi nr 45-47, które opisano we wcześniej opublikowanych badaniach [385].

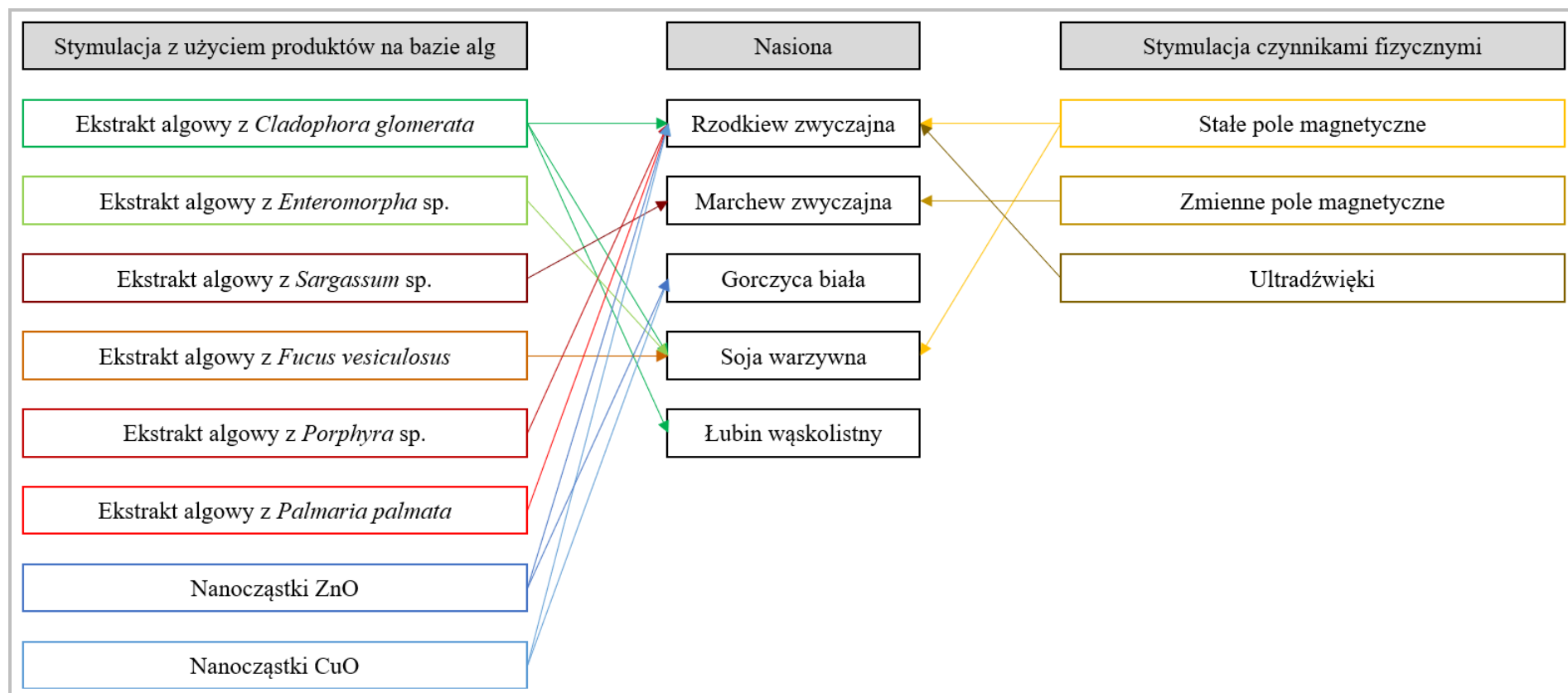
Badania właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Badania nad właściwościami przeciwgrzybiczymi i przeciwbakteryjnymi nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi zostały przeprowadzone w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu. Testy przeprowadzono na trzech rodzajach nanocząstek ZnO i trzech rodzajach nanocząstek CuO biosyntezy z ekstraktu z *C. glomerata* (nr 3 i 34 wg Tabeli 16), *Fucus vesiculosus* (nr 26 i 45 wg Tabeli 16) i *Porphyra* sp. (nr 29 i 48 wg Tabeli 16). Badania przeprowadzono dla 8 wybranych stężeń nanocząstek: 0,039, 0,078, 0,156, 0,313, 0,625, 1,25, 2,5 i 5 mg/mL. Jako grupę kontrolną zastosowano bulion cukrowy. Test polegał na bezpośrednim nakrapianiu na płytkę kolejnych stężeń (dla każdego stężenia wykonano 2 krople o pojemności 20 i 40 μL). Badania przeprowadzono na 5 szczepach bakterii (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* i *Saccharopolyspora hirsuta*) i jednym

gatunku grzybów (*Candida albicans*). Do badań użyto bakterii i grzybów, dla których podczas hodowli gęstość optyczna wynosiła 0,1 i 0,5. Szczepy bakterii i zarodniki grzybów hodowane były przez 24 h w bulionie cukrowym. Badania były poprzedzone badaniami wstępnymi dla większej ilości szczepów bakterii *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Enterococcus hirae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Saccharopolyspora hirsuta* oraz grzybów *Candida albicans*. Do badań wstępnych zastosowano stężenie 1 mg/L.

4.8. Metody stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin

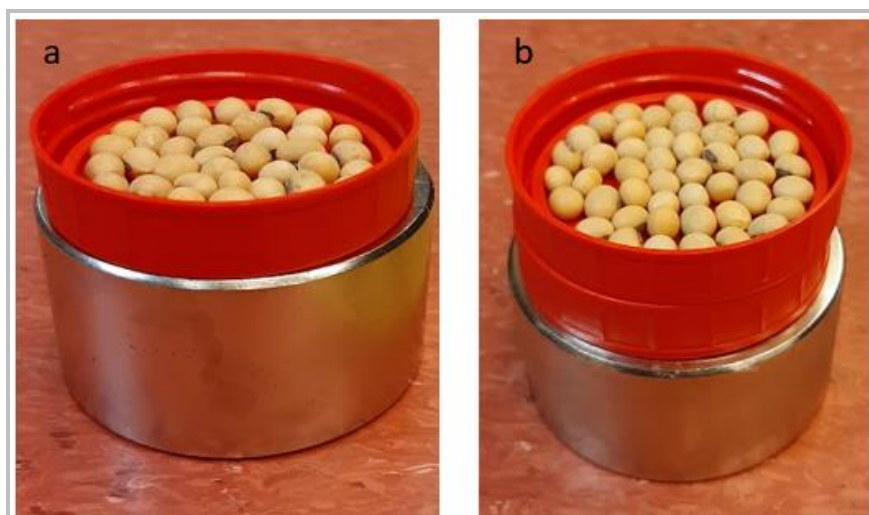
Rozdział ten dotyczy metod stymulacji nasion i wzrostu roślin, natomiast metodologię prowadzenia testów na roślinach wraz z testowanymi grupami doświadczalnymi i kontrolnymi przedstawiono w Rozdziale 4.9. Do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin wykorzystano metody bioinżynierii, łącząc narzędzia inżynierii chemicznej i mechanicznej. Na poniższym schemacie (Rysunek 12) przedstawiono metody stymulacji zastosowane dla poszczególnych nasion.



Rysunek 12. Metody stymulacji zastosowane dla poszczególnych nasion (źródło: K. Dziergowska)

4.8.1. Przedsiewna stymulacja nasion stałym polem magnetycznym

Stymulację przedsiewną nasion stałym polem magnetycznym przeprowadzono we współpracy z dr. inż. Rafałem Mechem z Katedry Mechaniki, Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej Wydziału Mechanicznego Politechniki Wrocławskiej. Stymulację wykonano dla nasion soi warzywnej (odmiana *Abelina*) i rzodkwi zwyczajnej (odmiana *Faraon*). Do stymulacji nasion stałym polem magnetycznym wykorzystano magnes stały. Zastosowano dwie wartości indukcji magnetycznej 250 i 500 mT. Niższa wartość indukcji została uzyskana poprzez oddalenie tacki z nasionami o odpowiednią odległość od magnesu (Rysunek 13). Wartość indukcji magnetycznej w danej odległości od magnesu mierzona była przy pomocy czujnika pola magnetycznego SMS 102. Czasy stymulacji użyte do badań to 3 i 12 minut. Wartości indukcji magnetycznej i czasu stymulacji wybrano na podstawie analizy literaturowej (Tabela 2).



Rysunek 13. Przedsiewna stymulacja nasion soi warzywnej stałym polem magnetycznym o indukcji: a) 500 mT; b) 250 mT (źródło: K. Dziergowska)

4.8.2. Przedsiewna stymulacja nasion zmiennym polem magnetycznym

Przedsiewną stymulację nasion zmiennym polem magnetycznym przeprowadzono we współpracy z dr. inż. Rafałem Mechem. Stymulację przeprowadzono dla nasion marchwi zwyczajnej (odmiana *Amsterdam 3*). Do stymulacji nasion użyto generatora pola magnetycznego DF1642B (Rysunek 14a) i wzmacniacza mocy Type 2707 (Rysunek 14b). Cztery probówki typu Eppendorf, zawierające po 25 sztuk nasion, umieszczono pomiędzy cewkami indukcyjnymi (Rysunek 14c). Ze względu na wielkość cewek indukcyjnych, zmienne pole magnetyczne mogło być zastosowane jedynie na nasionach o małym rozmiarze. Wartość indukcji magnetycznej pomiędzy cewkami przy danych ustawieniach generatora i wzmacniacza była wcześniej sprawdzana przy pomocy czujnika pola magnetycznego SMS

102 (Rysunek 14d). Podczas badań zastosowano różne częstotliwości – dwie najpowszechniej badane – 16 i 50 Hz ze względu na łatwą możliwość ich uzyskania oraz dodatkowo 100 Hz. Przy częstotliwości 16 Hz maksymalna możliwa do uzyskania wartość indukcji magnetycznej dla zastosowanego generatora wynosiła 21 mT. Na podstawie wcześniejszej analizy danych literaturowych (Tabela 3) wybrano dodatkowo wartości indukcji magnetycznej 10 i 17 mT do porównania. Trzecim parametrem brany pod uwagę w tych badaniach był czas stymulacji. Wybrano czasy 1, 10 i 30 minut na podstawie danych zawartych w Tabeli 3.



Rysunek 14. Przewidywana stymulacja nasion marchewki zmiennym polem magnetycznym: a) generator pola magnetycznego; b) wzmacniacz mocy; c) cewki indukcyjne (z probówkami typu Eppendorf wypełnionymi nasionami); d) czujnik pola magnetycznego (źródło: K. Dziergowska)

4.8.3. Przewidywana stymulacja nasion ultradźwiękami

Do stymulacji przewidywanej nasion rzodkwi zwyczajnej (odmiany *Faraon* i *Saxa 2*) ultradźwiękami wykorzystano myjkę ultradźwiękową Sonic 6D. Stymulację przeprowadzano dwiema metodami. W pierwszej metodzie (stosowanej podczas badań prowadzonych na Politechnice Wrocławskiej), nasiona rzodkwi zwyczajnej (odmiana *Faraon*) umieszczono po 25 sztuk w probówkach typu Eppendorf o pojemności 5 mL i wypełniono je wodą

destylowaną. Następnie próbówki umieszczono w myjce ultradźwiękowej o mocy 2×320 W i częstotliwości 40 kHz na określony czas z przedziału 2,5 minuty – 1 godzina. Podczas drugiej metody (stosowanej podczas badań przeprowadzonych w ramach odbytego stażu w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (IHAR-PIB) w Radzikowie) nasiona rzodkwi zwyczajnej odmiany *Saxa 2* (po 100 sztuk) zamiast w próbówkach umieszczano w kolbach Erlenmeyera wypełnionych 100 mL wody destylowanej. Następnie kolby umieszczono w takiej samej myjce ultradźwiękowej jak w przypadku pierwszej metody (moc 2×320 W, częstotliwość 40 kHz) na 5 minut. Czas 5 minut został wybrany na podstawie analizy przeprowadzonej w doświadczeniu opisanym w poprzednim akapicie.

4.8.4. Stymulacja kiełkowania nasion i wzrostu roślin ekstraktami algowymi

Ekstrakt algowy wykorzystywany do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin przygotowywany był zgodnie z metodyką opisaną w Rozdziale 4.4. Stosowano trzy metody aplikacji ekstraktu – donasienną (namaczanie nasion w ekstrakcie), do podłoża/ doglebową (przed siewem nasion) i dolistną (po pojawieniu się liścieni). Ekstrakty algowe były stosowane do stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej – odmiana *Faraon*, marchwi zwyczajnej – odmiana *Amsterdam 3*, soi warzywnej – odmiany *Abelina* i *Enrei* i łubinu wąskolistnego – odmiany *Homer*, *Jowisz* i *Tytan*.

4.8.5. Stymulacja kiełkowania nasion i wzrostu roślin biosyntezywanymi nanocząstkami tlenku cynku i tlenku miedzi

Nanocząstki tlenku cynku i tlenku miedzi wykorzystane do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin przygotowywane były zgodnie z metodyką opisaną w Rozdziale 4.5. Jednorodny wodny roztwór zawierający nanocząstki o danym stężeniu otrzymywano za pomocą homogenizatora ultradźwiękowego UP50H lub UP100H stosowanego przez 10 minut (dla nanocząstek tlenku cynku) lub 15 minut (dla nanocząstek tlenku miedzi) przy parametrach pracy 50 lub 100 W (w zależności od użytego homogenizatora), 30 kHz i amplitudzie 100%. Stosowano dwie metody aplikacji roztworu – donasienną i do podłoża/ doglebową. We wszystkich badaniach, w których stosowano roztwory nanocząstek stosowano także roztwory soli, użytych do biosyntezy danych nanocząstek, o tych samych stężeniach co roztwory nanocząstek. Nanocząstki tlenku cynku były stosowane do stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej – odmiany *Faraon* i *Saxa 2* i gorczyicy białej, natomiast nanocząstki tlenku miedzi do stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej – odmiana *Faraon* i gorczyicy białej.

4.9. Testy na roślinach

W ramach niniejszej pracy doktorskiej przeprowadzono serię testów na roślinach w celu oceny potencjału aplikacyjnego przewidzianej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi i stymulacji kiełkowania nasion oraz wzrostu roślin z użyciem produktów otrzymanych na bazie biomasy makroalg. Dla badań na rzodkwi zwyczajnej i marchwi zwyczajnej ze względu na niewielki rozmiar nasion, w pierwszym etapie badań przeprowadzono testy na szalkach Petriego lub w plastikowych pojemnikach wyłożonych papierem filtracyjnym (*top paper*) nasączonym badanym ekstraktem, roztworem nanocząstek/soli lub wodą destylowaną (stosowaną w grupie kontrolnej). W testach Phytotoxkit zastosowano rekomendowane nasiona gorczycy. Głównym celem tych testów była ocena potencjalnej fitotoksyczności badanych produktów na bazie alg lub potencjalnej szkodliwości zastosowanego czynnika fizycznego do stymulacji nasion. Kolejnym etapem badań były testy doniczkowe. W przypadku większych nasion, zamiast testów szalkowych, stosowano testy na bibule pofałdowanej *pleated paper* (łubin wąskolistny) lub testy między bibułą *between paper* (soja warzywna). W przypadku nasion soi, założoną koncepcję badawczą zweryfikowano dodatkowo w dwuletnich badaniach we współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu. Wszystkie badania zostały przeprowadzone zgodnie z metodyką ISTA (*International Seed Testing Association*) Opis mierzonych parametrów biometrycznych roślin zawarto w rozdziale 4.9.8.

4.9.1. Testy szalkowe/ *top paper*

Testy szalkowe/ *top paper* prowadzone były dla nasion rzodkwi zwyczajnej i marchwi zwyczajnej. Zestawienie wszystkich wykonanych badań szalkowych/ *top paper* przedstawiono w Tabeli 18. W badaniach przeprowadzonych na Politechnice Wrocławskiej wykorzystany był fitotron ST5C SMART firmy POL-EKO lub lampy UV przeznaczone do uprawy roślin, a w badaniach przeprowadzonych na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu fitotron firmy Biogenet. Badania *top paper* zamiast badań szalkowych wykonywane były w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie. Czynniki fizyczne i produkty na bazie makroalg, dla których otrzymano obiecujące wyniki zastosowano w kolejnym etapie badań (w testach doniczkowych).

Tabela 18. Zestawienie wykonanych testów szalkowych/ *top paper*

Nr	Testowany produkt na bazie makroalg/ czynniki fizyczne/ liczba powtórzeń	Roślina	Temperatura [°C]/ wilgotność [%]	Miejsce badań/ czas	Wybór najlepszej grupy*
1	Ekstrakt z zielenicy <i>C. glomerata</i> (UP50H): 20, 40, 60, 80 i 100% (do podłoża)/ 3	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	22,1±1,2 44±5	PWr 11 dni	60%
2	Nanocząstki ZnO biosyntezy z ekstraktu z <i>C. glomerata</i> ** ¹ : 10, 50 i 100 mg/L; ZnSO ₄ ·7H ₂ O: 10, 50 i 100 mg/L (do podłoża)/ 3	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20,8±0,6 44±2	PWr 11 dni	10, 50 mg/L
3	Nanocząstki CuO biosyntezy z ekstraktu z <i>C. glomerata</i> *** ² : 10, 50 i 100 mg/L; CuSO ₄ ·5H ₂ O: 10, 50 i 100 mg/L (do podłoża)/ 3	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	19,4±0,4 32±2	PWr 11 dni	50 mg/L
4	Ekstrakt z zielenicy <i>C. glomerata</i> (UP100H): 20, 40, 60, 80 i 100% (do podłoża)/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 62±8	PWr 11 dni	60%
5	Ekstrakt z zielenicy <i>C. glomerata</i> (UP100H): 20, 40, 60, 80 i 100% (donasiennie – 1 h)/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 57±8	PWr 11 dni	60%
6	Ekstrakt z zielenicy <i>C. glomerata</i> (UP100H): 20, 40, 60, 80, 100% (dolistnie)/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 60±4	PWr 11 dni	60%
7	Ekstrakt z zielenicy <i>C. glomerata</i> (UP100H): 60 (do podłoża), jednocześnie stałe pole magnetyczne: 250 i 500 mT, 3 i 12 min/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 61±9	PWr 11 dni	250 mT i 3 min
8	Ekstrakt z krasnorostu <i>Porphyra</i> sp. (UP100H): 20, 40, 60, 80 i 100% (do podłoża)/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 51±3	PWr 10 dni	100%
9	Ekstrakt z krasnorostu <i>Palmaria palmata</i> (UP100H): 20, 40, 60, 80 i 100% (do podłoża)/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 57±7	PWr 10 dni	60%
10	Ultradźwięki: 15, 30, 45 i 60 min/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 59±5	PWr 10 dni	15 min
11	Ultradźwięki: 2,5, 5, 7,5 i 10 min/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 53±4	PWr 10 dni	5 min
12	Ekstrakt z krasnorostu <i>Palmaria palmata</i> (UP100H): 20, 40 i 60; komercyjnie dostępny ekstrakt a brunatnicy <i>Ascophyllum nodosum</i> (donasiennie – 15 min): 1 g/L, jednocześnie ultradźwięki: 5 min/ 4	rzodkiew zwyczajna <i>Faraon</i>	20 50	UPWr 10 dni	20% + ultradźwięki
13	Ekstrakt z brunatnicy <i>Sargassum</i> sp. (UP100H): 20, 40, 60, 80 i 100%; komercyjnie dostępny ekstrakt a brunatnicy <i>Ascophyllum nodosum</i> : 1 g/L (do podłoża)/ 4	marchew zwyczajna <i>Amsterdam 3</i>	20 54±4	PWr 21 dni	80%
14	Zmienne pole magnetyczne: 10, 17, 21 mT; 16, 50 i 100 Hz; 1 min/ 4	marchew zwyczajna <i>Amsterdam 3</i>	20 50	UPWr 21 dni	10 mT 100 Hz, 21 mT 16 Hz
15	Zmienne pole magnetyczne: 10, 17, 21 mT; 16, 50 i 100 Hz; 10 min/ 4	marchew zwyczajna <i>Amsterdam 3</i>	20 50	UPWr 21 dni	10 mT 100 Hz, 21 mT 16 Hz

Nr	Testowany bioprodukt na bazie makroalg/ czynnik fizyczny/ liczba powtórzeń	Roślina	Temperatura [°C]/ wilgotność [%]	Miejsce badań/ czas	Wybór najlepszej grupy*
16	Zmienne pole magnetyczne: 10, 17, 21 mT; 16, 50 i 100 Hz; 30 min/ 4	marchew zwyczajna <i>Amsterdam 3</i>	20 50	UPWr 21 dni	10 mT 100 Hz, 21 mT 16 Hz
17	Nanocząstki ZnO biosyntezy z ekstraktu z <i>C. glomerata</i> ****: 1, 10 i 50 mg/L (donosiennie – 15 min), jednocześnie ultradźwięki: 5 min/ 3	rzodkiew zwyczajna <i>Saxa 2</i>	20 50	IHAR 3, 7 i 9 dni	1 mg/L

* wybór najlepszej grupy pod kątem parametrów biometrycznych roślin opisano w rozdziale 5. Wyniki i dyskusja

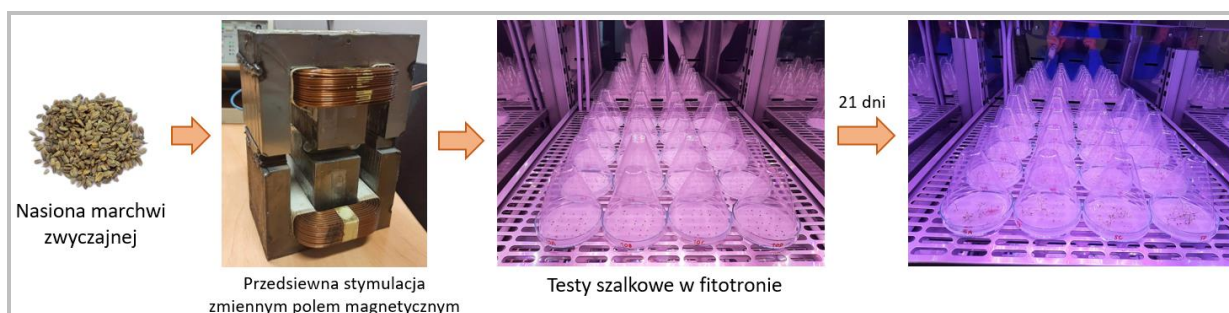
** nanocząstki nr 3 według Tabeli 16

*** nanocząstki nr 33 według Tabeli 16

**** nanocząstki nr 12, 14, 23 według Tabeli 16

UP50H i UP100H – rodzaje homogenizatora ultradźwiękowego

Szalki do badań wyłożone były papierem filtracyjnym, na który zaaplikowano 3 mL wody destylowanej przed ułożeniem na niego nasion poddanych przewidzianej stymulacji (w przypadku badań dotyczących wpływu czynników fizycznych (Rysunek 15) oraz donasiennej aplikacji produktów na bazie alg) lub niepoddanych przewidzianej stymulacji (w przypadku badań dotyczących aplikacji do podłoża lub dolistnej). Przez kolejne dni doświadczenia, rośliny były podlewane 3 mL wody destylowanej co drugi dzień.



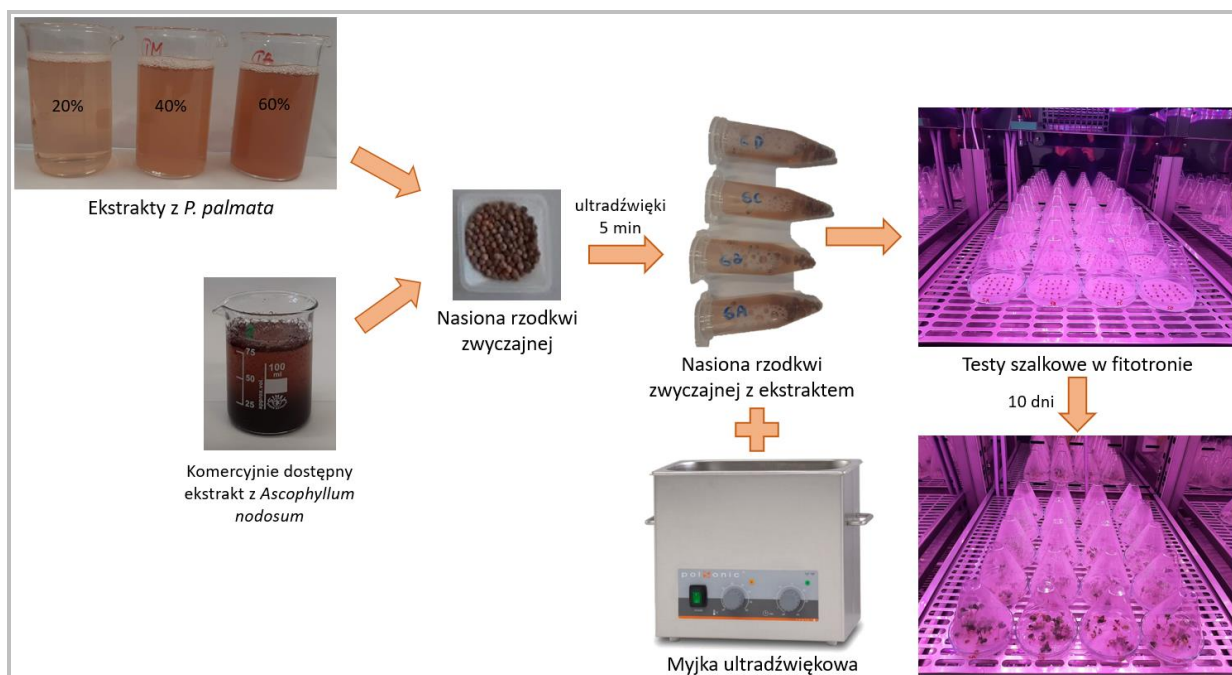
Rysunek 15. Przebieg testów szalkowych z wykorzystaniem przewidzianej stymulacji nasion marchwi zwyczajnej zmiennym polem magnetycznym (źródło: K. Dziągowska)

W przypadku badań na nasionach/roślinach z wykorzystaniem ekstraktów algowych i roztworów nanocząstek stosowano trzy metody aplikacji: do podłoża, donasienną i dolistną. W przypadku metody do podłoża (Rysunek 16) na początku doświadczenia aplikowano na papier filtracyjny 3 mL testowanego produktu zamiast wody destylowanej.



Rysunek 16. Przebieg testów szalkowych z wykorzystaniem aplikacji do podłoża ekstraktu z *Sargassum* sp. otrzymanego w wyniku ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami i komercyjnie dostępnego ekstraktu z *Ascophyllum nodosum* (źródło: K. Dziągowska)

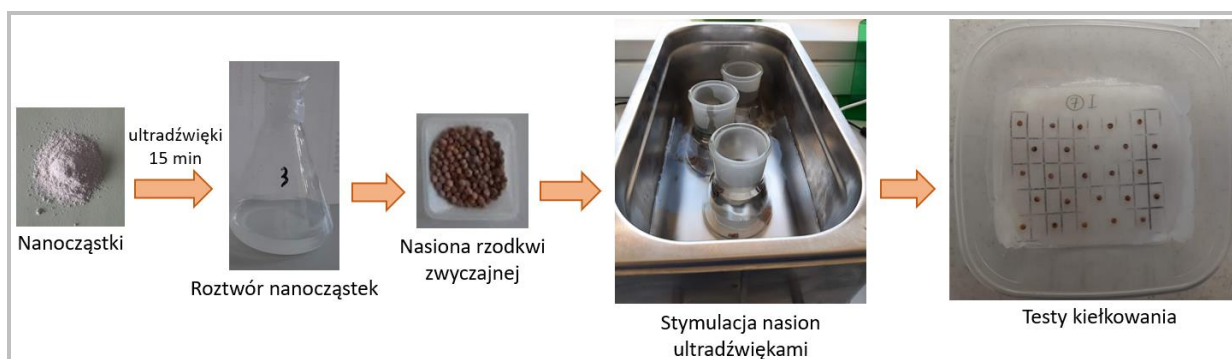
Aplikacja donasienna (Rysunek 17) polegała na moczeniu nasion przez określony czas w danej formulacji, a następnie wyłożeniu nasion na przygotowaną szalkę z papierem filtracyjnym. Ta metoda aplikacji była stosowana podczas jednoczesnej przewidzianej stymulacji nasion ekstraktem algowym i ultradźwiękami (nasiona były zanurzone w ekstrakcie podczas gdy poddano je działaniu ultradźwięków).



Rysunek 17. Przebieg testów szalkowych z wykorzystaniem przedsewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej ekstraktem z *Palmaria palmata* i ultradźwiękami (źródło: K. Dziergowska)

Aplikacja dolistna była stosowana po 5 dniach od rozpoczęcia doświadczenia – kiedy zaczynały się pojawiać pierwsze liścienie. Wszystkie badania były przeprowadzone w 3 lub 4 powtórzeniach, po 25 nasion na szalkę. Odczyt temperatury i wilgotności (w przypadku testów pod lampami UV i fitotronu bez regulacji wilgotności) odbywał się co drugi dzień.

W przypadku badań *top paper* przeprowadzonych w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie pudełka wyłożone były 2 warstwami papieru filtracyjnego nasączonego wodą destylowaną. Po 3 i 7 dniach dokonano pomiarów energii kiełkowania, a po 9 dniach pomiarów zdolności kiełkowania, liczby nasion twardych, martwych, nienormalnych kiełkujących i zdrowych niekiełkujących. Schemat badań przedstawiono na Rysunku 18.



Rysunek 18. Przebieg testów *top paper* przeprowadzonych w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie dla jednoczesnej przedsewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej nanocząstkami ZnO biosyntezowanymi z ekstraktu z makroalgi *Cladophora glomerata* i ultradźwiękami (źródło: K. Dziergowska)

Przy każdej obserwacji parametru energii kiełkowania, siewki normalne (prawidłowe) były wyciągane z pudełka (Rysunek 19). Testy te były uzupełnieniem badań dotyczących analizy właściwości przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku opisanych w Rozdziale 4.9.7. Celem prowadzonego doświadczenia było sprawdzenie, czy nanocząstki tlenku cynku, stosowane jako potencjalne preparaty przeciwgrzybicze, nie wykazują działania fitotoksycznego dla roślin.



Rysunek 19. Etapy pomiarów procentu kiełkowania nasion rzodkwi zwyczajnej poddanych przedsięwziętej stymulacji nanocząstkami ZnO biosyntezy z ekstraktu z makroalgi *Cladophora glomerata* i ultradźwiękami (po 3 i 7 dniach) (źródło: K. Dziergowska)

4.9.2. Testy *pleated paper*

Wpływ ekstraktu algowego na parametry biometryczne łubinu wąskolistnego przeprowadzono w testach na bibule pofałdowanej (harmonijki) *pleated paper* (Rysunek 20). Badania te miały na celu ocenę wpływu ekstraktu algowego z *C. glomerata* o stężeniach 10 i 20% na kiełkowanie i wzrost trzech odmian (*Tytan*, *Jowisz* i *Homer*) łubinu wąskolistnego. W testach wykorzystano nasiona pochodzące z pięciu sezonów wegetacyjnych: 2015, 2016, 2017, 2018 i 2019. Testy kiełkowania prowadzono w fitotronie MLR-351H firmy Sanyo w stałej temperaturze 20 °C i wilgotności 50%. Po zaaplikowaniu ekstraktu na pofałdowane podłoże, wysiano po 50 nasion łubinu wąskolistnego na powtórzenie. Nasiona ułożono na bibule złożonej w harmonijkę z 25 rowkami, po dwa nasiona w jeden rowek. Pofałdowana bibuła wraz z nasionami umieszczona została w plastikowych pojemnikach, które zostały owinięte płatkami bibuły dookoła harmonijki, aby zapewnić jednolite warunki wilgotności. Pojemniki umieszczono w pozycji płaskiej w fitotronie. Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach na grupę. Wzrost siewek trwał 10 dni.

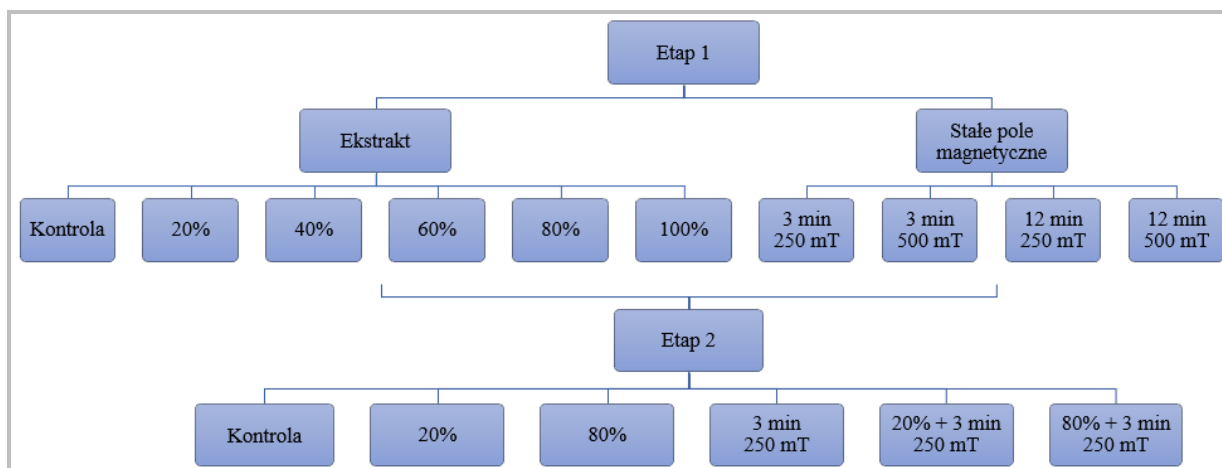


Rysunek 20. Testy na bibule pofałdowanej (harmonijki) dla stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu łubinu wąskolistnego ekstraktem z *Cladophora glomerata* (źródło: S. Lewandowska)

4.9.3. Testy *between paper*

Testy między bibułą *between paper* wykorzystano do przeprowadzenia badań na nasionach soi warzywnej. Podwójną warstwę bibuły filtracyjnej nasączono 240 mL ekstraktu algowego lub wody destylowanej (w grupie kontrolnej), następnie ułożono na niej 50 nasion i delikatnie zawijano w rulon. Dwa rulony stanowiły jedno powtórzenie. Następnie rulony umieszczono w pozycji pionowej w zamkniętym plastikowym pojemniku, znajdującym się w fitotronie MLR-351H firmy Sanyo pracującym w stałej temperaturze 25 °C i wilgotności 50%. Wszystkie badania na soi były prowadzone w 4 powtórzeniach po 100 nasion.

Pierwsze badania przeprowadzone między bibułą dotyczyły jednoczesnej stymulacji nasion soi (odmiana *Abelina*) ekstraktem z zielenicy z *C. glomerata* (o stężeniach 20, 40, 60, 80 i 100%) i stałym polem magnetycznym (250 i 500 mT, 3 i 12 min). Badania te przeprowadzono w trzech etapach. W pierwszym etapie badań, przeprowadzono dwie serie testów – pierwsza dla stymulacji nasion soi ekstraktem algowym aplikowanym do bibuły filtracyjnej, druga seria badań dla nasion stymulowanych stałym polem magnetycznym o dwóch wartościach indukcji magnetycznej i dwóch czasach stymulacji, wysiewanych na bibule filtracyjnej nasączonej wodą. W drugim etapie badań, zastosowano łączną stymulację nasion obydwoma czynnikami (stymulacja ekstraktem algowym i polem magnetycznym) dla parametrów doświadczalnych, dla których otrzymano najwyższe wartości parametrów biometrycznych w poprzednim etapie (Rysunek 21). W każdym etapie była także grupa kontrolna – podłoże nasączone wodą destylowaną i nasiona, które nie były wcześniej poddane stymulacji. Badania te były prowadzone na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu w pracowni oceny nasion Katedry Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa.



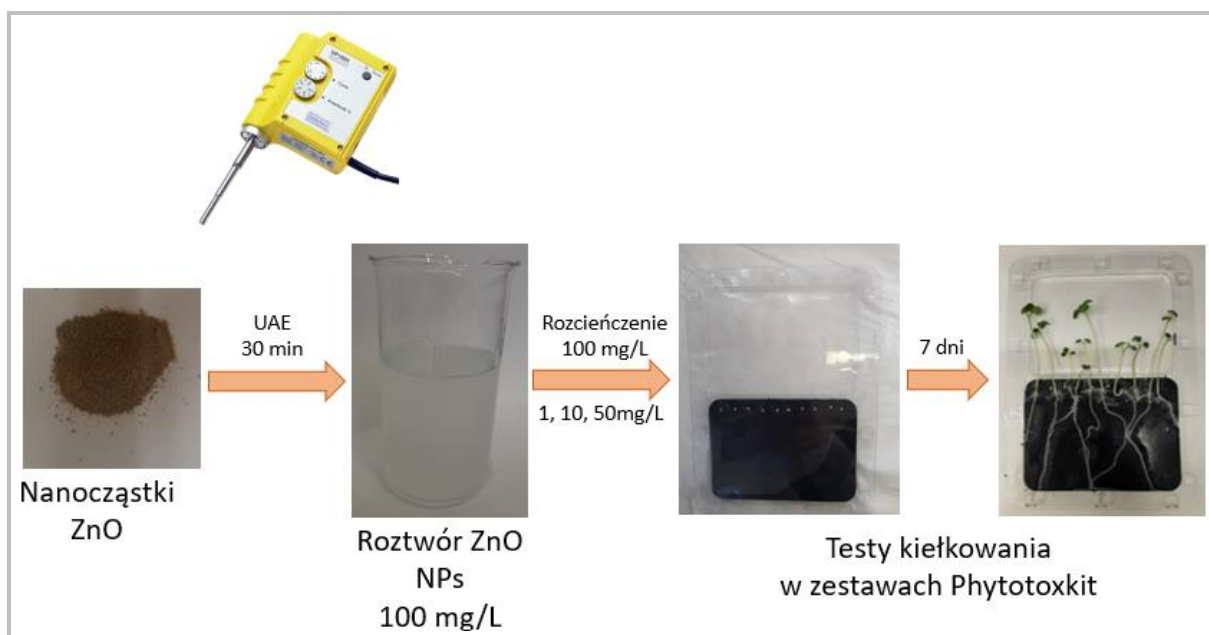
Rysunek 21. Schemat badań dotyczących przedsiewnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu siewek soi stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *Cladophora glomerata* (źródło: K. Dziergowska)

Kolejne badania między bibułą przeprowadzono na dwóch odmianach soi warzywnej: polskiej – odmiana *Abelina* i japońskiej – odmiana *Enrei*. Celem tych badań było sprawdzenie wpływu ekstraktów algowych otrzymanych z trzech różnych makroalg (dwóch zielenic: słodkowodnej *C. glomerata* z 2021 r. i słonowodnej *Enteromorpha* sp. zebranych w Polsce i brunatnicy *Fucus vesiculosus* zebranej we Francji) na kiełkowanie i wczesny wzrost (wschody) siewek soi. Do badań użyto ekstraktu o stężeniu 20%, który wybrano na podstawie wyników badań opisanych w poprzednim akapicie. Do pomiarów biometrycznych siewek brano po 10 (w przypadku pomiaru zawartości chlorofilu w liściach) lub 30 (w przypadku pomiarów długości korzenia, hipokotyli i epikotyli) siewek z każdego powtórzenia. Badania te były prowadzone na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu w pracowni oceny nasion Katedry Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa.

4.9.4. Testy w zestawach Phytotoxkit

Zestawy Phytotoxkit służą do określania fitotoksyczności badanej substancji/preparatu dla roślin. W niniejszej pracy doktorskiej zostały one wykorzystane do sprawdzenia potencjalnej fitotoksyczności nanocząstek biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktów algowych dla nasion gorczycy białej, rekomendowanych do tych testów. Nanocząstki wykorzystane w tych badaniach były biosyntezyzowane z użyciem ekstraktu z *F. vesiculosus* (nr 25 według Tabeli 16) zgodnie z metodą opisaną przez Hassana i in. (2015) [206] z niewielkimi modyfikacjami (Rozdział 4.5). Zbadano 4 stężenia nanocząstek: 1, 10, 50 i 100 mg/L, które zostały dobrane na podstawie analizy danych literaturowych [133] oraz wyników wcześniejszych badań przeprowadzonych na nanocząstkach tlenku cynku i rzodkwi zwyczajnej (odmiana *Faraon*), która podobnie jak gorczyca biała należy do rodziny kapustowatych. Roztwór nanocząstek o stężeniu 100 mg/L przygotowano poprzez dodanie 20 mg nanocząstek do 200 mL wody

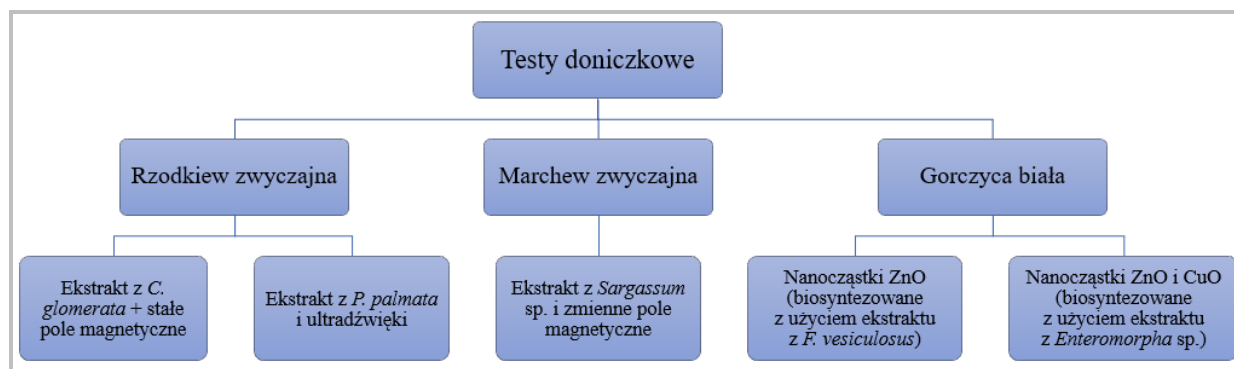
destylowanej i poddanie działaniu homogenizatora ultradźwiękowego UP100H przez 10 min, do uzyskania jednorodnego roztworu. Pozostałe stężenia przygotowano poprzez rozcieńczenie otrzymanego roztworu. Dla grup kontrolnych przygotowano także roztwory $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o takich samych stężeniach jak nanocząstki oraz wodę destylowaną. Wszystkie doświadczenia wykonano zgodnie z metodyką opisaną w instrukcji załączonej do zestawów (ISO 18763). W celu przygotowania pojedynczego powtórzenia testu, 15 g gleby wymieszano z 40 mL odpowiedniego roztworu nanocząstek/soli lub wody destylowanej i równomiernie rozłożono w plastikowym pojemniku Phytotoxkit. Następnie glebę przykryto papierem filtracyjnym, na którym ułożono w równych odstępach 10 nasion gorczycy i całość przykryto drugą częścią plastikowego pojemnika Phytotoxkit. Testy prowadzono w dwóch powtórzeniach. Pojemniki zostały umieszczone w specjalnych statywach i inkubowane przez 7 dni w fitotronie ST5C SMART firmy POL-EKO w stałej temperaturze 20 °C i przy wilgotności $61 \pm 8\%$. Schemat badań przedstawiono na Rysunku 22.



Rysunek 22. Schemat badań w zestawach Phytotoxkit na przykładzie nanocząstek ZnO syntezowanych z ekstraktu z *F. vesiculosus* i nasion gorczycy białej (źródło: K. Dziergowska)

4.9.5. Testy doniczkowe

Testy doniczkowe były wykonywane jako kolejny etap po testach szalkowych oraz testach w zestawach Phytotoxkit. Łącznie przeprowadzono pięć serii testów doniczkowych na trzech gatunkach roślin (Rysunek 23). Wszystkie badania były prowadzone z użyciem fitotronu ST5C SMART firmy POL-EKO w stałej temperaturze 20°C.

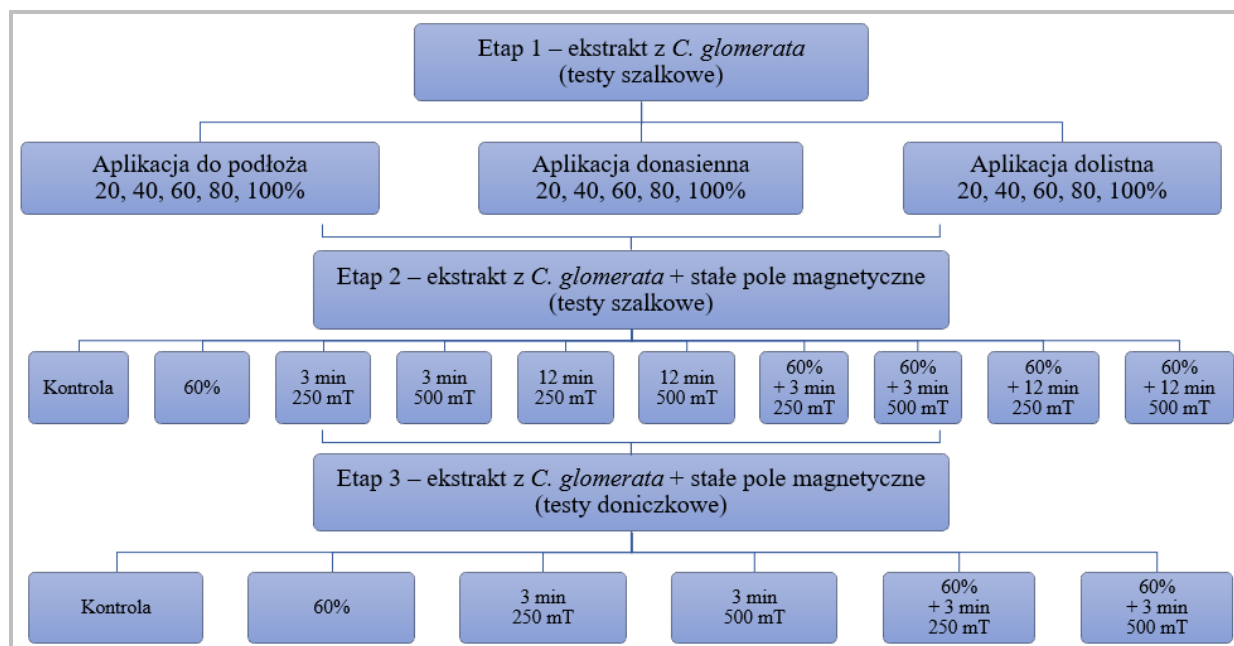


Rysunek 23. Testy doniczkowe wykonane dla poszczególnych nasion (źródło: K. Dziergowska)

Gleba użyta do wszystkich testów została najpierw wysuszona i poddana analizie sitowej przy użyciu sita Retsch GM30 – 2 mm. Glebę wymieszano z wodą destylowaną w stosunku 70 mL wody na 35 g gleby na jedno powtórzenie i umieszczono równomiernie w doniczce. W każdej doniczce zrobiono po 3 (dla testów dotyczących stymulacji nasion rzodkiewi zwyczajnej stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *C. glomerata*) lub 9 wgłębień na 1 cm (dla pozostałych testów doniczkowych), w których umieszczono odpowiednie nasiona. Doniczki były podlewane co 2 dni 10 mL wody destylowanej.

Pierwsze przeprowadzone testy doniczkowe były kontynuacją testów szalkowych dotyczących wpływu ekstraktu z zielenicy *C. glomerata* wytworzonego przy pomocy homogenizatora UP100H i stałego pola magnetycznego, wykorzystanego do przedsiewnej stymulacji nasion, na kiełkowanie i wzrost siewek rzodkiewki – odmiana *Faraon*. Podczas testów szalkowych w pierwszym etapie (testy szalkowe nr 4, 5 i 6 według Tabeli 18) wybrano najlepszą metodę aplikacji – do podłoża/ doglebową, spośród trzech badanych (do podłoża/ doglebowa, donasienna i dolistna) oraz najlepsze stężenie ekstraktu – 60% (spośród badanych 20, 40, 60, 80 i 100%). Wyniki zostały opisane w Rozdziale 5. Wyniki i dyskusja. Następnie przeprowadzono testy dla nasion rzodkiewi zwyczajnej przedsiewnie stymulowanych zmiennym polem magnetycznym o indukcji 250 i 500 mT i czasie stymulacji 3 i 12 min (łącznie 4 grupy) w połączeniu ze stymulacją 60% ekstraktem aplikowanym na podłoże z papieru filtracyjnego (testy szalkowe nr 7 według Tabeli 18). W ramach grup kontrolnych przeprowadzono także testy dla grup, w których nasiona stymulowano tylko ekstraktem algowym lub tylko polem magnetycznym oraz dla grupy, w której nasion nie poddano żadnej stymulacji. Najlepsze warunki doświadczalne ustalone w testach szalkowych dla wzrostu roślin, wykorzystano w testach doniczkowych. Podczas testów doniczkowych wykorzystano już tylko jeden czas stymulacji – 3 min. Czas 12 min został odrzucony na podstawie wyników poprzednich badań.

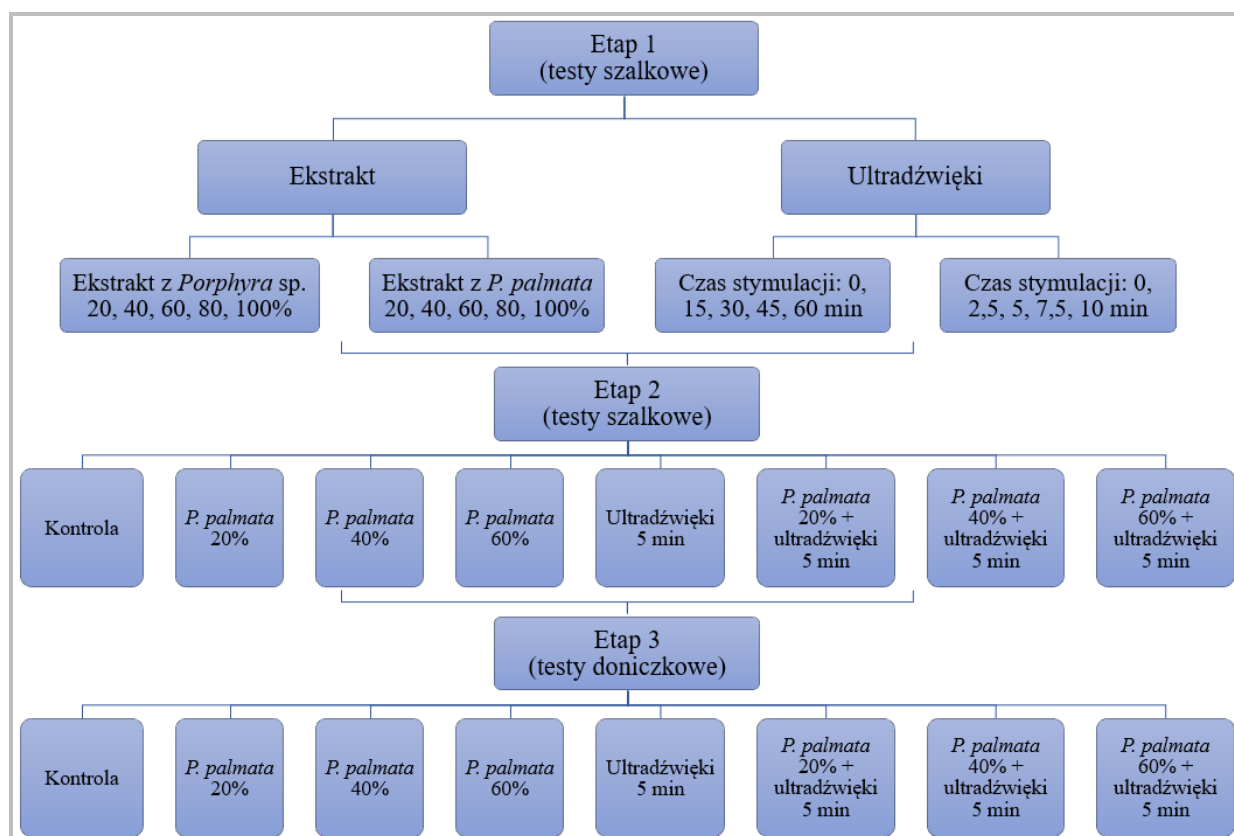
Badania prowadzono w 4 powtórzeniach, trwały one 21 dni, wilgotność powietrza wynosiła $43 \pm 7\%$. Schemat badań został przedstawiony na Rysunku 24.



Rysunek 24. Schemat badań dotyczących wpływu jednoczesnej stymulacji nasion rzodkiewki ekstraktem algowym z *Cladophora glomerata* (do podłoża/ doglebowo) i stałym polem magnetycznym (przedsiewnie) (źródło: K. Dziergowska)

Kolejne badania doniczkowe były kontynuacją testów szalkowych dotyczących wykorzystania ekstraktów z krasnorostów i ultradźwięków na kiełkowanie i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej – odmiana *Faraon*. W pierwszym etapie testów szalkowych sprawdzono wpływ ekstraktów z dwóch różnych krasnorostów *Porphyra* sp. (testy szalkowe nr 8 według Tabeli 18) i *Palamaria palmata* (testy szalkowe nr 9 według Tabeli 18) o stężeniach 20, 40, 60, 80 i 100% (aplikacja do podłoża) na nasiona rzodkwi zwyczajnej – odmiana *Faraon*. W drugim etapie testów szalkowych sprawdzono wpływ ultradźwięków (testy szalkowe nr 10 i 11 według Tabeli 18) oraz czasu ich stosowania (2,5, 5, 7,5, 10, 15, 30, 45 i 60 min) na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej. W kolejnym etapie (testy szalkowe nr 12 według Tabeli 18) sprawdzono jednoczesny wpływ wybranego ekstraktu (z *P. palmata*) o wybranych stężeniach (20, 40 i 60%) w połączeniu z wybranym czasem stymulacji ultradźwiękami (5 min) na nasiona rzodkwi zwyczajnej. Szczegółowe wyniki opisano w Rozdziale 5. Wyniki i dyskusja. Nasiona, które nie były poddane stymulacji ultradźwiękami były moczone w tej samej ilości wody lub ekstraktu co nasiona poddane tej stymulacji przez 5 minut. Pierwszy i drugi etap badań zakładał aplikację ekstraktu do podłoża (testy szalkowe), a trzeci aplikację donasienną (namaczanie nasion przez 30 min w danym roztworze). Zastosowanie donasiennej aplikacji umożliwiło połączenie stymulacji nasion ekstraktem algowym z zastosowaniem

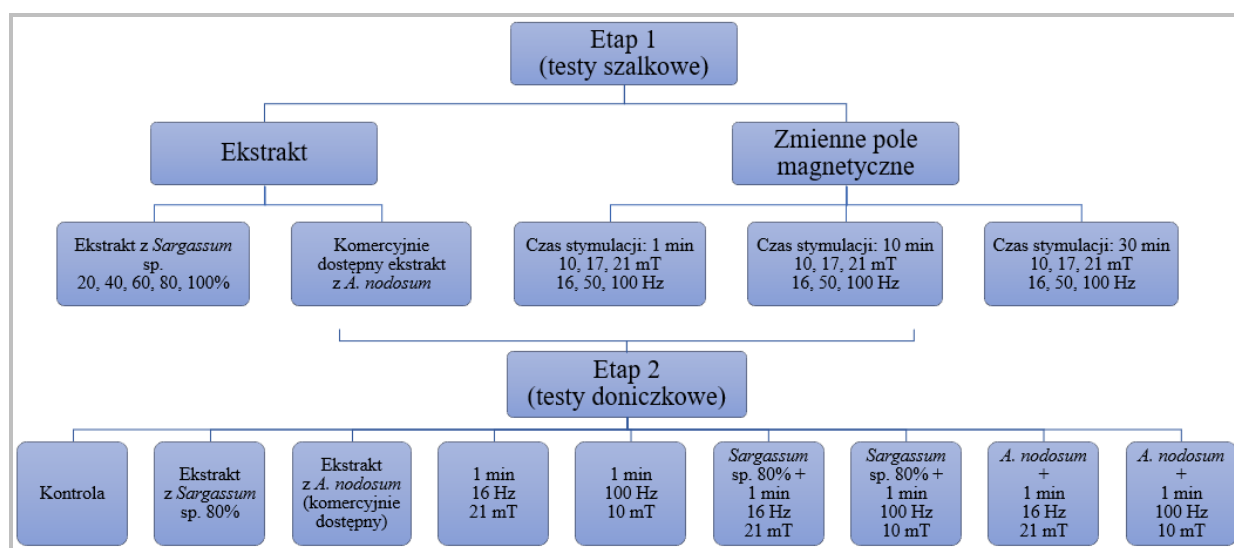
ultradźwięków jako metody przewidzianej stymulacji czynnikiem fizycznym. Wcześniej opisane badania szalkowe dotyczące stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej – odmiana *Faraon* ekstraktem z *C. glomerata* aplikowanym doglebowo, donasiennie i dolistnie dowiodły, że niezależnie od metody aplikacji ekstraktu, to samo stężenie w największym stopniu wpływało na badane parametry kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Badania szalkowe dotyczące jednoczesnej stymulacji nasion ultradźwiękami i ekstraktem z krasnorostu nie wskazały jednoznacznie, które grupy wypadły najlepiej, dlatego też nie wykluczono żadnej z grup w badaniach doniczkowych. Testy prowadzono w 4 powtórzeniach. Doniczki zostały umieszczone w fitotronie na 21 dni. Wilgotność powietrza wynosił $80 \pm 9\%$. Schemat badań był analogiczny jak przedstawiony na Rysunku 17, jedyną różnicą była zamiana testów szalkowych na testy doniczkowe (Rysunek 25).



Rysunek 25. Schemat badań dotyczących wpływu jednoczesnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej ekstraktem algowym z *Porphyra* sp. i *P. palmata* i przewidzianej stymulacji ultradźwiękami (źródło: K. Dziergowska)

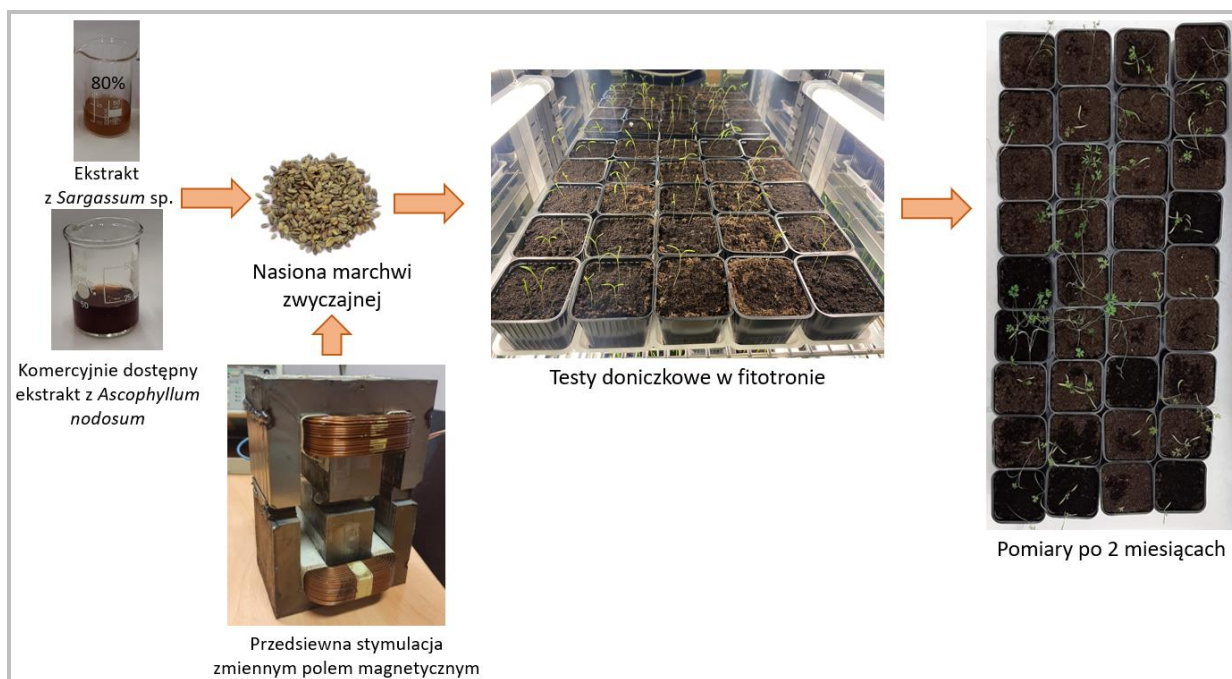
Kolejne testy doniczkowe były kontynuacją badań szalkowych dotyczących wpływu ekstraktu z brunatnicy *Sargassum* sp. oraz przewidzianej stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym na ich kiełkowanie i wzrost roślin marchwi zwyczajnej – odmiana *Amsterdam 3*. Podczas pierwszego etapu wybrano najlepsze, pod względem wpływu na parametry biometryczne, stężenie ekstraktu z *Sargassum* sp. Wyniki porównano także

z działaniem komercyjnie dostępnego ekstraktu z brunatnicy *A. nodosum*. Równolegle przeprowadzono badania dotyczące wyboru najlepszego wariantu stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym. Badania te podzielono na 3 części. Podczas każdej części badań sprawdzono te same częstotliwości (16, 50 i 100 Hz) i indukcje magnetyczne (10, 17 i 21 mT) we wszystkich możliwych kombinacjach (łącznie 9 grup), natomiast różniły się one czasem stymulacji: 1, 10 lub 30 min. Schemat badań dotyczących stymulacji nasion marchwi zwyczajnej ekstraktem z *Sargassum* sp. i przedsięwziętej stymulacji zmiennym polem magnetycznym przedstawiono na Rysunku 26.



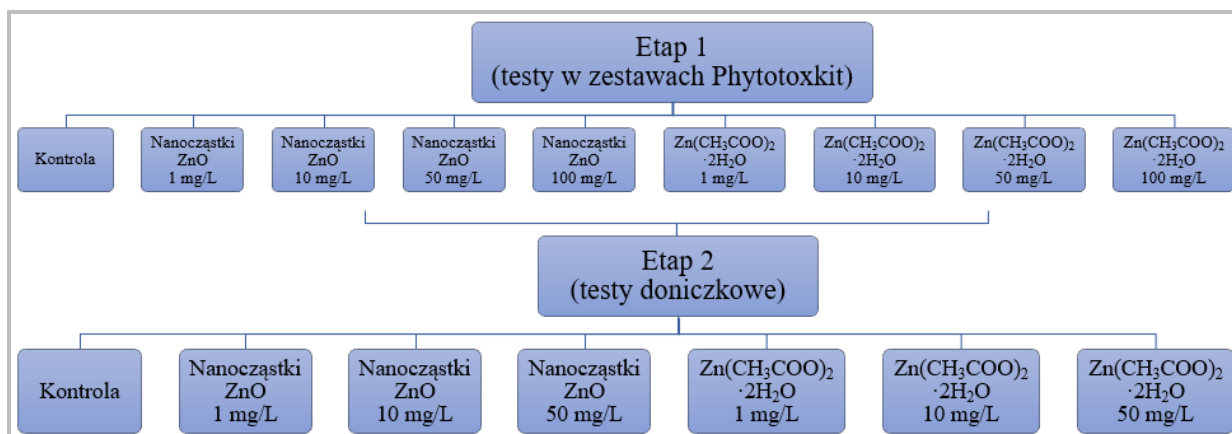
Rysunek 26. Schemat badań dotyczących wpływu jednoczesnej stymulacji nasion marchwi ekstraktem algowym z *Sargassum* sp. i komercyjnie dostępnym ekstraktem z *A. nodosum* (aplikacja do podłoża/ doglebowa) oraz przedsięwziętej stymulacji zmiennym polem magnetycznym

Trzecim etapem badań były testy doniczkowe, w których zastosowano jednoczesną stymulację kiełkowania nasion i wzrostu roślin ekstraktem z *Sargassum* sp. o stężeniu 80% i zmiennym polem magnetycznym o parametrach 1 min, 16 Hz, 21 mT oraz 1 min, 100 Hz, 10 mT. Dla tych warunków doświadczalnych uzyskano najwyższe parametry wzrostu marchwi zwyczajnej podczas testów szalkowych. Szczegółowe wyniki przedstawiono w Rozdziale 5. Wyniki i dyskusja. W tym przypadku zastosowano również stymulację komercyjnie dostępnym ekstraktem z *A. nodosum* (aplikowanym doglebowo) i połączono ją ze stymulacją nasion zmiennym polem magnetycznym, aby zobaczyć czy ekstrakt ten wykaże lepsze właściwości stymulujące niż ekstrakt z *Sargassum* sp. syntezowany metodą wspomaganą ultradźwiękami. Testy prowadzono w 4 powtórzeniach. Doniczki zostały umieszczone w fitotronie na 2 miesiące. Wilgotność powietrza wynosił $79 \pm 6\%$. Schemat badań doniczkowych przedstawiono na Rysunku 27.



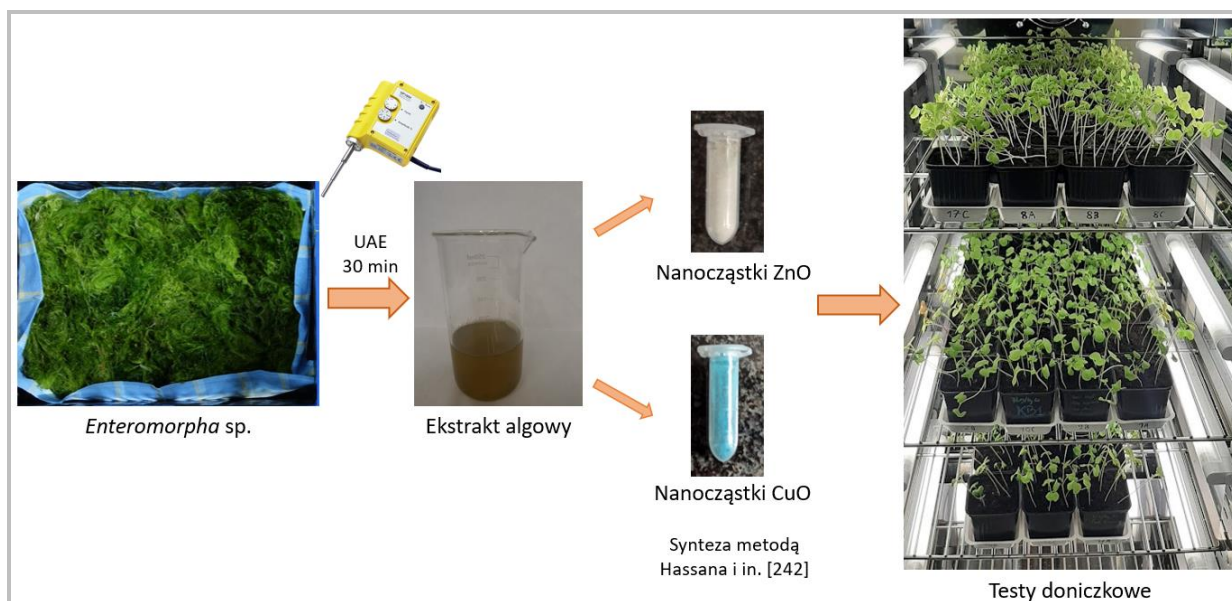
Rysunek 27. Schemat badań doniczkowych z wykorzystaniem jednoczesnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu marchwi zwyczajnej ekstraktem z *Sargassum* sp., komercyjnie dostępnym ekstraktem z *A. nodosum* i zmiennym polem magnetycznym (źródło: K. Dziergowska)

Kolejne przeprowadzone testy doniczkowe były kontynuacją testów dotyczących fitotoksyczności nanocząstek ZnO biosyntezy z użyciem ekstraktu z brunatnicy *F. vesiculosus* dla nasion gorczycy białej. Podczas tych badań pominięto stężenie nanocząstek 100 mg/L, gdyż testy Phytotoxkit wykazały, że ma ono toksyczny wpływ na badane rośliny. Roztwór nanocząstek o stężeniu 50 mg/L przygotowano poprzez dodanie 12,5 mg nanocząstek do 250 mL wody destylowanej i poddanie działaniu homogenizatora ultradźwiękowego UP100H przez 10 min, do uzyskania jednorodnego roztworu. Pozostałe stężenia przygotowano poprzez rozcieńczenie otrzymanego roztworu. Analogicznie do testów przeprowadzonych w zestawach Phytotoxkit, w ramach grup kontrolnych przygotowano roztwory $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o tych samych stężeniach co roztwory zawierające nanocząstki oraz wodę destylowaną. Nasiona moczo w 100 mL danego roztworu przez 24 h. Testy prowadzono w czterech powtórzeniach. Doniczki zostały umieszczone w fitotronie na 21 dni. Schemat badań przedstawiono na Rysunku 28.



Rysunek 28. Schemat badań dotyczących wpływu stymulacji nasion gorczycy białej nanocząstkami tlenku cynku biosyntezyowanymi z użyciem ekstraktu z *Fucus vesiculosus* (źródło: K. Dziergowska)

Kolejne badania doniczkowe były kontynuacją wcześniejszych testów Phytotoxkit [385], dotyczących stymulacji nasion gorczycy białej nanocząstkami ZnO i CuO biosyntezyowanymi z użyciem ekstraktów z trzech różnych makroalg morskich (*Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp. i *Porphyra* sp.). Badania w zestawach Phytotoxkit dla wszystkich nanocząstek były przeprowadzone zgodnie z etapem 1 ze schematu przedstawionego dla badań dla nanocząstek tlenku cynku biosyntezyowanych z wykorzystaniem ekstraktu z *F. vesiculosus* (Rysunek 28). Na etapie testów doniczkowych wykorzystano jedynie nanocząstki syntezowane z ekstraktu z zielenicy *Enteromorpha* sp., gdyż wykazały najbardziej pozytywny wpływ na kiełkowanie i wzrost gorczycy białej podczas poprzedniego etapu testów, w porównaniu z nanocząstkami wytworzonymi przy użyciu ekstraktów z pozostałych alg (zarówno w przypadku nanocząstek ZnO, jak i CuO). Roztwór nanocząstek o stężeniu 100 mg/L przygotowano poprzez rozbicie nanocząstek ultradźwiękami, tak aby przygotować jednorodny roztwór umożliwiający łatwą aplikację wytworzonego preparatu. Pozostałe stężenia przygotowano poprzez rozcieńczenie otrzymanego roztworu. Analogicznie do testów Phytotoxkit, w ramach kontroli przygotowano także roztwory Zn(CH₃COO)₂ · 2H₂O i Cu(CH₃COO)₂ · H₂O o tych samych stężeniach co roztwory zawierające nanocząstki oraz wodę destylowaną. Przygotowane roztwory wymieszano z glebą i wysiano nasiona. Testy prowadzono w 3 powtórzeniach. Doniczki zostały umieszczone w fitotronie na 21 dni. Wilgotność powietrza wynosiła 84±7%. Schemat badań przedstawiono na Rysunku 29.



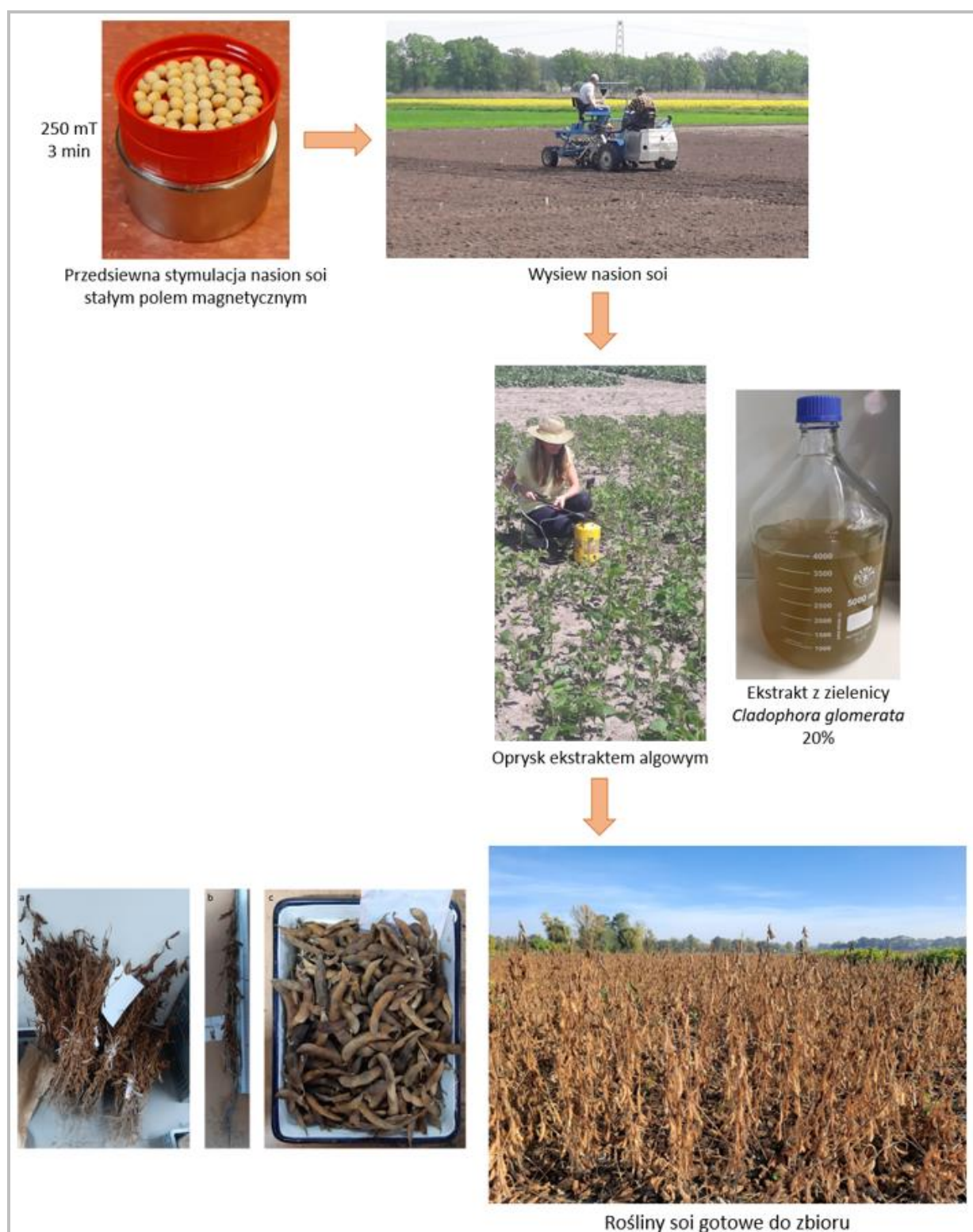
Rysunek 29. Schemat badań doniczkowych dotyczących wpływu nanocząstek ZnO i CuO biosyntezyowanych z *Enteromorpha* sp. na kiełkowanie i wzrost siewek gorczycy (źródło: K. Dziergowska)

Po zakończeniu testów, część nadziemną roślin wysuszone w celu wykonania analizy wielopierwiastkowej techniką ICP-OES. Analiza ta została wykonana, aby ocenić akumulację nanocząstek w roślinach. Analizę wielopierwiastkową próbek roślin przeprowadzono zgodnie z opisem zamieszczonym w punkcie 4.7.1.

4.9.6. Testy polowe

Testy polowe były kolejnym etapem badań dotyczących analizy wpływu ekstraktu algowego z zielenicy *C. glomerata* o różnych stężeniach (20, 40, 60, 80 i 100%) i przedświejnej stymulacji stałym polem magnetycznym (indukcja magnetyczna – 250 i 500 mT, czas stymulacji – 3 i 12 min) na kiełkowanie i wczesny wzrost siewek soi warzywnej. W testach polowych zastosowano jednocześnie przedświejną stymulację stałym polem magnetycznym (250 mT, 3 min) i ekstrakt algowy o stężeniu 20%, aplikowany dolistnie. W ramach dodatkowych grup kontrolnych zastosowano także stymulację każdym z tych czynników osobno. Wszystkie wyniki były porównywane do wyników uzyskanych dla grupy kontrolnej – nie stymulowanej żadnym z podanych czynników. Badania polowe prowadzono w latach 2021 i 2022 na Stacji Badawczo-Dydaktycznej w Swojczycach należącej do Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu we współpracy z dr hab. inż. Sylwią Lewandowską, prof. uczelni. Sezon wegetacyjny trwał 5 miesięcy (od maja do września/października). Termin siewu soi był uzależniony od warunków klimatyczno-glebowych. Testowaniu poddano odmianę soi *Abelina* o zdolności kiełkowania (według producenta) 92%. Każda grupa wysiewana była w 4 powtórzeniach – na 4 poletkach

o powierzchni 15 m² każde (10 m długości na 1,5 m szerokości). Gęstość siewu wynosiła 60 nasion na 1 m². Z kolei masa 1000 nasion wynosiła 178 g. Ekstrakt algowy aplikowano w formie oprysku po 2 miesiącach od momentu siewu – w fazie kwitnienia, kiedy połowa pylników była wykształcona (kod 65 według skali BBCH - *Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie*). Po zbiorze, wybrano po 10 losowych roślin z każdego poletka do pomiaru parametrów biometrycznych roślin. Schemat przeprowadzonych doświadczeń polowych przedstawiono na Rysunku 30.



Rysunek 30. Schemat badań polowych dotyczących wpływu przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym i ekstraktu z *Cladophora glomerata* aplikowanego dolistnie i na wzrost soi warzywnej (źródło: S. Lewandowska, K. Dziergowska)

4.9.7. Badanie właściwości przeciwgrzybiczych nanocząstek ZnO na nasionach

Badania opisane w tym rozdziale zostały przeprowadzone w Zakładzie Bioenergetyki, Analiz Jakości i Nasiennictwa Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie we współpracy z dr hab. inż. Barbarą Wiewiórą, prof. instytutu. Badania właściwości przeciwgrzybiczych nanocząstek zostały przeprowadzone dla nanocząstek ZnO nr 12, 14 i 23 wg Tabeli 16. Wszystkie nanocząstki zostały syntezowane zgodnie z metodyką opisaną przez Hassana i in. (2015) [206] przy użyciu ekstraktu z *C. glomerata*. W przypadku nanocząstek nr 14, do biosyntezy użyty został ekstrakt algowy etanolowy zamiast wodnego, natomiast w przypadku nanocząstek nr 23 roztwór zawierający ekstrakt algowy, octan cynku 2-wodny i wodorotlenek sodu nie był mieszany przez 2 h, a poddany działaniu ultradźwięków przez 30 min.

Pożywkę do badań przygotowano poprzez rozpuszczenie 19,5 g pożywki PDA (ang. *potato dextrose agar* – agar ziemniaczano-glukozowy) w 0,5 L wody w kolbach Erlenmeyera. Kolby zawierające pożywkę poddano sterylizacji w autoklawie. Następnie do każdej kolby dodano 0,03 g siarczanu streptomycyny w celu zahamowania rozwoju bakterii podczas badań. Po ostygnięciu gotową pożywkę rozlano do szalek Petriego o średnicy 9 cm.

Celem badań było sprawdzenie zdrowotności nasion rzodkwi zwyczajnej – odmiana *Saxa 2* poddanych przedsewnej stymulacji roztworem nanocząstek ZnO oraz ultradźwiękami. Nasiona były namaczane przez 5 min w 100 mL roztworu nanocząstek o stężeniu 1, 10 i 50 mg/L lub były poddane działaniu ultradźwięków przez 5 minut, gdy były zanurzone w danym roztworze nanocząstek. Roztwory nanocząstek przygotowano poprzez rozcieńczenie roztworu o stężeniu 100 mg/L, który przygotowano poprzez rozdrobnienie nanocząstek w wodzie destylowanej przy użyciu ultradźwięków, w celu uzyskania klarownego roztworu (poprzez umieszczenie kolby Erlenmeyera z roztworem nanocząstek w myjce ultradźwiękowej) przez 15 min. W ramach kontroli zbadano także nasiona moczone w wodzie destylowanej oraz poddane działaniu ultradźwięków w wodzie destylowanej. Następnie nasiona zostały osuszone na papierze filtracyjnym i wyłożone na szalki Petriego zawierające przygotowaną wcześniej pożywkę, po 10 nasion na jedną szalkę. Jedno powtórzenie to 50 nasion (5 szalek). Badania wykonano w dwóch powtórzeniach. Inkubację przeprowadzono w termostacie o stałej temperaturze 20 °C i oświetleniu NUV 360 nm 12 h dzień/ 12 h noc zgodnie z opisem przedstawionym w artykule [386]. Po 13-17 dniach oznaczono wyrosłe kolonie grzybów za pomocą obserwacji mikroskopowych. Schemat badań przedstawiono na Rysunku 31.



Rysunek 31. Schemat badań analizy właściwości przeciwgrzybiczych nanocząstek ZnO użytych do stymulacji przedsiewnej nasion rzodkwi zwyczajnej (źródło: K. Dziergowska)

4.9.8. Pomiary biometryczne roślin

Procent kiełkowania [%] nasion został obliczony na podstawie stosunku nasion zdrowych kiełkujących do wszystkich wysianych nasion. Po zakończeniu badań, nasiona podzielono na: zdrowe kiełkujące, twarde, zdrowe niekiełkujące, martwe oraz kiełkujące, z których wyrosły siewki nienormalne.

Długość korzenia [cm] zmierzono przy użyciu linijki z dokładnością do 0,1 cm. W przypadku testów doniczkowych oraz polowych nie dokonywano pomiarów długości korzenia ze względu na trudność w oddzieleniu korzeni od warstwy glebowej.

Długość hipokotylu [cm] (część podliścieniowa łodygi) zmierzono przy użyciu linijki z dokładnością do 0,1 cm. Parametr ten zbadano podczas wszystkich testów kiełkowania oraz doniczkowych.

Długość epikotyłu [cm] (część nadliścieniowa łodygi) zmierzono przy użyciu linijki z dokładnością do 0,1 cm. Parametr ten zbadano podczas wszystkich testów kiełkowania oraz doniczkowych.

Długość części nadziemnej [cm] (łącznie długość hipokotyłu i epikotyłu) zmierzono przy użyciu linijki z dokładnością do 0,1 cm. Parametr ten zbadano podczas wszystkich testów kiełkowania oraz doniczkowych.

Świeża masa korzenia [g] została zważona z dokładnością do 0,001 g. W przypadku testów doniczkowych oraz polowych nie dokonywano pomiarów masy korzenia ze względu na trudność w oddzieleniu korzeni od warstwy glebowej.

Sucha i świeża masa części nadziemnej [g] (łącznie masa hipokotyłu i epikotyłu) została zważona z dokładnością do 0,001 g.

Powierzchnia liści została zmierzona przy użyciu skanera Epson Perfection V700 i systemu do analizy powierzchni liści WinFOLIA. Parametr ten został zbadany dla testów doniczkowych dotyczących wpływu ekstraktu z *C. glomerata* i przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej stałym polem magnetycznym. Powierzchnię liści mierzono dla największego liścia z każdej rośliny.

Zawartość chlorofilu w liścieniach lub w liściach została zmierzona przy użyciu chlorofilomierza SPAD. W przypadku testów kiełkowania (z wyjątkiem soi warzywnej) dokonywano pomiaru zawartości chlorofilu w liścieniach, ze względu na niepełne wykształcenie liści. W przypadku testów doniczkowych zawartość chlorofilu mierzono w liściach. Pomiary przy użyciu tego urządzenia były niemożliwe w przypadku marchwi zwyczajnej ze względu na zbyt wąskie liścienie oraz liście.

Zawartość chlorofilu *a* i *b*, chlorofilu całkowitego oraz karotenoidów w liściach dla siewek soi warzywnej została zmierzona metodą spektrofotometryczną (dla tego gatunku uzyskano wystarczającą ilość świeżej biomasy). W celu wykonania pomiarów spektrofotometrycznych, 100 mg liści utarto w moździerzu z 10 mL 80% acetonu. Absorbancję mierzono przy długości fali 645, 663 i 470 nm, zgodnie z metodą opisaną przez Karthika i in. (2020) [387]. Pomiary wykonano w dwóch powtórzeniach dla każdej badanej grupy. Równania do oznaczania zawartości chlorofilu zostały opisane przez Arnona (1949) [388]:

$$\text{Chlorofil } a \text{ (}\mu\text{g/mL)} = 12,7 (A_{663}) - 2,69 (A_{645}) \quad (8)$$

$$\text{Chlorofil } b \text{ (}\mu\text{g/mL)} = 22,9 (A_{645}) - 4,68 (A_{663}) \quad (9)$$

$$\text{Całkowity chlorofil (}\mu\text{g/mL)} = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663}) \quad (10)$$

Równanie do oznaczania zawartości karotenoidów zostało opisane przez Lichtenthalera i Welburna (1983) [389]:

$$\text{Karotenoidy (}\mu\text{g/mL)} = (1000 (A_{470}) - 3,27 [\text{Chl } a] - 104 [\text{Chl } b]) / 227 \quad (11)$$

4.10. Analiza statystyczna

Wartości zmierzone podczas badań na roślinach zostały opracowane statystycznie przy wykorzystaniu programu Statistica 13.0 (TIBCO Software Inc., Tulsa, OK, USA). Dla wszystkich badanych grup policzono średnią i odchylenie standardowe (w przypadku rozkładu normalnego i jednorodności wariancji) lub medianę (w przypadku braku rozkładu normalnego i jednorodności wariancji). Normalność rozkładu sprawdzono przy pomocy testu Shapiro-Wilka, a jednorodność wariancji przy pomocy testu Browna-Forsythe'a. Przy spełnieniu założeń o normalności rozkładu badanych zmiennych i jednorodności wariancji do oceny istotnych różnic między badanymi grupami wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz test post hoc Tukeya (dla rozkładu normalnego i jednorodności wariancji). W przypadku, kiedy wymienione wyżej założenia nie zostały spełnione wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Istotność różnic między badanymi grupami wersyfikowano na poziome $p=0,05$. W przypadku badań związanych z porównaniem masy nanocząstek otrzymanych w wyniku biosyntezy różnymi metodami (Rozdział 4.5) wykonano test t-Studenta.

5. Wyniki i dyskusja

5.1. Charakterystyka makroalg

5.1.1. Zawartość popiołu w makroalgach

Zawartość popiołu w poszczególnych makroalgach przedstawiono w Tabeli 19.

Tabela 19. Zawartość popiołu w poszczególnych makroalgach

Makroalga	Zawartość popiołu [%]
<i>C. glomerata</i> 1*	33,4±0,5
<i>C. glomerata</i> 2*	32,7±0,7
<i>Enteromorpha</i> sp.	40,3±0,7
<i>Sargassum</i> sp.	29,3±0,2
<i>F. vesiculosus</i>	28,2±0,2
<i>Porphyra</i> sp.	14,2±0,5
<i>P. palmata</i>	16,1±0,2

* *C. glomerata* 1 to alga zebrana w 2016 r. w miejscowości Tomaszówek, k. Łodzi, a *C. glomerata* 2 to alga zebrana w 2021 r. w miejscowości Nowy Zamek

Porównując dane przedstawione w Tabeli 19 można zauważyć, iż zawartość popiołu była najwyższa w zielenicach, a najniższa w krasnorostach. Im wyższa zdolność makroalg do akumulacji mikro- i makroelementów ze środowiska wodnego tym wyższa zawartość składników mineralnych w danej biomase, a przez to wyższa zawartość popiołu [46].

Wyniki uzyskane dla obu alg z gatunku *C. glomerata* (33,4±0,5% i 32,7±0,5%) mieszczą się w zakresie podanym przez dane literaturowe dla alg z rodzaju *Cladophora* sp. – zawartość popiołu w biomase waha się od 2,44 do 39,3% [46]. Według danych bibliograficznych, *Enteromorpha* sp. jest makroalgą o relatywnie wysokiej zawartości popiołu, która może przyjmować wartości z zakresu od 14 aż do 52% [390]. Otrzymany wynik (40,3±0,7%) mieści się w tym przedziale. Zawartość popiołu w algach z rodzaju *Sargassum* sp. jest bardzo zróżnicowana w zależności od miejsca pochodzenia algi. Wartości te wahają się od 8,7 do 55,7% [391]. Dla alg z rodzaju *Fucus* sp. podawane wyniki zawartości popiołu mają węższy zakres – od 19 do 36% [392]. Wyniki otrzymane dla obu brunatnic testowanych w ramach przeprowadzonych badań (29,3±0,2% dla *Sargassum* sp. i 28,2±0,2% dla *F. vesiculosus*) mieszczą się w podanych zakresach. Niska zawartość popiołu w obu badanych krasnorostach może wynikać ze sposobu ich obróbki, np. bardziej obfitego mycia wodą destylowaną [393]. Ze względu na zakupienie obu alg w sklepie, ich dokładny sposób obróbki po zebraniu nie jest w pełni znany. Według danych literaturowych zawartość popiołu w algach z rodzaju *Porphyra* sp. powinna się mieścić w zakresie od 6,46% do 20,59% [393], a w algach z rodzaju *Palmaria* sp. między od 12% do 42% [394]. Otrzymane wyniki są zgodne z tymi danymi

($14,2 \pm 0,5\%$ dla *Porphyra* sp. i $16,1 \pm 0,2$ dla *P. palmata*). Skład pierwiastkowy makroalg przedstawiono w Rozdziale 5.2.3.

5.1.2. Analiza składu chemicznego makroalg

Zawartość cukrów, tłuszczów i białka w suchej biomase makroalg będących przedstawicielami poszczególnych gromad (zielenic, brunatnic i krasnorostów) została przedstawiona w Tabeli 20.

Tabela 20. Zawartość cukrów, tłuszczów i białka w poszczególnych makroalgach

	<i>C. glomerata</i>	<i>Sargassum</i> sp.	<i>P. palmata</i>
Zawartość cukrów ogółem [% m/m]	0,560	<0,500	1,53
Zawartość tłuszczu całkowitego (surowego) [% m/m]	0,930	0,660	0,580
Zawartość białka [%]	13,6	11,50	14,2

Porównując wyniki zebrane w Tabeli 20 można zauważyć, że makroalga *P. palmata* zawiera najwięcej cukrów i białka w porównaniu do dwóch pozostałych makroalg, a najmniej tłuszczów. Największą zawartością tłuszczów cechowała się *C. glomerata*. Alga *Sargassum* sp. zawierała mniej cukrów i białka niż pozostałe algi. Według danych literaturowych zawartość tłuszczów w *Cladophora* sp. waha się od 0,4 do 2,48% [46], więc uzyskana wartość 0,93% mieści się w tym przedziale. Z kolei zawartość białka wynosi od 10,71 do 22,5% [46] więc również uzyskana wartość 13,56% pokrywa się z tymi danymi. W przypadku makroalgi *Sargassum* sp. otrzymana zawartość tłuszczów (0,66%) oraz zawartość białka (11,5%) mieszczą się w przedziałach odpowiednio od 0,3 do 2,5% [395] i od 2,2% [391] do 22,2% [395] określonych przed dane literaturowe dla rodzaju *Sargassum* sp. Zawartość tłuszczów i białka w makroaldze *P. palmata* (odpowiednio 0,58% i 14,19%) również mieści się w przedziałach określonych przez dane literaturowe (odpowiednio 0,35-3,8% i 7-19%) [394]. Według danych literaturowych zawartość białka może różnić się w zależności od gromady, do której należy dana makroalga. Wartość ta jest niższa w przypadku alg brunatnych (3-15%), zaś wyższa w przypadku zielenic i krasnorostów (10-47%) [396], co pokrywa się z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy.

Zawartość poszczególnych aminokwasów oraz całkowitą zawartość aminokwasów w suchej biomase poszczególnych makroalg przedstawiono w Tabeli 21.

Tabela 21. Zawartość aminokwasów w poszczególnych makroalgach

Aminokwas	Zawartość aminokwasu [g/100 g s.m.]		
	<i>C. glomerata</i>	<i>Sargassum</i> sp.	<i>P. palmata</i>
Kwas asparaginowy	1,30	1,22	1,95
Treonina	0,63	0,48	0,77
Seryna	0,55	0,47	0,86
Kwas glutaminowy	1,50	1,65	1,93
Prolina	0,59	0,43	0,86
Glicyna	0,68	0,57	0,98
Alanina	0,75	0,85	1,35
Walina	0,76	0,58	1,03
Metionina	0,23	0,25	0,32
Izoleucyna	0,55	0,52	0,72
Leucyna	0,93	0,78	1,17
Tyrozyna	0,47	0,10	0,09
Fenylalanina	0,62	0,53	0,75
Ornityna	<0,02	<0,02	<0,02
Kwas gamma-aminomasłowy	<0,02	<0,02	<0,02
Lizyna	0,57	0,56	0,92
Histydyna	0,13	0,17	0,26
Arginina	0,61	0,54	1,03
Tauryna	<0,02	<0,02	<0,02
Hydroksypolina	0,29	<0,02	<0,02
Cysteina	0,28	0,16	0,32
Hydroksylizyna	<0,02	<0,02	<0,02
Całkowita zawartość	11,4	9,86	15,3

Porównując dane przedstawione w Tabeli 21 można zauważyć, że najwięcej aminokwasów znajduje się w krasnorocie *P. palmata*, zarówno, jeśli chodzi o całkowitą zawartość, jak i o zawartość poszczególnych aminokwasów (z wyjątkiem tyrozyny i hydroksyproliny, których najwięcej jest w zielenicy *C. glomerata*). Najmniejsza całkowita zawartość aminokwasów znajdowała się w brunatnicy *Sargassum* sp. (z wyjątkiem kwasu glutaminowego, alaniny, metioniny i histydyny, których najmniejszą ilość zawiera *C. glomerata* oraz tyrozyny, która występuje w najmniejszej ilości w *P. palmata*).

Dla *C. glomerata* aminokwasami występującymi w największych ilościach były kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, leucyna, walina i alanina, co pokrywa się z danymi literaturowymi dla makroalg z rodzaju *Cladophora* sp. [46]. Całkowita zawartość aminokwasów dla makroalg z tego rodzaju waha się od 15,33 do 90,31 g/100 g s.m. [46]. Zatem uzyskany wynik (11,44 g/100 g s.m.) jest niższy od wartości prezentowanych w do tej pory opublikowanych pracach.

W przypadku *Sargassum* sp. zaobserwowano największą zawartość odpowiednio kwasu glutaminowego, kwasu asparaginowego, alaniny, leucyny i waliny spośród wszystkich aminokwasów. Całkowita zawartość aminokwasów w *Sargassum* sp. według danych literaturowych jest dość niska i mieści się w zakresie od 1,66 do 4,52 g/100 g s.m. [391].

Uzyskany wynik (9,86 g/100 g s.m.) jest więc wyższy niż w dotychczas opublikowanych badaniach.

W *P. palmata* w największych ilościach występowały kwas asparginowy, kwas glutaminowy, alanina, leucyna, walina i arginina, co jest zgodne z informacjami przedstawionymi w publikacjach naukowych dla tej algi [394]. Całkowita zawartość aminokwasów dla tej algi waha się od 14,14 [397] aż do 50,0 g/100 g s.m. [398]. Otrzymana w wykonanych badaniach zawartość (15,31 g/100 g s.m.) mieści się w tym zakresie.

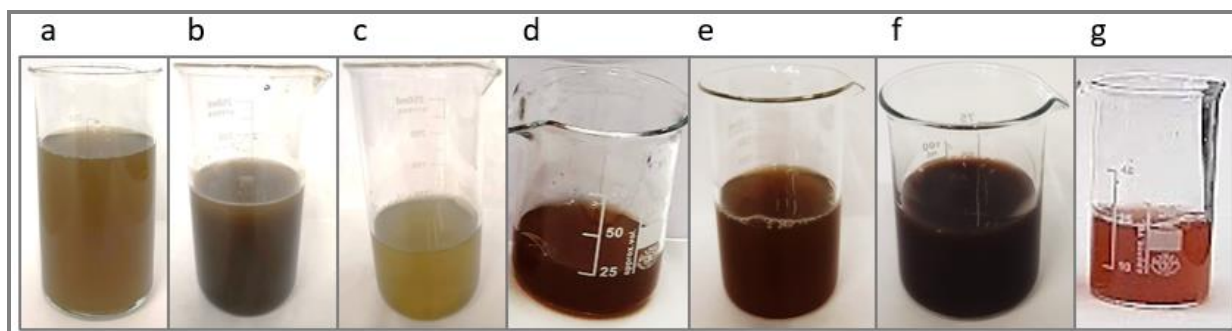
Podsumowując wyniki przedstawione w Rozdziale 5.1. można zauważyć, że wybrane do badań makroalgi różnią się między sobą składem chemicznym. Zawartość popiołu, tłuszczów i białka we wszystkich makroalgach mieściła się w przedziałach podanych w literaturze. Różnice w składzie poszczególnych alg wynikają głównie z ich przynależności do różnych gromad (zielenic, brunatnic i krasnorostów) [396], ale są one także zależne od wielu innych czynników, m.in. miejsca występowania, sezonu (czasu zbioru) oraz fazy wzrostu [399].

5.2. Charakterystyka ekstraktów makroalgowych

Wytypowane i scharakteryzowane gatunki makroalg zostały wykorzystane do wytworzenia ekstraktów algowych, które w dalszej części badań posłużyły do biosyntezy nanocząstek tlenków metali oraz były stosowane jako biostymulatory wzrostu roślin

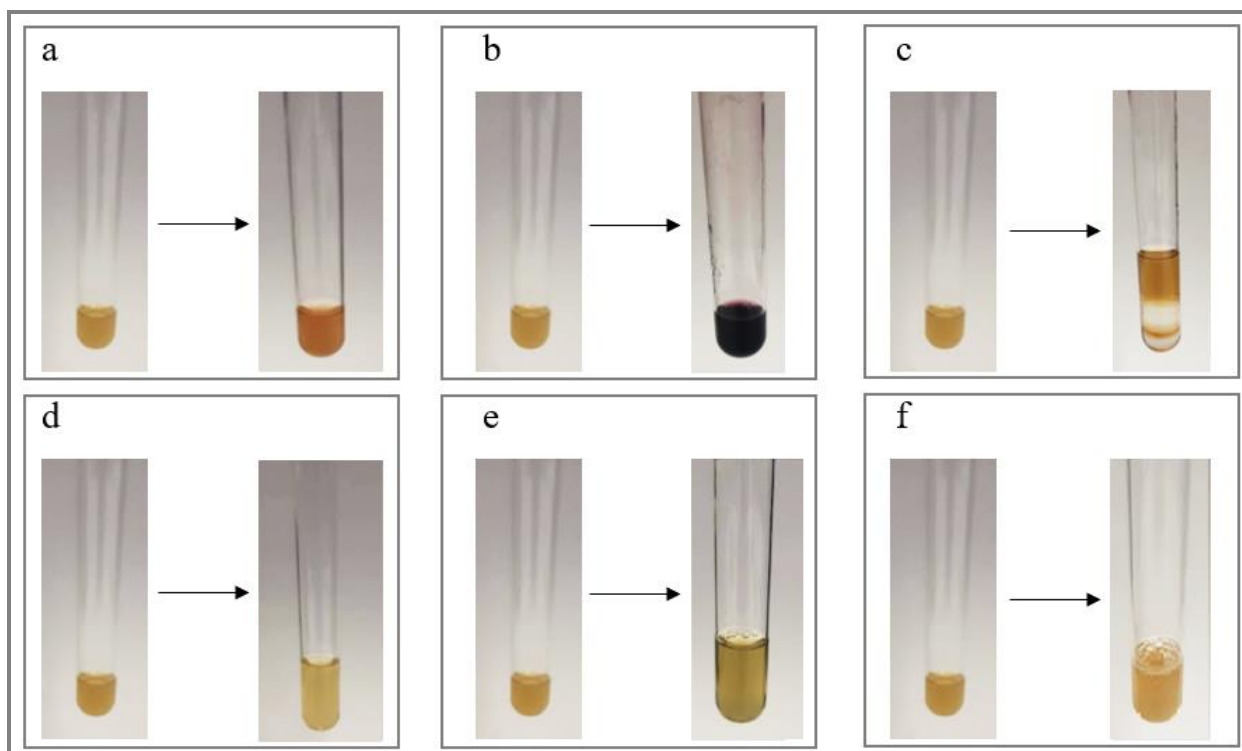
5.2.1. Profil fitochemiczny ekstraktów algowych

Ekstrakty otrzymane z obu zielenic z gatunku *C. glomerata* (Tomaszówek – 2016 rok (Rysunek 32a) i Nowy Zamek – 2021 rok (Rysunek 32b)) oraz ekstrakt z *Enteromorpha* sp. (Rysunek 32 32c) miały kolor oliwkowo-zielony. Ekstrakt z *Sargassum* sp. był w kolorze rdzawobrunatnym (Rysunek 32d), a ekstrakt z *F. vesiculosus* w kolorze bursztynowego brązu (Rysunek 32e). Ekstrakt z *Porphyra* sp. wyraźnie różnił się od pozostałych ekstraktów bardzo ciemnym, prawie czarnym kolorem (Rysunek 32f). Ekstrakt z *P. palmata* miał barwę czerwono-różową (Rysunek 32g).



Rysunek 32. Ekstrakty syntezowane metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami z makroalg: a) *C. glomerata* (2016); b) *C. glomerata* (2021); c) *Enteromorpha* sp.; d) *Sargassum* sp.; e) *F. vesiculosus*; f) *Porphyra* sp.; g) *P. palmata*

Dla ekstraktu z *C. glomerata* zebranej w 2016 roku, który był najczęściej wykorzystywanym ekstraktem w niniejszej pracy doktorskiej, wykonano dodatkowo badania jakościowe na obecność: saponin, olei i tłuszczów, aminokwasów, steroidów, kwasów karboksylowych, białka i alkaloidów (Rysunek 33).



Rysunek 33. Badania jakościowe na obecność związków biologicznie aktywnych w ekstrakcie z *C. glomerata*: a) olei i tłuszczów; b) aminokwasów; c) steroidów; d) kwasów karboksylowych; e) białka; f) alkaloidów

Podczas wykonywania testu na obecność saponin po 5 min od mieszania zaobserwowano pianę o wysokości 2 mm, co oznacza, że zawartość saponin w tym ekstrakcie była niska [379]. Saponiny są istotnym z rolniczego punktu widzenia związkiem, ponieważ udowodniono, że wykazują właściwości przeciwgrzybiczne, m.in. przeciwko *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. i *Rhizopus* sp. [400].

Badanie z wykorzystaniem barwnika Sudan III potwierdziło obecność olei i tłuszczów w badanym ekstrakcie algowym, ponieważ zaobserwowano zmianę jego barwy na pomarańczową (Rysunek 33a). Związki te dostarczają organizmom żywym energię i składniki odżywcze [379], [381].

Test z wykorzystaniem ninhydryny potwierdził obecność aminokwasów w ekstrakcie, ponieważ roztwór, po 10-minutowym podgrzewaniu, zmienił barwę na fioletową (Rysunek 33b) [379]. Obecność aminokwasów w ekstrakcie jest kluczowa dla wzrostu roślin poddanych biostymulacji tym ekstraktem, gdyż odpowiadają one za transport i magazynowanie składników odżywczych, a także przebieg procesów metabolicznych [379], [401].

Podczas wykonywania próby Salkowskiego w roztworze zawierającym ekstrakt zaobserwowano pojawienie się brązowego pierścienia (Rysunek 33c), co potwierdza obecność steroidów w badanym ekstrakcie [379], [402]. Steroidy są stosowane w rolnictwie, przemyśle

spożywczym, ziołolecznictwie i kosmetyce, ponieważ mogą poprawiać aktywność enzymów antyoksydacyjnych oraz posiadają właściwości antybakteryjne [379], [403], [404].

Zastosowana metoda na wykrycie kwasów karboksylowych nie potwierdziła ich obecności w ekstrakcie, ponieważ nie zaobserwowano musowania po dodaniu 5% węgla sodu do badanego ekstraktu (Rysunek 33d). Metoda ta mogła być zbyt mało czuła na wykrycie kwasów karboksylowych obecnych w ekstrakcie [379], [382].

Próba biuretowa nie wykazała obecności białka w badanym ekstrakcie, ponieważ nie zaobserwowano wytrącenia się fioletowego lub różowego osadu (Rysunek 33e). W tym przypadku również zastosowania metoda jakościowa mogła być zbyt mało czuła [379].

Ostatnie badanie jakościowe, z wykorzystaniem kwasu taninowego, nie wykazało obecności alkaloidów w ekstrakcie, ponieważ nie zaobserwowano żadnej zmiany koloru ekstraktu po dodaniu do niego kwasu (Rysunek 33f). Brak zmiany barwy niekoniecznie świadczy o braku obecności alkaloidów w badanym roztworze, ale może świadczyć o zbyt niskiej czułości zastosowanej metody [379].

5.2.2. Wartość pH i przewodność elektryczna ekstraktów algowych

Zestawienie wartości pH i przewodności elektrycznej wszystkich badanych ekstraktów algowych przedstawiono w Tabeli 22. W przypadku makroalg *C. glomerata* z 2016 r., *Enteromorpha* sp. oraz *Sargassum* sp. porównano także wartości pH i przewodności elektrycznej w ekstraktach wytworzonych przy użyciu homogenizatorów ultradźwiękowych o różnej mocy (UP50H i UP100H).

Tabela 22. Wartość pH oraz przewodność elektryczna ekstraktów z poszczególnych makroalg

Makroalga	Homogenizator	pH	Przewodność elektryczna [mS/cm]
<i>C. glomerata</i> 1*	UP50H	7,33±0,02	3,25±0,02
	UP100H	7,34±0,03	3,18±0,04
<i>C. glomerata</i> 2*	UP100H	6,50±0,04	1,52±0,01
<i>Enteromorpha</i> sp.	UP50H	5,83±0,05	6,32±0,34
	UP100H	5,91±0,01	4,85±0,03
<i>Sargassum</i> sp.	UP50H	6,05±0,02	18,1±0,2
	UP100H	5,93±0,04	17,7±0,1
<i>F. vesiculosus</i>	UP100H	5,36±0,04	10,4±0,20
<i>Porphyra</i> sp.	UP100H	6,10±0,06	3,51±0,08
<i>P. palmata</i>	UP100H	6,27±0,02	17,1±0,1

* *C. glomerata* 1 to alga zebrana w 2016 r. w miejscowości Tomaszówek, k. Łodzi, a *C. glomerata* 2 to alga zebrana w 2021 r. w miejscowości Nowy Zamek

Porównując uzyskane wartości można zauważyć, że spośród badanych makroalg, ekstrakty z alg słodkowodnych (*C. glomerata*) miały wyższe wartości pH (od 6,50 do 7,34) oraz niższą przewodność elektryczną (od 1,52 do 3,25 mS/cm), niż ekstrakty z alg morskich (pH od 5,36

do 6,27 i przewodność elektryczna od 3,51 do 18,1 mS/cm). Wyższa wartość przewodności elektrycznej dla ekstraktów z alg morskich może wynikać z większego zasolenia zbiorników morskich niż słodkowodnych, co potwierdzają przedstawione w kolejnym rozdziale (5.2.3) wyniki analizy wielopierwiastkowej dotyczące zawartości sodu w poszczególnych makroalgach.

Wartości pH dla ekstraktów z tych samych makroalg wytworzonych przy użyciu dwóch różnych homogenizatorów ultradźwiękowych były do siebie zbliżone (różnice mniejsze niż 3%). Różnice między wartościami przewodności elektrycznej były większe (aż do 23% dla *Sargassum* sp.). W przypadku przewodności elektrycznej, zawsze była ona wyższa dla ekstraktu, do którego wytworzenia użyto homogenizatora o mniejszej mocy. Może to być związane z mniejszym wyekstrahowaniem jonów sodu z algi podczas używania homogenizatora o mniejszej mocy, co potwierdzają wyniki analizy wielopierwiastkowej dla sodu (Rozdział 5.2.3), a także z większym wyekstrahowaniem jonów chloru, co potwierdzają wyniki pomiarów zawartości chlorków w ekstrakcie z *C. glomerata* (Rozdział 5.2.4).

W literaturze można znaleźć dane dotyczące wartości pH ekstraktu wytworzonego metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami dla *C. glomerata*. Wartości te (7,50 [13] i 7,58 [17]) są zbliżone do wyników otrzymanych dla algi *C. glomerata* zebranej w 2016 r. Nie znaleziono danych dotyczących przewodności elektrycznej oraz pH dla ekstraktów z pozostałych makroalg wytwarzanych metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami.

5.2.3. Analiza wielopierwiastkowa makroalg, ekstraktów algowych i pozostałości poekstrakcyjnej

Wyniki analizy wielopierwiastkowej wykonanej techniką ICP-OES dla poszczególnych makroalg, wytworzonych z nich metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami ekstraktów algowych i pozostałości po ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z makroalg przedstawiono w Tabeli 23. Badania były prowadzone dla suchej biomasy makroalg oraz pozostałości poekstrakcyjnej.

Tabela 23. Wyniki analizy wielopierwiastkowej – zawartość pierwiastków w makroaldze [mg/kg s.m.], stężenie pierwiastków w ekstrakcie algowym [mg/L] i zawartość pierwiastków w pozostałości poekstrakcyjnej [mg/kg s.m.] dla poszczególnych makroalg: (a) *Cladophora glomerata*; (b) *Enteromorpha* sp.; (c) *Sargassum* sp.; (d) *Fucus vesiculosus*; (e) *Porphyra* sp.; (f) *Palmaria palmata*

(a) <i>Cladophora glomerata</i>					
Pierwiastek (długość fali [nm])	Makroalga	Ekstrakt algowy (UP50H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP50H)	Ekstrakt algowy (UP100H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP100H)
Al (396,152)	263±5	2,55±0,01	250±7	1,92±0,01	215±1
As (188,980)	3,66±0,24	0,058±0,001	2,65±0,16	0,089±0,002	2,97±0,09
B (249,772)	54,1±0,4	0,136±0,004	57,6±1,1	0,120±0,002	52,6±0,3
Ba (455,503)	101±1	0,204±0,001	113±2	0,170±0,001	108±1
Ca (396,847)	164829±906	198±1	180769±2287	184±2	1777285±443
Cd (214,439)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cr (267,716)	0,379±0,033	0,033±0,002	1,55±0,12	0,00940±0,00020	1,24±0,02
Cu (327,395)	0,714±0,039	0,016±0,001	8,26±0,16	0,019±0,001	1,19±0,01
Fe (238,204)	571±4	4,88±0,02	566±4	4,00±0,01	527±3
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	22212±71	872±10	8252±92	891±11	93,8±0,4
Mg (285,213)	1973±30	31,4±0,1	1610±18	29,3±0,1	1593±3
Mn (257,610)	139±1	1,54±0,01	129±2	1,41±0,01	119±1
Na (589,592)	518±10	18,3±0,1	246±1	6,48±0,03	105±5
Ni (231,604)	0,346±0,072	0,142±0,005	1,39±0,08	0,0490±0,0010	1,50±0,04
P (213,618)	1008±15	21,1±0,3	779±9	19,7±0,1	821±18
Pb (220,353)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,706±0,035
S (181,972)	16247±112	284±6	13670±87	250±3	13485±148
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	6,97±0,25	0,0700±0,0030	6,15±0,08	<LOD	6,09±0,03

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

(b) <i>Enteromorpha</i> sp.					
Pierwiastek (długość fali [nm])	Makroalga	Ekstrakt algowy (UP50H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP50H)	Ekstrakt algowy (UP100H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP100H)
Al (396,152)	1132±18	3,52±0,09	1433±45	4,05±0,01	903±1
As (188,980)	1,78±0,13	0,0350±0,0010	2,06±0,01	0,0529±0,0029	2,35±0,01
B (249,772)	117±3	3,02±0,01	115±1	3,80±0,02	92,4±0,6
Ba (455,503)	7,33±0,14	0,0550±0,0010	9,63±0,27	0,0760±0,0010	6,84±0,04
Ca (396,847)	17211±865	102±1	18717±172	80,8±0,2	19513±78
Cd (214,439)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cr (267,716)	34,1±2	0,0480±0,0040	43,7±1,4	0,490±0,002	135±1
Cu (327,395)	5,07±0,25	0,0520±0,0010	12,7±0,5	0,108±0,001	6,10±0,05
Fe (238,204)	1819±50	3,86±0,09	2030±58	4,83±0,01	1841±4
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	17236±607	745±6	11128±131	871±9	11796±283
Mg (285,213)	13438±377	345±1	12485±378	447±4	15326±23
Mn (257,610)	90,9±1,3	1,24±0,01	95,2±0,1	1,08±0,01	74,3±0,6
Na (589,592)	3769±112	163±1	2256±16	97,4±0,2	138±1
Ni (231,604)	12,1±0,8	0,105±0,015	18,4±0,6	1,87±0,03	48,8±0,1
P (213,618)	2018±55	80,2±1,5	1419±41	106±1	1404±32
Pb (220,353)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,15±0,03
S (181,972)	27310±904	805±8	25922±340	936±2	29105±407
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	27,4±1,1	0,222±0,001	621±16	0,337±0,009	29,1±0,3

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

(c) <i>Sargassum</i> sp.					
Pierwiastek (długość fali [nm])	Makroalga	Ekstrakt algowy (UP50H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP50H)	Ekstrakt algowy (UP100H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP100H)
Al (396,152)	2308±57	6,93±0,06	2487±58	1,39±0,04	2830±10
As (188,980)	77,2±0,9	2,96±0,02	46,3±0,1	1,27±0,01	45,3±0,6
B (249,772)	71,6±1,7	2,44±0,01	48,8±0,1	5,25±0,04	45,1±0,1
Ba (455,503)	33,7±0,3	0,031±0,001	2,02±0,06	0,0114±0,0001	52,1±0,1
Ca (396,847)	18763±631	71,2±0,6	21816±125	63,0±0,4	23577±50
Cd (214,439)	1,56±0,03	0,007±0,001	2,30±0,03	0,00930±0,00040	2,36±0,01
Cr (267,716)	3,71±0,12	0,0400±0,0020	6,19±0,31	0,00800±0,00010	17,0±0,1
Cu (327,395)	4,15±0,11	0,019±0,001	9,23±0,40	0,00710±0,00060	15,0±0,1
Fe (238,204)	2468±187	4,56±0,02	2555±65	1,00±0,01	3538±12
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	66244±1559	2955±8	27881±171	3360±204	25425±191
Mg (285,213)	25002±453	861±1	16618±144	350±23	16188±71
Mn (257,610)	174±8	3,86±0,1	165±1	2,24±0,01	162±1
Na (589,592)	9353±132	422±3	3800±36	209±1	189±2
Ni (231,604)	3,07±0,08	0,0720±0,0180	4,89±0,04	0,052±0,001	9,24±0,06
P (213,618)	4100±101	165±1	2263±22	79,6±1,1	2401±13
Pb (220,353)	0,449±0,054	<LOD	1,19±0,01	<LOD	2,72±0,05
S (181,972)	13629±142	407±4	11970±185	220±2	11254±103
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	27,2±0,6	0,231±0,02	229±11	0,186±0,009	48,4±0,3

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

(d) <i>Fucus vesiculosus</i>			
Pierwiastek (długość fali [nm])	Makroalga	Ekstrakt algowy (UP100H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP100H)
Al (396,152)	245±12	4,21±0,01	404±2
As (188,980)	52,7±0,8	2,38±0,01	24,1±0,1
B (249,772)	95,0±1,9	4,47±0,02	36,7±0,3
Ba (455,503)	12,6±0,1	0,0220±0,0010	18,7±0,1
Ca (396,847)	9352±3	100±1	12741±13
Cd (214,439)	0,356±0,001	<LOD	0,478±0,016
Cr (267,716)	1,03±0,05	0,0130±0,0010	5,83±0,03
Cu (327,395)	3,47±0,02	0,0380±0,0010	6,94±0,06
Fe (238,204)	269±7	4,83±0,01	472±3
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	37806±105	1454±3	21696±143
Mg (285,213)	7245±7	194±1	6429±8
Mn (257,610)	210±1	5,30±0,02	211±2
Na (589,592)	1147±17	416±2	5727±19
Ni (231,604)	4,05±0,20	0,109±0,004	4,72±0,11
P (213,618)	3305±32	137±1	1752±16
Pb (220,353)	0,665±0,045	<LOD	1,40±0,05
S (181,972)	19126±301	385±5	19629±92
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	34,5±0,5	0,724±0,006	42,1±0,2

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

(e) <i>Porphyra</i> sp.			
Pierwiastek (długość fali [nm])	Makroalga	Ekstrakt algowy (UP100H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP100H)
Al (396,152)	656±3	6,25±0,25	831±5
As (188,980)	29,6±0,5	1,40±0,01	15,7±0,2
B (249,772)	3,18±0,06	0,135±0,001	1,65±0,01
Ba (455,503)	8,01±0,05	0,101±0,001	9,98±0,09
Ca (396,847)	3030±10	77,7±0,6	3041±6
Cd (214,439)	1,55±0,02	0,0170±0,0010	1,86±0,02
Cr (267,716)	2,31±0,15	0,0330±0,0010	7,46±0,02
Cu (327,395)	15,2±0,5	0,173±0,001	18,0±0,1
Fe (238,204)	540±12	5,71±0,06	688±3
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	20383±74	866±38	13740±76
Mg (285,213)	3722±2	113±1	3111±7
Mn (257,610)	68,2±1,3	1,77±0,01	65,1±0,4
Na (589,592)	161±6	59,1±0,4	102±1
Ni (231,604)	1,53±0,04	0,028±0,001	3,57±0,04
P (213,618)	6066±4	217±2	4613±65
Pb (220,353)	0,850±0,030	<LOD	11,5±0,1
S (181,972)	24004±16	602±1	21919±285
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	43,9±2,2	0,433±0,20	55,0±0,1

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

(f) <i>Palmaria palmata</i>			
Pierwiastek (długość fali [nm])	Makroalga	Ekstrakt algowy (UP100H)	Pozostałość poekstrakcyjna (UP100H)
Al (396,152)	42,90±0,25	0,710±0,01	64,70±0,38
As (188,980)	9,80±0,07	0,419±0,013	7,21±0,08
B (249,772)	183±1	4,44±0,05	213±1
Ba (455,503)	1,21±0,01	0,0120±0,0010	2,01±0,01
Ca (396,847)	2366±11	63,2±0,2	2423±2
Cd (214,439)	0,134±0,003	<LOD	0,199±0,006
Cr (267,716)	1,38±0,03	0,0198±0,0003	49,5±0,4
Cu (327,395)	2,86±0,01	0,106±0,001	6,23±0,04
Fe (238,204)	166±1	1,84±0,01	475±1
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	788757±16564	3533±33	26145±222
Mg (285,213)	3190±12	134±1	1812±15
Mn (257,610)	159±1	3,39±0,03	198±1
Na (589,592)	8460±81	389±2	2824±22
Ni (231,604)	2,72±0,06	0,0360±0,0002	26,5±0,1
P (213,618)	25861±85	729±8	2616±39
Pb (220,353)	1,09±0,04	<LOD	1,18±0,01
S (181,972)	6983±133	201±1	6486±110
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	13,6±0,1	0,207±0,013	22,1±0,1

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

Porównując dane przedstawione w Tabeli 23 można stwierdzić, że suche biomasy wszystkich zbadanych makroalg zawierają głównie wapń, potas, siarkę, magnez i fosfor (powyżej 1000 mg/kg s.m.), a w przypadku makroalg morskich (z wyjątkiem *Porphyra* sp.) także sód. Wysoka zawartość sodu w badanych makroalgach morskich w porównaniu do makroalgi słodkowodnej wynika z wysokiego stężenia sodu w zbiornikach morskich. Niska zawartość sodu dla morskiej makroalgi *Porphyra* sp. może wynikać z metody obróbki biomasy po jej zebraniu (np. obfite płukanie lub moczenie algi przez dłuższy czas w wodzie destylowanej), która jest nieznana (algę zakupiono w sklepie).

Ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana ultradźwiękami umożliwiła wyekstrahowanie z alg głównie potasu, sodu (z wyjątkiem ekstrakcji homogenizatorem UP100H dla makroalgi *C. glomerata*), wapnia, fosforu, siarki i magnezu ze wszystkich makroalg (stężenie pierwiastków w roztworze powyżej 10 mg/L). Wszystkie otrzymane ekstrakty algowe zawierają istotne z punkty widzenia rolnictwa mikro- (miedź, mangan, cynk, żelazo) i makroelementy (wapń, potas, magnez, fosfor, siarka).

Otrzymana pozostałość poekstrakcyjna nadal zawiera znaczne ilości wartościowych mikro- i makroelementów. Z tego powodu może być stosowana jako dodatek doglebowy [254]. Innym sposobem na zagospodarowanie pozostałości poekstrakcyjnej jest wykorzystanie jej jako biosorbent metali ciężkich [254], [255], [377], co pozwala na obniżenie kosztów jej utylizacji [377].

Żadna z badanych makroalg nie zawierała toksycznej rtęci (zawartość poniżej limitu detekcji). Obie badane zielenice nie zawierały także dwóch innych toksycznych metali – kadmu i ołowiu. Wszystkie brunatnice zawierały kadm i ołów, jednak w przypadku alg *F. vesiculosus* i *P. palmata* stężenie kadmu w wytworzonych ekstraktach było poniżej limitu detekcji, tak samo jak stężenie ołowiu w ekstraktach wytworzonych z *Sargassum* sp. (z użyciem homogenizatora UP50H), *F. vesiculosus*, *Porphyra* sp. i *P. palmata*. Wszystkie algi zawierały natomiast nikiel i arsen, które w wyniku procesu ekstrakcji znajdowały się również w wytworzonych ekstraktach oraz pozostałościach poekstrakcyjnych. Dane literaturowe wskazują, iż arsen może występować w wielu gatunkach alg, w formie organicznej jako składnik cukrów. Nie jest on w tej postaci toksyczny, ale należy kontrolować jego zawartość w badanych algach [405].

Porównując stężenie poszczególnych pierwiastków w ekstraktach otrzymanych z tych samych alg (*C. glomerata*, *Enteromorpha* sp. i *Sargassum* sp.) przy użyciu dwóch różnych homogenizatorów (o mocy 50 i 100 W) można zauważyć, że nie ma pomiędzy większością z nich dużych różnic. Stężenie potasu było dla wszystkich trzech ekstraktów algowych wyższe, gdy używano homogenizatora UP100H, natomiast stężenia wapnia i sodu były wyższe, gdy używano homogenizatora o mniejszej mocy UP50H. Duże różnice zaobserwowano jedynie w przypadku sodu, jego zawartość w ekstrakcie otrzymywanym z użyciem homogenizatora o mocy 100 W było od 1,7 do 2,8 razy niższa niż przy zastosowaniu homogenizatora o mocy 50 W.

Zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiającym przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych, dopuszczalna ilość poszczególnych metali ciężkich w biostymulatorach wzrostu roślin wynosi odpowiednio: 1,5 mg/kg s.m. dla kadmu, 2 mg/kg s.m. dla chromu sześciowartościowego, 1 mg/kg s.m. dla rtęci, 50 mg/kg s.m. dla niklu, 120 mg/kg s.m. dla ołowiu i 40 mg/kg s.m. dla arsenu [406].

Porównując dane przedstawione w Tabeli 23 z limitami określonymi w Rozporządzeniu, można stwierdzić, iż dopuszczalna zawartość kadmu została nieznacznie przekroczona dla

makroalgi *Sargassum* sp. zarówno w biomacie makroalgi ($1,56 \pm 0,03$ mg/kg s.m.), jak i w pozostałości poekstrakcyjnej ($2,30 \pm 0,03$ mg/kg s.m. dla ekstrakcji homogenizatorem UP50H i $2,36 \pm 0,01$ mg/kg s.m. dla ekstrakcji homogenizatorem UP100H). Jednak stężenie kadmu w ekstrakcie algowym, który miałby być używany do stymulacji wzrostu roślin jest niskie ($0,007 \pm 0,001$ mg/L dla ekstrakcji homogenizatorem UP50H i $0,0093 \pm 0,0004$ mg/L dla ekstrakcji homogenizatorem UP100H). Ta sama sytuacja miała miejsce dla makroalgi *Porphyra* sp., dla której dopuszczalna zawartość kadmu była nieznacznie przekroczone zarówno w biomacie makroalgi ($1,55 \pm 0,02$ mg/kg s.m.), jak i w pozostałości poekstrakcyjnej ($1,86 \pm 0,02$ mg/kg s.m.), natomiast stężenie tego pierwiastka w ekstrakcie algowym było niskie ($0,017 \pm 0,001$ mg/L).

W przypadku stężenia chromu sześciowartościowego nie ma możliwości porównania otrzymanych wyników z dopuszczalnym limitem, gdyż otrzymane stężenie jest łącznym stężeniem chromu trójwartościowego i sześciowartościowego. Jednak w przypadku wszystkich ekstraktów algowych całkowite stężenie chromu jest niższe niż dopuszczalne stężenie chromu sześciowartościowego (2 mg/kg s.m.). Dopuszczalne stężenie ołowiu nie zostało przekroczone dla żadnej z badanych makroalg ani otrzymywanych pozostałości poekstrakcyjnych.

Dopuszczalna zawartość arsenu (40 mg/kg s.m.) została przekroczona dla obu brunatnic – *Sargassum* sp. ($77,2 \pm 0,9$ mg/kg s.m.) i *F. vesiculosus* ($52,7 \pm 0,8$ mg/kg s.m.) i pozostałości poekstrakcyjnych z *Sargassum* sp. ($46,3 \pm 0,1$ mg/kg s.m. dla pozostałości otrzymanej przy użyciu homogenizatora UP50H i $45,3 \pm 0,1$ mg/kg s.m. dla pozostałości otrzymanej przy użyciu homogenizatora UP100H). Jednak jak wspomniano wcześniej, arsen może występować w algach, w formie organicznej jako składnik cukrów. Nie jest on w tej postaci toksyczny, ale należy kontrolować jego zawartość w badanych algach [405]. Stężenie arsenu we wszystkich ekstraktach było niskie – wynosiło ono odpowiednio $2,96 \pm 0,02$, $1,27 \pm 0,01$ i $2,38 \pm 0,01$ mg/L dla ekstraktów z *Sargassum* sp. (otrzymanych przy użyciu homogenizatorów UP50H i UP100H) oraz ekstraktu z *F. vesiculosus*.

Analizując opisane wyniki dla pierwiastków toksycznych należy pamiętać, iż algi oraz pozostałości poekstrakcyjne nie są stosowane bezpośrednio jako nawóz, a jedynie jako składniki nawozu organicznego lub mieszaniny kompostowej [48]. Oznacza to, iż mogą być bezpiecznie stosowane, jeśli w składzie całego nawozu zawartość tych pierwiastków nie zostanie przekroczona.

5.2.4. Stężenie chlorków i siarczanów w ekstrakcie algowym

Stężenie chlorków w ekstrakcie z *C. glomerata* wytworzonym przy użyciu homogenizatora UP50H wynosiło $78,1 \pm 0,1$ mg/L, natomiast w ekstrakcie wytworzonym przy użyciu homogenizatora UP100H $67,5 \pm 3,6$ mg/L. Wyniki te są do siebie zbliżone, nie zaobserwowano między nimi różnic istotnych statystycznie. Stężenie siarczanów w ekstrakcie otrzymywanym przy użyciu obu homogenizatorów było takie samo i wynosiło $12,5 \pm 0,1$ mg SO_4^{2-} /L. Otrzymane wartości są znacznie niższe niż dane literaturowe dla ekstraktu z innej makroalgi – brunatnicy *Saccorhiza polyschides*, dla którego stężenie chlorków wynosiło 7400 mg/L, a siarczanów 1520 mg/L [407]. Wysokie stężenia chlorków i siarczanów w ekstraktach mogą być niepożądane, jeśli są one stosowane jako potencjalne biostymulatory wzrostu roślin, ponieważ dane literaturowe wskazują, iż ich wysokie stężenie w glebie jest toksyczne dla niektórych roślin we wczesnej fazie ich wzrostu, w tym także roślin z rodziny bobowatych wykorzystywanych w niniejszej pracy doktorskiej [408].

5.2.5. Zawartość polifenoli w ekstraktach algowych

Całkowitą zawartość polifenoli zmierzono w ekstraktach otrzymanych ze wszystkich makroalg wymienionych w Tabeli 13. W przypadku makroalgi *C. glomerata* z 2016 r. oraz *Sargassum* sp. porównano także zawartość polifenoli w ekstraktach wytworzonych przy użyciu homogenizatorów ultradźwiękowych o różnej mocy (UP50H i UP100H). Otrzymane wyniki (w przeliczeniu na kwas galusowy – KG) przedstawiono w Tabeli 24.

Tabela 24. Całkowita zawartość polifenoli w ekstraktach algowych otrzymanych z poszczególnych makroalg

Makroalga	Homogenizator (rodzaj)	Zawartość polifenoli [mg KG/L]*
<i>C. glomerata</i> 1**	UP50H	$73,5 \pm 8,8$
	UP100H	$83,0 \pm 9,8$
<i>C. glomerata</i> 2**	UP100H	216 ± 2
<i>Enteromorpha</i> sp.	UP100H	$68,5 \pm 4,5$
<i>Sargassum</i> sp.	UP50H	146 ± 11
	UP100H	119 ± 3
<i>F. vesiculosus</i>	UP100H	223 ± 10
<i>Porphyra</i> sp.	UP100H	157 ± 4
<i>P. palmata</i>	UP100H	$40,4 \pm 7,0$

* zawartość polifenoli wyrażono w przeliczeniu na kwas galusowy (mg KG/L)

** *C. glomerata* 1 to alga zebrana w 2016 r. w miejscowości Tomaszówek, k. Łodzi, a *C. glomerata* 2 to alga zebrana w 2021 r. w miejscowości Nowy Zamek

KG – kwas galusowy

Najwyższą zawartość polifenoli spośród badanych ekstraktów algowych miał ekstrakt z *F. vesiculosus* (223 ± 10 mg KG/L), zaś najniższą *P. palmata* ($40,4 \pm 7,0$ mg KG/L). Różnice w zawartości polifenoli w ekstraktach z tych samych makroalg otrzymywanych przy użyciu różnych homogenizatorów były stosunkowo niewielkie (poniżej 20%). W przypadku *C. glomerata* zawartość polifenoli w ekstrakcie była wyższa po użyciu homogenizatora

o większej mocy, natomiast dla *Sargassum* sp. niższa, jednak różnice między otrzymanymi wynikami nie były istotne statystycznie. Porównując makroalgi *C. glomerata* zebrane z różnych zbiorników wodnych i w różnych latach, można zauważyć, że alga zebrana w miejscowości Nowy Zamek miała ponad 2-krotnie wyższą zawartość polifenoli niż alga zebrana w miejscowości Tomaszówek. Oznacza to, że miejsce i czas zbioru algi może mieć bardzo duże znaczenie dla jej składu chemicznego. Polifenole są uznawane za silne przeciwutleniacze ze względu na ich zdolność do oddawania elektronów lub atomów wodoru oraz zdolność do neutralizacji wolnych rodników [46]. Pełnią one funkcje regulatorów wzrostu w roślinach [53].

Do tej pory naukowcy przeprowadzili wiele badań potwierdzających obecność polifenoli w ekstraktach algowych, także z alg wykorzystywanych w niniejszej pracy doktorskiej [409]. Nie przeprowadzono jednak wielu badań sprawdzających zawartość polifenoli (w przeliczeniu na kwas galusowy) w ekstraktach algowych otrzymywanych przy użyciu ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami. W 2020 roku Kumar i in. [410] porównali zawartość polifenoli w metanolowych ekstraktach algowych z *Sargassum wightii*, *Ulva rigida* (syn. *Enteromorpha*) i *Gracilaria edulis* wytworzonych dwoma metodami – tradycyjną (mieszanie w 37 °C) i nowoczesną (ekstrakcja rozpuszczalnikowa wspomagana ultradźwiękami). Najwyższą zawartość polifenoli uzyskali dla ekstraktu z *S. wightii* otrzymanego przy użyciu nowoczesnej metody ekstrakcji ($19,27 \pm 0,05$ mg KG/g). Wartość ta była ponad 3-krotnie wyższa niż dla ekstraktu wytworzonego tradycyjną metodą ($5,41 \pm 0,25$ mg KG/g). W badaniach tych najwyższą zawartość polifenoli odnotowano dla ekstraktu z algi należącej do gromady brunatnic (*S. wightii*), zaś najniższą dla ekstraktu z algi należącej do gromady krasnorostów (*G. edulis*). W niniejszej pracy doktorskiej najwyższą zawartość polifenoli również uzyskano dla ekstraktu z brunatnicy (*F. vesiculosus*), a najniższą dla ekstraktu z krasnorostu (*P. palmata*), jednak biorąc pod uwagę wyniki otrzymane dla wszystkich ekstraktów nie można wskazać tendencji do większej zawartości polifenoli w żadnej z badanych gromad makroalg. W 2023 roku Castillo i in. [411] otrzymali zawartość polifenoli 38 mg KG/g w ekstrakcie z *Sargassum hornschochii* wytworzonym ekstrakcją rozpuszczalnikową wspomaganą ultradźwiękami. Wartości uzyskane przez obie grupy naukowców podawane były w przeliczeniu na masę suchego ekstraktu, nie można więc porównać ich z wynikami przedstawionymi w Tabeli 24.

5.2.6. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów algowych

Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów algowych została oznaczona metodą DPPH dla ekstraktów ze wszystkich makroalg wymienionych w Tabeli 13. Dodatkowo policzono zdolność badanych ekstraktów do przeciwdziałania reakcji utleniania (procent inhibicji rodnika DPPH). W przypadku makroalgi *C. glomerata* z 2016 r. oraz *Sargassum* sp. porównano także aktywność przeciwutleniającą i procent inhibicji w ekstraktach wytworzonych przy użyciu homogenizatorów ultradźwiękowych o różnej mocy (UP50H i UP100H). Zestawienie otrzymanych wyników przedstawiono w Tabeli 25.

Tabela 25. Aktywność przeciwutleniająca oraz procent inhibicji dla ekstraktów algowych z poszczególnych makroalg

Makroalga	Homogenizator	Aktywność przeciwutleniająca [mmol Trolox/L]*	Procent inhibicji [%]
<i>C. glomerata</i> 1**	UP50H	0,0305±0,0117	10,8±0,9
	UP100H	0,0848±0,0115	16,8±0,9
<i>C. glomerata</i> 2**	UP100H	0,874±0,004	76,9±0,4
<i>Enteromorpha</i> sp.	UP100H	0,0220±0,0037	1,63±0,28
<i>Sargassum</i> sp.	UP50H	0,773±0,026	35,4±2,02
	UP100H	0,711±0,011	56,7±0,9
<i>F. vesiculosus</i>	UP100H	0,740±0,040	65,4±3,4
<i>Porphyra</i> sp.	UP100H	0,339±0,028	27,6±2,2
<i>P. palmata</i>	UP100H	0,188±0,009	7,93±0,63

* aktywność przeciwutleniającą wyrażono jako pojemność przeciwutleniającą równoważną Troloxowi (mmol Trolox/L), czyli jako stężenie Trolox wykazujące aktywność przeciwutleniającą identyczną z 1 mM roztworem preparatu

** *C. glomerata* 1 to alga zebrana w 2016 r. w miejscowości Tomaszówek, k. Łodzi, a *C. glomerata* 2 to alga zebrana w 2021 r. w miejscowości Nowy Zamek

Porównując wartości aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z badanych makroalg, najwyższą wartość uzyskano dla ekstraktu z *C. glomerata* zebranej w 2021 r. (0,874±0,004 mmol Trolox/L). Również procent inhibicji rodnika DPPH był najwyższy dla ekstraktu z tej algi (76,9±0,4%). Jest to alga, dla której uzyskano drugą najwyższą całkowitą zawartość polifenoli w ekstrakcie (216±2 mg KG/L), zaraz po ekstrakcie z *F. vesiculosus* (223±10 KG/L). Najniższe wartości aktywności przeciwutleniającej (0,0220±0,0037 mmol Trolox/L) oraz procentu inhibicji (1,63±0,28%) otrzymano dla algi *Enteromorpha* sp. W przypadku ekstraktów z *Sargassum* sp. nie było dużej różnicy między aktywnością przeciwutleniającą dla ekstraktów wytworzonych przy użyciu dwóch różnych homogenizatorów, natomiast procent inhibicji był 1,6 razy większy w przypadku zastosowania homogenizatora UP100H. Dla algi *C. glomerata*, różnica w aktywności przeciwutleniającej była znacznie większa – dla ekstraktu otrzymanego przy użyciu homogenizatora o większej mocy była ona 2,8 razy większa, jednak obie wartości były niskie w porównaniu do wartości otrzymanych dla ekstraktów z pozostałych alg (z wyjątkiem *Enteromorpha* sp.). Procent

inhibicji rodnika DPPH był w przypadku tych ekstraktów również 1,6 razy większy po ekstrakcji homogenizatorem UP100H, niż po ekstrakcji homogenizatorem UP50H.

W publikacjach naukowych nie znaleziono danych dotyczących wartości aktywności przeciwutleniającej (mierzonej metodą z wykorzystaniem Troloxu) dla wodnych ekstraktów algowych wytworzonych z użyciem ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami. Ekstrakty wodne i wodno-etanolowe wytworzone metodą homogenizacji ze słodkowodnej algi *C. glomerata* zawierały około 0,005-0,018 mmol Trolox/g [412]. Dla ekstraktu (otrzymanego poprzez mieszanie i homogenizację) z algi z rodzaju *Enteromorpha* sp. – *Ulva lactuca* – García i in. uzyskali w 2020 r. wynik 0,13 mmol Trolox/g [413]. W 2020 r. Saraswati i in. otrzymali wynik $0,0392 \pm 0,0005$ mmol Trolox/g dla ekstraktu z *Sargassum cristaefolium* (otrzymanego poprzez mieszanie) [414]. W publikacji Agregána i in. z 2018 r. scharakteryzowano aktywność przeciwutleniającą ekstraktów wodno-etanolowych (1:1) wytwarzanych metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami (z użyciem myjki ultradźwiękowej) z trzech makroalg – *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* i *Bifurcaria bifurcata*. Najwyższe wartości tego parametru otrzymano dla algi *B. bifurcata* (0,146 mmol Trolox/g). Dla *F. vesiculosus* uzyskano wartość 0,0272 mmol Trolox/g [415]. Z kolei w publikacji Lopes i in. z 2020 r. porównując wartości aktywności przeciwutleniającej ekstraktów lipidowych z sześciu makroalg otrzymano wartości: $0,0897 \pm 0,0046$ mmol Trolox/g dla *F. vesiculosus*, $0,0449 \pm 0,0015$ mmol Trolox/g dla *Porphyra dioica* i $0,0895 \pm 0,0063$ mmol Trolox/g dla *Palmaria palmata*. W tym badaniu najwyższą wartość aktywności przeciwutleniającej uzyskano dla makroalgi *Codium tomentosum* – $0,250 \pm 0,667$ mmol Trolox/g [416]. Wyniki podane w przytoczonych badaniach wyrażane były w mmol Trolox na gram suchej biomasy ekstraktu, więc nie można ich porównać z wynikami otrzymanymi w niniejszej pracy doktorskiej. Nie zaobserwowano także zależności pomiędzy przynależnością makroalgi do danej gromady, a aktywnością przeciwutleniającą charakteryzującą otrzymany z niej ekstrakt. Na parametr ten wpływa wiele czynników, przede wszystkim sposób ekstrakcji (metoda, zastosowany rozpuszczalnik, proporcja algi do rozpuszczalnika) [416].

Podsumowując wyniki przedstawione w Rozdziale 5.2. można zauważyć, że ekstrakty otrzymywane metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami z różnych makroalg różnią się między sobą składem chemicznym. Badane ekstrakty zawierały różne stężenia mikro- i makroelementów, które są niezbędne dla wzrostu roślin. Ekstrakty te mogą być stosowane w przypadku niedoborów tych pierwiastków w glebie.

Ekstrakty z *F. vesiculosus* i *C. glomerata* (Nowy Zamek – 2021 r.) charakteryzowały się najwyższą zawartością polifenoli. Ekstrakty z tych dwóch alg, wraz ze ekstraktem z *Sargassum* sp. wykazywały także najwyższą aktywność przeciwutleniającą oraz procent inhibicji rodnika DPPH. W związku z tym ich zastosowanie w rolnictwie jest najbardziej perspektywiczne. Różnice w składzie poszczególnych ekstraktów algowych mogą wynikać m.in. z przynależności wybranych makroalg do różnych gromad [396], miejsca i czasu ich zbioru oraz fazy wzrostu [399]. Przed wprowadzeniem wytworzonych ekstraktów algowych do sprzedaży jako biostymulatorów wzrostu roślin niezbędna jest dalsza szczegółowa charakterystyka zarówno samych ekstraktów, jak i zbadanie mechanizmu ich działania na kiełkowanie nasion i wzrost roślin (badania genetyczne).

5.3. Otrzymywanie i charakterystyka nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Otrzymane i scharakteryzowane pod względem składu fizyko-chemicznego ekstrakty algowe posłużyły do biosyntezy tlenków metali – cynku oraz miedzi.

5.3.1. Synteza nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Masę nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi otrzymanych w wyniku biosyntezy z użyciem ekstraktów algowych przedstawiono w Tabeli 26 i Tabeli 27. Nr nanocząstek odnosi się do numeru z Tabeli 16, w której przedstawiono pełen opis parametrów biosyntezy, wraz ze źródłem, na podstawie którego dobierane były te parametry. W Tabeli 26 i Tabeli 27 przedstawiono jedynie skrócony opis modyfikowanych parametrów, aby ułatwić ocenę wpływu poszczególnych parametrów na masę otrzymanych nanocząstek.

Tabela 26. Masa nanocząstek tlenku cynku otrzymana w procesie biosyntezy z użyciem ekstraktów algowych

Nanocząstki ZnO		
Nr	Skrócony opis (alga/ nr ekstraktu*/ rozpuszczalnik**/ rodzaj homogenizatora/ objętość ekstraktu/ sól***/ odważka lub stężenie soli/ objętość roztworu/ czas mieszania + czas inkubacji/temperatura/pH	Masa nanocząstek [g]
1	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 60 mL/ A/ m=1,2 g/ V=0/ t=2 h/ T=80 °C/ pH=6,7	0,263±0,001
2	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 40 mL/ A/ C=100 mM/ V=200 mL/ t=4 h/ T=80 °C/ pH=6,2	0,494±0,013
3	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 15 mL/ S/ C=100 mM/ V=100 mL/ t=2+12 h/ T=60 °C/ pH=12,0	0,708±0,156
4	<i>Enteromorpha</i> sp./ 1/ W/ UP50H/ 15 mL/ S/ C=100 mM/ V=100 mL/ t=2+12 h/ T=60 °C/ pH=12,0	1,01±0,03
5	<i>Sargassum</i> sp./ 1/ W/ UP50H/ 15 mL/ S/ C=100 mM/ V=100 mL/ t=2+12 h/ T=60 °C/ pH=12,0	1,04±0,09
6	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 60 mL/ A/ m=6 g/ V=0/ t=0,5 h/ T=80 °C/ pH=6,1	0,796±0,004
7	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 60 mL/ A/ C=100 mM/ V=150 mL/ t=10 min/ T=60 °C/ pH=7,2	1,47±0,18
8	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 50 mL/ A/ m=10,33 g/ V=0/ t=18 h/ T – pokojowa/ pH=12,0	3,59±0,05
9	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 15 mL/ O/ m=2,2 g/ V=35 mL/ t=6+12 h/ T=60 °C/ pH=12,4	0,531±0,006
10	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,88±0,08
11	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,74±0,03
12	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,92±0,14
13	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T – pokojowa /pH=12,0	2,52±0,27
14	<i>C. glomerata</i> / 3/ E/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=10,0	2,67±0,42
15	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=8,0	2,34±0,07
16	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=6,0	0,0684±0,0094
17	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ A/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	1,95±0,35
18	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ S/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	1,75±0,06
19	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min/ T=65 °C/ pH=12,0	2,26±0,08
20	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+1 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,70±0,07
21	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 100 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	3,02±0,20
22	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=10 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	4,06±0,06
23	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+0,5 h (ultradźwięki)/ T=65 °C/ pH=12,0	1,93±0,07
24	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+30 s (mikrofały)/ T=65 °C/ pH=12,0	1,94±0,01
25	<i>F. vesiculosus</i> / 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,85±0,20
26	<i>Enteromorpha</i> sp./ 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	3,63±0,14
27	<i>Sargassum</i> sp./ 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	3,52±0,14
28	<i>Porphyra</i> sp./ 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=5 g/ V=0/ t=15 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	3,46±0,10

* na podstawie Tabela 15

** rozpuszczalnik: E – etanol; W – woda destylowana

*** sól: A – azotan cynku; O – octan cynku; S – siarczan cynku

Porównując wyniki przedstawione w Tabeli 26 można stwierdzić, iż na masę otrzymanych nanocząstek tlenku cynku miało wpływ wiele parametrów. Należą do nich: gromada i gatunek makroalgi, masa algi i objętość rozpuszczalnika użytych do produkcji ekstraktu algowego, moc homogenizatora ultradźwiękowego, rodzaj rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji algi, objętość ekstraktu algowego, rodzaj soli, odważka lub stężenie soli, czas mieszania temperatura, zastosowanie ultradźwięków lub mikrofal oraz pH.

Pierwszym parametrem branym pod uwagę przy analizie masy otrzymanych w wyniku procesu biosyntezy nanocząstek tlenków cynku był gatunek makroalgi. Porównując masy nanocząstek nr 4, 5 i 6, które były syntezowane tą samą metodą, ale z użyciem trzech różnych makroalg można zauważyć, że przy użyciu ekstraktów z alg *Enteromorpha* sp. i *Sargassum* sp. uzyskano podobną masę nanocząstek, o około 30% wyższą niż przy użyciu ekstraktu z *C. glomerata*. Z kolei porównując masy nanocząstek nr 12, 25, 26, 27 i 28, które były biosyntezowane przy użyciu tej samej metody, ale z wykorzystaniem ekstraktów z pięciu różnych makroalg można zaobserwować, że w przypadku ekstraktów z alg *Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp. i *Porphyra* sp. wyniki były do siebie zbliżone, zaś dla nanocząstek syntezowanych z użyciem *C. glomerata* i *F. vesiculosus* o około 15-20% niższe niż dla ekstraktów z pozostałych alg. W obu przypadkach różnice między masą poszczególnych nanocząstek nie były istotne statystycznie. Jednym z czynników mogących mieć wpływ na masę nanocząstek otrzymanych w wyniku biosyntezy przy użyciu ekstraktów z badanych makroalg może być zawartość antyoksydantów w tych algach (w szczególności polifenoli, witaminy E oraz pigmentów), które działają jak czynniki redukujące [134], [149]. Wyniki przedstawione w Tabeli 24, dotyczące zawartości polifenoli w poszczególnych ekstraktach algowych, wskazują, iż najwyższą zawartość polifenoli miał ekstrakt z *F. vesiculosus* (223 ± 10 mg KG/L), zaś najniższą z *Enteromorpha* sp. ($68,5 \pm 4,5$ mg KG/L), jednak mimo to porównując masy nanocząstek otrzymanych przy użyciu ekstraktów z tych dwóch alg (przy zastosowaniu tej samej metody biosyntezy) dla pierwszej z tych alg otrzymano mniej nanocząstek. Wpływ na to mogła mieć także obecność innych związków w ekstraktach algowych, takie jak skrobia oraz taniny, które w roztworach wodnych mogą tworzyć mikroemulsje, ułatwiając syntezę nanocząstek [417].

Kolejnym parametrem, którego wpływ na masę otrzymanych nanocząstek zbadano, była masa algi i objętość rozpuszczalnika użyte do produkcji ekstraktu. W każdym przypadku proporcja wynosiła 1 g algi na 20 mL wody destylowanej. Jednak zgodnie z opisem zawartym w Tabeli 15 ekstrakt oznaczony nr 1 był wytworzony z 4 g algi na 80 mL wody, nr 2 z 6 g algi na 120 mL wody, a nr 3 z 8 g algi na 160 mL wody. Wpływ masy algi i objętości rozpuszczalnika użytych do otrzymania ekstraktu na masę nanocząstek biosyntezowanych z użyciem tego ekstraktu porównano na przykładzie nanocząstek nr 11 i 12, które syntezowano przy użyciu tej samej metody, zmieniając tylko ten jeden parametr. Masy obu nanocząstek były zbliżone, masa dla nanocząstek nr 12 (4 g algi na 160 mL wody) była o około 6% większa niż

masa nanocząstek nr 11 (4 g algi na 80 mL wody). Parametr ten nie miał zatem dużego wpływu na wydajność syntezy (nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie).

Trzecim porównywanym parametrem była moc homogenizatora zastosowanego do wytwarzania ekstraktu algowego. Wydajność syntezy przy zmianie tego parametru oceniono na podstawie nanocząstek nr 10 (UP50H) i 11 (UP100H). Masa nanocząstek nr 10 była o niecałe 5% większa, niż masa nanocząstek nr 11. Oznacza to, że parametr ten również nie miał dużego wpływu na masę syntezowanych nanocząstek (brak różnic istotnych statystycznie).

Kolejnym czynnikiem, który może mieć wpływ na masę biosyntezy nanocząstek, był rodzaj rozpuszczalnika użytego podczas ekstrakcji związków aktywnych z alg. W ramach przeprowadzonych badań zastosowano dwa rozpuszczalniki – wodę i etanol. Na przykładzie nanocząstek nr 12 (woda) i 14 (etanol) można zauważyć, że przy zastosowaniu wody jako rozpuszczalnika do produkcji ekstraktu algowego otrzymano o ponad 8% więcej nanocząstek niż przy zastosowaniu etanolu (przy zachowaniu takich samych pozostałych parametrów syntezy). Różnica ta nie jest duża (brak różnic istotnych statystycznie), jednak woda jest lepszym wyborem jako rozpuszczalnik ze względu na toksyczny wpływ etanolu na rośliny [418], co mogłoby stanowić problem przy stosowaniu danych nanocząstek w rolnictwie, na przykład do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin.

Następnym czynnikiem, którego wpływ na masę biosyntezy nanocząstek zbadano była objętość użytego ekstraktu algowego. Porównując masę nanocząstek nr 12 (50 mL ekstraktu) i 21 (100 mL ekstraktu), dla których pozostałe parametry syntezy były takie same, można stwierdzić, że zwiększenie objętości ekstraktu wpłynęło nieznacznie pozytywnie na wydajność syntezy (ponad 3%). Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy tymi wynikami.

Kolejnym badanym parametrem był rodzaj użytej soli – nieorganiczna (siarczan cynku, azotan cynku) lub organiczna (octan cynku). Nanocząstki nr 12, 18 i 19 były wytworzone tą samą metodą, ale przy użyciu różnych soli – odpowiednio octanu, azotanu i siarczanu cynku. W przypadku zastosowania azotanu cynku otrzymano o 33% mniej nanocząstek niż w przypadku zastosowania octanu cynku. Przy użyciu siarczanu cynku otrzymano aż o 40% mniej nanocząstek niż przy użyciu octanu cynku. Jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami. Rodzaj zastosowanej soli jest jednym z głównych czynników wpływających na masę otrzymanych nanocząstek, co potwierdza wcześniejsza analiza literaturowa (Rozdział 2.2.3).

Kolejnym analizowanym parametrem była odważka soli lub stężenie roztworu soli użyte do biosyntezy nanocząstek tlenku cynku. Biosynteza nanocząstek tlenków metali może przebiegać na dwa sposoby. Pierwsza opcja zakładała rozpuszczenie soli w wodzie destylowanej, aby otrzymać roztwór o zadanym stężeniu, a następnie powolne dodawanie ekstraktu algowego do roztworu soli. Druga opcja zakładała rozpuszczenie soli bezpośrednio w ekstrakcie algowym. W obu przypadkach zastosowanie większej odważki soli powodowało otrzymanie większej masy nanocząstek, np. masa nanocząstek nr 22, do wytworzenia których użyto 10 g octanu cynku była o 28% większa, niż masa nanocząstek nr 12, do wytworzenia których użyto o połowę mniej soli. Jednak różnica ta nie była proporcjonalna do różnicy w masie użytej soli. Ponadto nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami.

Podczas wytwarzania nanocząstek stosowane były także różne czasy mieszania oraz czasy inkubacji (czas przechowywania roztworu nanocząstek w stałej temperaturze przed odwirowaniem, nie jest to konieczny etap w biosyntezie nanocząstek). Porównując masę nanocząstek otrzymanych przy użyciu tej samej metody, ale z różnym czasem inkubacji można zauważyć, że w przypadku inkubacji trwającej 2 h (nanocząstki nr 12) otrzymano o 18% więcej nanocząstek niż w przypadku całkowitego pominięcia tego etapu (nanocząstki nr 19) oraz o 8% więcej nanocząstek niż w przypadku inkubacji trwającej 1 h (nanocząstki nr 20). Różnice pomiędzy tymi wynikami nie były istotne statystycznie. Dodatkowo zaobserwowano, że po czasie 2 h roztwór zawierający nanocząstki zmienił kolor z jasnobrązowego na prawie biały. Również nanocząstki otrzymane po odwirowaniu i wysuszeniu miały jaśniejszy kolor w przypadku dłuższego mieszania.

Kolejnym sprawdzanym parametrem była temperatura. Nanocząstki otrzymywane w temperaturze 65 °C (nr 12) miały o 14% większą masę niż nanocząstki otrzymywane tą samą metodą w temperaturze pokojowej (nr 13). Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy tymi wynikami. Według danych literaturowych szybkość redukcji jonów metali wzrasta wraz z temperaturą, co oznacza że zastosowanie wyższej temperatury pozwoliłoby na zastosowanie krótszego czasu mieszania i inkubacji [419].

Jednym z ostatnich zbadanych parametrów był wpływ zastosowania ultradźwięków lub mikrofal, podczas syntezy nanocząstek, na roztwór zawierający ekstrakt algowy i sól (po korekcie pH). Porównując nanocząstki nr 12 (dla których nie zastosowano dodatkowego czynnika), 23 (dla których zastosowano ultradźwięki) i 24 (dla których zastosowano mikrofałe) można zauważyć, że zastosowanie obu czynników wpłynęło negatywnie na wydajność syntezy

i zmniejszyło ilość otrzymanych nanocząstek o 34% dla obu wariantów. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami.

Największy wpływ na wydajność biosyntezy nanocząstek miało pH roztworu (ekstraktu algowego z roztworem danej soli). Porównując nanocząstki biosyntezy przy użyciu tej samej metody, ale dla różnych pH (ustalanych poprzez dodawanie do roztworu NaOH) można zauważyć, że im wyższe pH, tym większa wydajność syntezy (nr 12 – pH 12, nr 14 – pH 10, nr 15 – pH 8 i nr 16 – pH 6). Dla pH z zakresu 8-12 różnice w masie nanocząstek nie były duże (brak różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi masami), natomiast w przypadku zastosowania pH 6 otrzymano ponad 40-krotnie mniej nanocząstek niż przy zastosowaniu pH 12 (zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy porównywanymi masami).

Podsumowując, największy wpływ na masę otrzymanych nanocząstek miało zastosowane pH oraz gatunek makroalgi. Jednak istotnymi parametrami były także temperatura oraz czas inkubacji. Analizując masy nanocząstek biosyntezy z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* (biorąc pod uwagę objętość ekstraktu algowego oraz odważkę soli potrzebne do syntezy danych nanocząstek) za najkorzystniejszą metodę biosyntezy z użyciem soli nieorganicznej uznano metodą opisaną przez Vaishnava i in. (2017) [203] (nanocząstki nr 3), natomiast z użyciem soli organicznej metodą opisaną przez Hassana i in. (2015) [206] (nanocząstki nr 12). Obie te metody zostały zastosowane także do biosyntezy nanocząstek tlenku cynku z użyciem ekstraktów z innych makroalg – *Enteromorpha* sp. i *Sargassum* sp. dla metody z wykorzystaniem soli nieorganicznej (odpowiednio nanocząstki nr 4 i 5) oraz *F. vesiculosus*, *Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp. i *Porphyra* sp. z wykorzystaniem soli organicznej (odpowiednio nanocząstki nr 25, 26, 27 i 28).

Tabela 27. Masa nanocząstek tlenku miedzi otrzymana w procesie biosyntezy z użyciem ekstraktów algowych

Nanocząstki CuO		
Nr	Skrócony opis (alga/ nr ekstraktu*/ rozpuszczalnik**/ rodzaj homogenizatora/ objętość ekstraktu/ sól***/ odważka lub stężenie soli/ objętość roztworu/ czas mieszania + czas inkubacji/ temperatura/ pH	Masa nanocząstek [g]
29	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 25 mL/ S/ C=1 mM/ V=100 mL/ t=24 h/ T – pokojowa/ pH=10,0	brak nanocząstek
30	<i>C. glomerata</i> / 1/ E/ UP50H/ 25 mL/ S/ C=1 mM/ V=100 mL/ t=24 h/ T – pokojowa/ pH=10,0	0,0106±0,0007
31	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 60 mL/ S/ m=1,2 g/ V=100 mL/ t=24 h/ T=80 °C/ pH=7,2	1,09±0,01
32	<i>C. glomerata</i> / 1/ E/ UP50H/ 60 mL/ S/ m=1,2 g/ V=100 mL/ t=24 h/ T=80 °C/ pH=11,9	0,153±0,001
33	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 15 mL/ S/ C=100 mM/ V=100 mL/ t=2+12 h/ T=60 °C/ pH=12,0	0,551±0,013
34	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 60 mL/ S/ m=6 g/ V=0/ t=0,5 h/ T=80 °C/ pH=4,5	0,788±0,001
35	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 50 mL/ O/ m=2,25 g/ V=0/ t=2 h/ T=65 °C/ pH=12,5	1,32±0,01
36	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 10 mL/ O/ m=3 g/ V=0/ t=4 h/ T – pokojowa/ pH=12,0	1,33±0,01
37	<i>C. glomerata</i> / 1/ W/ UP50H/ 60 mL/ O/ m=0,42 g/ V=75 mL/ t=10 min/ T – pokojowa/ pH=12,0	0,229±0,013
38	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,71±0,04
39	<i>C. glomerata</i> / 3/ E/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,13±0,45
40	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=10,0	2,68±0,07
41	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=8,0	2,69±0,07
42	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=6,0	0,161±0,022
43	<i>C. glomerata</i> / 3/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+0,5 h (ultradźwięki)/ T=65 °C/ pH=12,0	2,13±0,45
44	<i>F. vesiculosus</i> / 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,89±0,38
45	<i>Enteromorpha</i> sp./ 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,63±0,01
46	<i>Sargassum</i> sp./ 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,87±0,27
47	<i>Porphyra</i> sp./ 2/ W/ UP100H/ 50 mL/ O/ m=4 g/ V=0/ t=20 min+2 h/ T=65 °C/ pH=12,0	2,51±0,30

* na podstawie Tabela 15

** rozpuszczalnik: E – etanol; W – woda destylowana

*** sól: A – azotan cynku; O – octan cynku; S – siarczan cynku

W przypadku nanocząstek tlenku miedzi oceniono wpływ na masę nanocząstek tylko tych parametrów, dla których uzyskano największą masę nanocząstek tlenku cynku, czyli: gatunek makroalgi, rodzaj rozpuszczalnika wykorzystanego do wytworzenia ekstraktu algowego, zastosowanie ultradźwięków w czasie biosyntezy nanocząstek oraz korekta pH roztworu zawierającego ekstrakt oraz daną sól (Tabela 27).

Wpływ rodzaju makroalgi na masę otrzymanych nanocząstek porównano na przykładzie nanocząstek nr 38, 44, 45, 46 i 47 biosyntezy przy użyciu ekstraktów otrzymanych z alg *C. glomerata*, *F. vesiculosus*, *Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp. i *Porphyra* sp. Najwięcej nanocząstek otrzymano w przypadku biosyntezy z użyciem ekstraktu z *F. vesiculosus* (2,89±0,38 g), zaś najmniej z użyciem ekstraktu z *Porphyra* sp. (2,51±0,30 g). Różnice w otrzymanej masie nanocząstek tlenku miedzi przy użyciu ekstraktów z różnych makroalg były niższe niż w przypadku nanocząstek tlenku cynku – nie przekraczały 13%. Największą masę nanocząstek uzyskano przy zastosowaniu ekstraktów z obu brunatnic – *F. vesiculosus* i *Sargassum* sp. Były to ekstrakty, dla których otrzymano także najwyższe wartości aktywności

przeciwutleniającej spośród wszystkich badanych ekstraktów (Tabela 25), co może wpływać na ilość otrzymywanych nanocząstek [149].

Do wytworzenia ekstraktów algowych użytych do biosyntezy nanocząstek zastosowano dwa rozpuszczalniki – wodę destylowaną oraz alkohol etylowy. W przypadku nanocząstek nr 29 i 30, zastosowanie etanolu jako rozpuszczalnika umożliwiło otrzymanie nanocząstek, podczas gdy przy zastosowaniu wody destylowanej biosynteza nanocząstek nie zaszła, mimo braku zmiany pozostałych parametrów syntezy. Z kolei w przypadku nanocząstek nr 38 i 39, większą masę (o 21%) otrzymano dla nanocząstek biosyntezy z użyciem ekstraktu wodnego, a dla nanocząstek nr 31 i 32 z zastosowaniem etanolu (ponad 7-krotnie). W przypadku nanocząstek nr 31 i 32 zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy badanymi grupami. Biorąc pod uwagę zarówno te wyniki, jak i wyniki otrzymane dla nanocząstek tlenku cynku, można przypuszczać, iż etanol ułatwia zajście biosyntezy nanocząstek w przypadku niskiego stężenia prekursora metalu (1 mM), natomiast zmniejsza masę otrzymanych nanocząstek w przypadku wysokiego stężenia zastosowanego prekursora metalu.

W przypadku nanocząstek tlenku miedzi, podobnie jak w przypadku nanocząstek tlenku cynku, zastosowanie ultradźwięków w trakcie biosyntezy zmniejszyło masę otrzymanych nanocząstek. Widać to na przykładzie nanocząstek nr 38 i 43 – nanocząstki biosyntezy bez użycia ultradźwięków miały o 21% wyższą masę niż nanocząstki biosyntezy z zastosowaniem tego czynnika. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy tymi dwoma grupami.

Parametrem mającym największy wpływ na masę otrzymywanych w wyniku biosyntezy nanocząstek było pH roztworu zawierającego ekstrakt algowy i daną sól, co można zaobserwować porównując nanocząstki nr 38, 40, 41 i 42. Podobnie jak w przypadku nanocząstek tlenku cynku nie zaobserwowano dużych różnic w wydajności syntezy dla pH z zakresu 8-12, zaś dla pH 6 otrzymano znacznie niższą (17-krotnie) masę nanocząstek. Zaobserwowano różnice istotne statystycznie w pomiędzy masą nanocząstek biosyntezy przy pH 6, a masą nanocząstek biosyntezy przy pozostałych pH. Nanocząstki otrzymane przy pH 6, 8 i 10 miały niebieski kolor i były lepkie, w porównaniu do nanocząstek otrzymanych przy pH 12, które były czarne i sypkie.

Podsumowując, największy wpływ na masę otrzymanych nanocząstek miało zastosowane pH oraz rodzaj rozpuszczalnika wykorzystanego do produkcji ekstraktu algowego. Analizując masy nanocząstek biosyntezy z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* (biorąc pod uwagę

objętość ekstraktu algowego oraz odważkę soli potrzebne do syntezy danych nanocząstek) za najkorzystniejszą metodę biosyntezy z użyciem soli nieorganicznej uznano metodą opisaną przez Salema i in. (2015) [155] (nanocząstki nr 31), natomiast z użyciem soli organicznej metodą opisaną przez Hassana i in. (2015) [206] (nanocząstki nr 38). Drugą z tych metod zastosowano do biosyntezy nanocząstek tlenku miedzi z użyciem ekstraktów z innych makroalg – *F. vesiculosus*, *Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp. i *Porphyra* sp. (odpowiednio nanocząstki nr 44, 45, 46 i 47).

5.3.2. Widmo UV-Vis nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

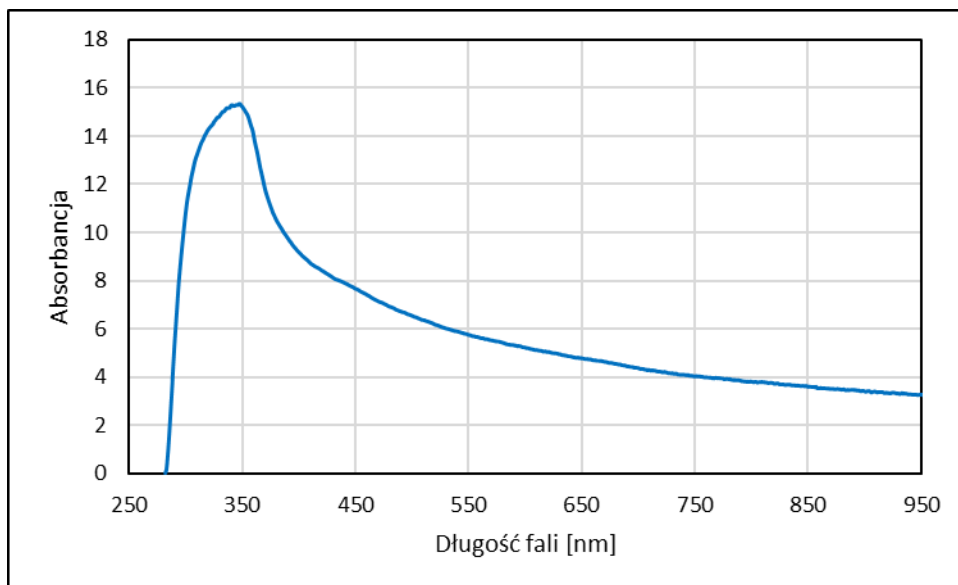
Obecność nanocząstek ZnO w roztworze otrzymanym po biosyntezie nanocząstek (przed ich odwirowaniem i wysuszeniem) potwierdza charakterystyczny pik w okolicach 350 nm (np. pik dla 340 nm otrzymał Salem i in. [420], dla 346 nm Mishra i Sharma [219], a dla 351 nm Vaishnav i in. [203]). Natomiast obecność nanocząstek CuO w roztworze otrzymanym po biosyntezie nanocząstek potwierdza charakterystyczny pik w okolicach 300 nm (np. pik między 280 a 300 nm otrzymał Altikatoglu i in. [248], dla 302 nm Aziz i Jassim [189], a między 300 a 310 nm Gandhi i in. [174]). Długości fali, dla których zaobserwowano pik dla poszczególnych nanocząstek przedstawiono w Tabeli 28. Analizę przeprowadzono dla nanocząstek, które były brane pod uwagę do zastosowania w kolejnym etapie pracy, obejmującym stymulację kiełkowania nasion i wzrostu roślin (ze względu na prostą metodę biosyntezy, nie zużywającą dużej ilości ekstraktu oraz wysoką masę otrzymywanych nanocząstek (Rozdział 5.3.1)).

Tabela 28. Długości fali, dla której otrzymano pik świadczący o powstaniu nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi w badanych próbkach

Nanocząstki tlenku cynku		Nanocząstki tlenku miedzi	
Nr nanocząstek*	Długość fali [nm]	Nr nanocząstek*	Długość fali [nm]
3	348	31	306
4	354	33	292
5	366	44	310
12	358		
14	364		
23	346		
25	341		

* według Tabeli 16

Przykładowe widmo UV-Vis dla nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* (nr 3 według Tabeli 16) przedstawiono na Rysunku 34.



Rysunek 34. Przykładowe widmo UV-Vis dla nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *Cladophora glomerata*

5.3.3. Analiza wielopierwiastkowa nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Wyniki analizy wielopierwiastkowej, wykonanej techniką ICP-OES, przeprowadzonej dla wybranych nanocząstek tlenku cynku przedstawiono w Tabeli 29, a tlenku miedzi w Tabeli 30. Analizę przeprowadzono dla tych samych nanocząstek, które analizowano w Rozdziale 5.3.2 oraz dla nanocząstek nr 26-28 i 45-47 (według Tabeli 16), dla których widma UV-Vis zostały scharakteryzowane we wcześniejszych badaniach [385].

Tabela 29. Analiza wielopierwiastkowa wybranych nanocząstek tlenku cynku – zawartość pierwiastków w nanocząstkach [mg/kg s.m.]

Pierwiastek (długość fali [nm])	Nr nanocząstek według Tabeli 16									
	3	4	5	12	14	23	25	26	27	28
Al (396,152)	114±1	195±1	329±1	209±1	175±1	53,0±1,5	72,2±0,4	98,9±0,4	106±1	64,7±0,2
As (188,980)	<LOD	<LOD	20,1±0,4	<LOD	<LOD	<LOD	10,4±0,1	<LOD	34,1±0,4	<LOD
B (249,772)	18,3±0,1	80,5±35,0	72,5±0,2	116±1	297±1	0,691±0,029	31,8±0,1	78,7±1,1	30,8±0,2	26,0±0,1
Ba (455,503)	2,02±0,06	0,633±0,320	1,57±0,02	4,28±0,03	1,29±0,01	0,872±0,028	0,726±0,015	0,635±0,005	0,586±0,012	0,507±0,006
Ca (396,847)	2263±20	462±31	890±21	3260±3	139±1	910±12	1311±5	661±1	762±1	520±1
Cd (214,439)	1,10±0,01	0,774±0,024	0,990±0,010	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cr (267,716)	59,4±1,2	3,03±0,55	7,27±0,26	<LOD	1,21±0,01	1,53±0,06	2,34±0,01	9,77±0,13	5,81±0,08	4,45±0,25
Cu (327,395)	13,5±0,4	5,77±0,38	3,55±0,08	5,23±0,19	<LOD	36,8±2,1	34,7±0,2	27,5±0,1	61,7±0,3	46,2±0,2
Fe (238,204)	297±7	58,4±1,8	75,9±1,0	109±1	6,71±0,06	97,5±0,2	80,2±0,6	66,6±0,1	67,5±0,4	51,3±0,2
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	522±5	1221±43	3396±31	3518±5	771±6	739,0±2,0	5214±9	3758±20	8821±42	2546±13
Mg (285,213)	578±3	1282±1	11557±56	606±2	60,9±0,2	390±1	3056±6	5854±8	10978±32	1280±21
Mn (257,610)	25,4±0,2	12,4±0,1	51,3±0,4	27,9±0,2	1,25±0,01	30,1±0,2	80,7±0,4	11,9±0,1	45,9±0,1	19,9±0,1
Na (589,592)	13580±39	29789±674	40088±179	26027±134	30896±1773	6264±282	27619±351	34606±263	26201±31	25441±38
Ni (231,604)	23,2±0,5	<LOD	1,71±0,1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	30,0±0,5	6,09±0,4	<LOD
P (213,618)	215±3	846±12	2974±12	396±1	20,0±0,5	425±6	5125±14	1244±31	2126±16	2433±21
Pb (220,353)	18,7±0,3	11,5±0,2	13,7±0,1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
S (181,972)	10154±117	74544±5897	29650±40	2304±15	83,6±3,0	1406±22	2500±25	6405±102	2346±61	4385±83
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	699621 ±9894	466050 ±1567	578013 ±6888	465653 ±2767	477480 ±12239	644764 ±4952	438117 ±1110	362644 ±2829	389621 ±5455	386055 ±1081

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

Tabela 30. Analiza wielopierwiastkowa wybranych nanocząstek tlenku miedzi – zawartość pierwiastków w nanocząstkach [mg/kg s.m.]

Pierwiastek (długość fali [nm])	Nr nanocząstek według Tabeli 16					
	31	33	44	45	46	47
Al (396,152)	932±7	358±1	106±1	108±1	135±1	136±1
As (188,980)	<LOD	<LOD	13,3±0,8	<LOD	27,1±0,4	<LOD
B (249,772)	66,3±0,2	9,53±0,15	77,4±0,7	23,0±0,2	23,2±0,2	20,2±0,3
Ba (455,503)	3,20±0,04	2,36±0,01	0,786±0,015	1,36±0,02	0,796±0,040	1,25±0,03
Ca (396,847)	3355±6	1786±2	1464±1	1089±1	1112±3	860±1
Cd (214,439)	0,747±0,013	<LOD	0,955±0,007	1,35±0,07	1,37±0,01	1,78±0,05
Cr (267,716)	5,95±0,12	8,45±0,14	4,82±0,16	4,45±0,05	4,24±0,05	7,07±0,10
Cu (327,395)	361617±4339	643750±3026	368497±7001	431065±1379	421924±675	447840±195
Fe (238,204)	162±1	80,6±0,3	82,1±0,4	89,5±0,2	82,4±0,1	90,5±0,6
Hg (253,652)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
K (766,491)	6900±16	468±9	4782±19	1920±12	6596±40	1774±20
Mg (285,213)	2205±2	460±1	2935±3	7777±18	14167±52	1712±63
Mn (257,610)	80,7±0,3	21,6±0,1	83,1±0,5	18,1±0,1	62,7±0,2	29,2±0,1
Na (589,592)	21456±262	6051±77	25564±87	16351±31	17061±43	15589±56
Ni (231,604)	18,5±0,7	<LOD	16,3±0,5	20,9±0,2	21,9±0,3	10,4±0,2
P (213,618)	5381±32	7362±35	5286±52	<LOD	<LOD	<LOD
Pb (220,353)	18,5±0,7	46,9±1,9	<LOD	9,73±0,55	7,60±0,21	10,3±0,8
S (181,972)	22602±493	14492±240	3150±134	6036±181	2487±37	6144±138
Se (196,026)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Zn (213,857)	188±1	508±5	117±1	151±1	128±1	182±1

<LOD (limit of detection) – poniżej granicy wykrywalności (limit detekcji)

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 29 można zauważyć, iż zgodnie z oczekiwaniami, wszystkie badane nanocząstki miały wysoką zawartość cynku (od 362644 do 699621 mg/kg s.m.). Znajdowały się w nich także duże ilości sodu (od 6264 do 40088 mg/kg s.m.), pochodzące z roztworu NaOH używanego do korekty pH podczas syntezy. W przypadku nanocząstek biosyntezyzowanych z użyciem siarczynu cynku jako prekursora metalu (nanocząstki nr 3-5) w składzie znajdowała się także duża ilość siarki (od 10154 do 74544 mg/kg s.m.). Dodatkowo, syntezowane nanocząstki zawierały duże ilości wapnia (od 139 do 2263 mg/kg s.m.), potasu (od 522 do 8821 mg/kg s.m.), magnezu (od 60,9 do 11557 mg/kg s.m.) i fosforu (od 20,0 do 5125 mg/kg s.m.). Pierwiastki te pochodziły zapewne z ekstraktów algowych, które zostały użyte do ich biosyntezy.

Porównując nanocząstki nr 3-5, które zostały syntezowane przy użyciu tej samej metody, ale z wykorzystaniem ekstraktów z różnych makroalg, można zauważyć, że najwięcej cynku znajdowało się w nanocząstkach wytworzonych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* (nr 3), zaś najmniej w nanocząstkach wytworzonych z użyciem ekstraktu z *Enteromorpha* sp. (nr 4). Jednocześnie w nanocząstkach nr 3 znajdowało się najmniej sodu. Może to wynikać z faktu, iż ekstrakt z *C. glomerata* miał najwyższe pH ze wszystkich porównywanych, więc podczas syntezy tych nanocząstek użyto mniej NaOH, aby doprowadzić pH do 12.

Porównując nanocząstki nr 12 i 14 syntezowane przy użyciu tej samej metody, ale z zastosowaniem różnych rozpuszczalników do produkcji ekstraktu (odpowiednio wody i etanolu) można zauważyć, iż oba rodzaje nanocząstek miały podobną zawartość cynku. Nanocząstki otrzymane przy użyciu etanolu miały niższą zawartość wielu pierwiastków, m.in. wapnia, żelaza, potasu, magnezu, fosforu i siarki, niż nanocząstki otrzymane przy użyciu wody. Może to oznaczać, że podczas ekstrakcji z użyciem etanolu, wyekstrahowano mniejsze ilości tych makro- i mikroelementów z makroalgi, a przez to mniejsza ilość tych pierwiastków znalazła się w nanocząstkach syntezowanych z użyciem tego ekstraktu.

Nanocząstki tlenku cynku syntezowane z użyciem ultradźwięków (nr 23) miały zdecydowanie wyższą (o 28%) zawartość cynku oraz niższą zawartość większości pozostałych pierwiastków niż nanocząstki wytworzone tą samą metodą, ale bez użycia ultradźwięków (nr 12). Może to oznaczać, iż pomimo otrzymania niższej masy nanocząstek nr 23 niż nanocząstek nr 12 (Tabela 26) wykorzystując ultradźwięki otrzymano podobną ilość nanocząstek tlenku cynku, ale bez zanieczyszczeń w postaci innych pierwiastków.

Z kolei analizując wyniki przedstawione w Tabeli 30 można zauważyć, iż zgodnie z oczekiwaniami, wszystkie badane nanocząstki miały wysoką zawartość miedzi (od 361617 do

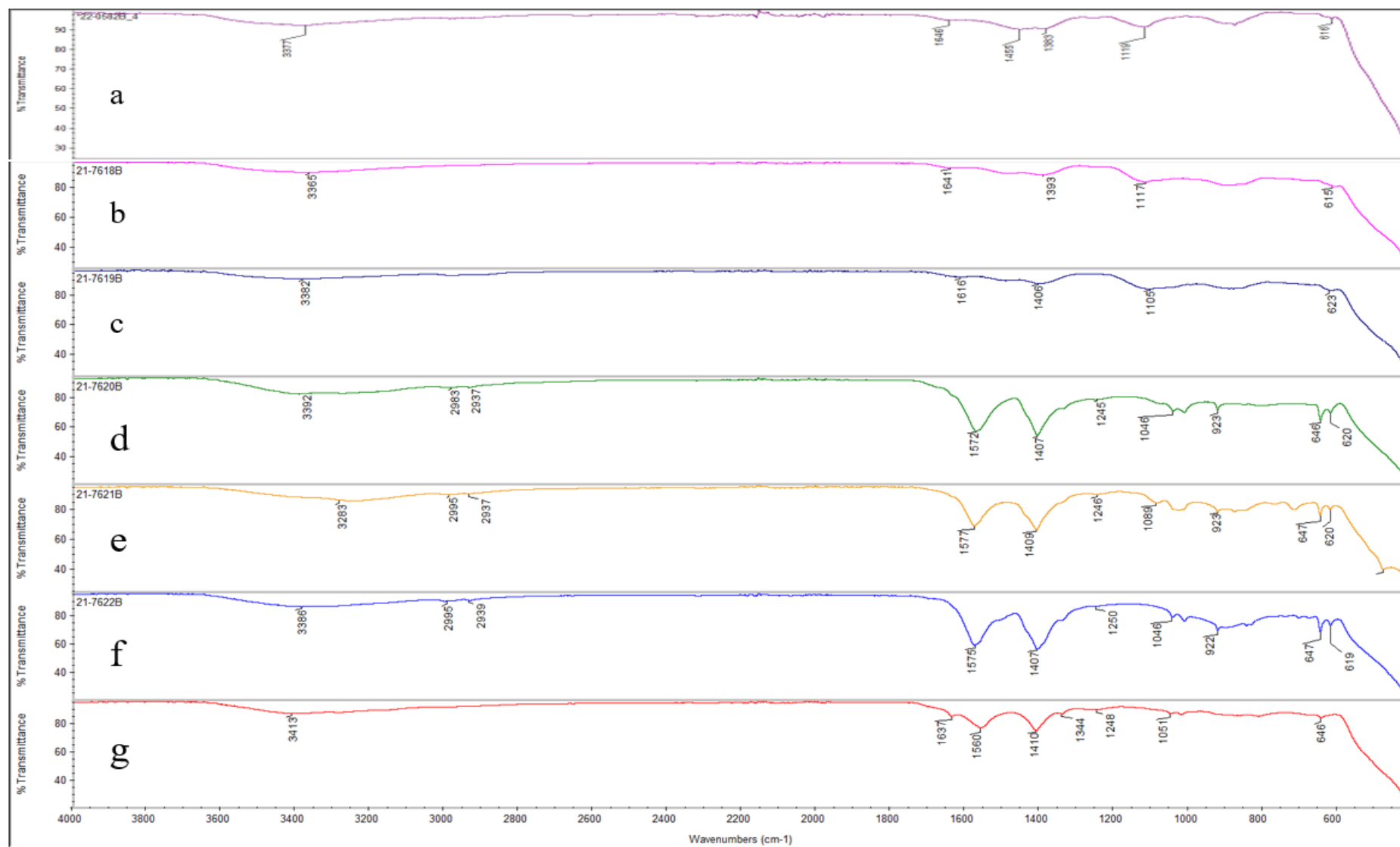
643750 mg/kg s.m.). Znajdowały się w nich także duże ilości sodu (od 6051 do 25564 mg/kg s.m.), pochodzące z roztworu NaOH używanego do korekty pH podczas syntezy. Dodatkowo nanocząstki syntezowane z użyciem siarczynu miedzi jako prekursora jonów metalu (nr 31 i 33) miały w składzie dużo siarki (odpowiednio 22602 i 14992 mg/kg s.m.). Podobnie jak w przypadku nanocząstek tlenku cynku, nanocząstki tlenku miedzi zawierały duże ilości wapnia (od 860 do 3355 mg/kg s.m.), potasu (od 468 do 6900 mg/kg s.m.) i magnezu (od 460 do 14167 mg/kg s.m.). Pierwiastki te pochodziły zapewne z ekstraktów algowych, które zostały użyte do biosyntezy. Duże ilości fosforu (od 5286 do 7362 mg/kg s.m.) występowały jedynie w nanocząstkach syntezowanych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* (nr 31 i 33) i *F. vesiculosus* (nr 44).

Nanocząstki nr 31 i 33 były wytworzone przy użyciu dwóch różnych metod wykorzystujących siarczyny miedzi jako prekursor jonów metalu. Pomimo iż metoda nr 31 pozwoliła na uzyskanie prawie 2-krotnie większej masy nanocząstek (Tabela 27), z analizy wielopierwiastkowej wynika, że nanocząstki nr 33 zawierały znacznie więcej miedzi (aż 1,8 razy więcej), a mniej pozostałych pierwiastków, jak sód czy siarka.

Spośród nanocząstek nr 43-47 biosyntezowanych przy użyciu tej samej metody, ale z użyciem różnych ekstraktów algowych najniższą zawartość miedzi miały nanocząstki nr 43 (syntezowane z użyciem ekstraktu z *F. vesiculosus*) – 368497 mg/kg s.m.. Zawierały one także najwięcej sodu – 25564 mg/kg s.m. Nanocząstki syntezowane z użyciem pozostałych ekstraktów (z alg *Enteromorpha* sp., *Sargassum* sp. i *Porphyra* sp.) miały podobne zawartości miedzi – od 421924 do 447840 mg/kg s.m. Może to wynikać z faktu, iż ekstrakt z *F. vesiculosus* miał najniższe pH ze wszystkich porównywanych, więc podczas syntezy tych nanocząstek użyto więcej NaOH, aby doprowadzić pH do 12.

5.3.4. Spektroskopia fourierowska w podczerwieni nanocząstek tlenku cynku

Na wykresach (Rysunek 35) przedstawiono zależność przepuszczalności (transmitancji [%]) od liczby falowej [cm^{-1}] dla otrzymanych nanocząstek tlenku cynku (nr 3, 4, 5, 12, 14, 23 i 25 według Tabela 16). Analizę przeprowadzono dla tych samych nanocząstek tlenku cynku, które analizowano w Rozdziale 5.3.2.

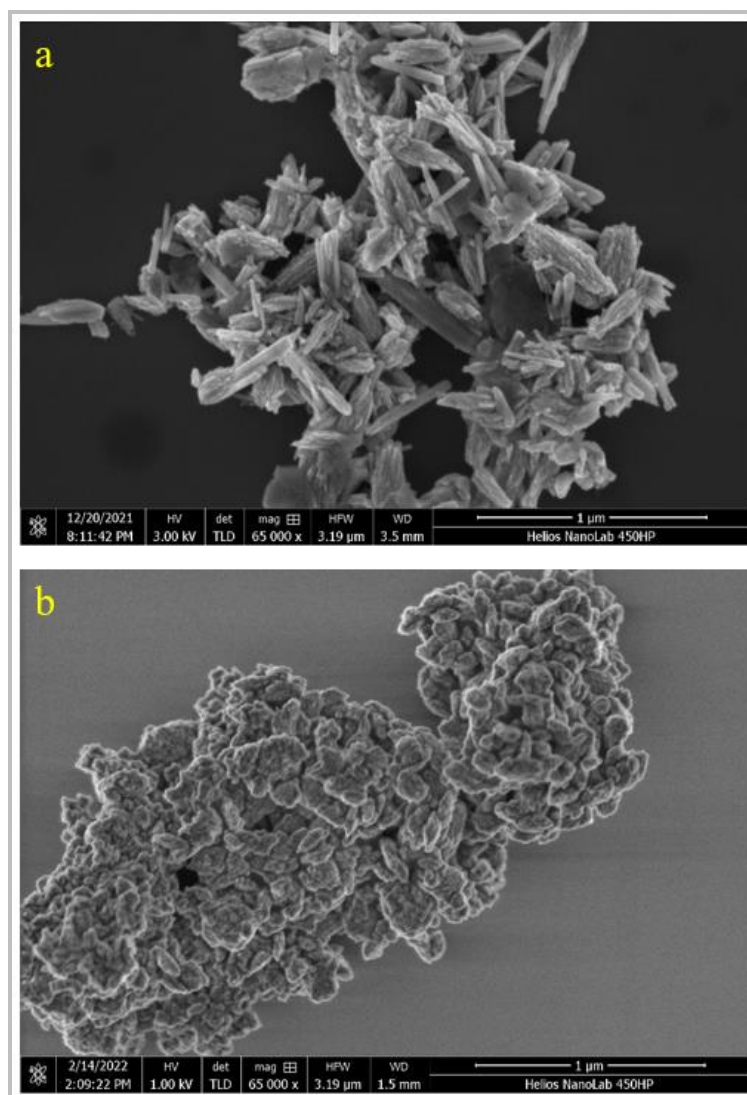


Rysunek 35. Widma FTIR nanocząstek tlenku cynku: (a) nr 3; (b) nr 4; (c) nr 5; (d) nr 25; (e) nr 12; (f) nr 14; (g) nr 23

Na wszystkich uzyskanych widmach FTIR (Rysunek 35a-g) zaobserwowano szerokie pasmo od drgań rozciągających grup -OH [199], [421]–[423]. Znajduje się ono przy długości fali: 3377 cm^{-1} dla nanocząstek nr 3, 3365 cm^{-1} dla nr 4, 3382 cm^{-1} dla próbki nr 5, 3392 cm^{-1} dla nr 25, 3283 cm^{-1} dla nr 12, 3386 cm^{-1} dla nr 14 oraz 3413 cm^{-1} dla nr 23. Na widmach trzech próbek, nr 12 (Rysunek 35e), 14 (Rysunek 35f) i 25 (Rysunek 35d) występują dwa pasma przy długościach fali odpowiednio, 2995 i 2937 cm^{-1} , 2995 i 2939 cm^{-1} oraz 2983 i 2937 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających wiązań C-H. Dla tych samych próbek można również zaobserwować pasma odpowiednio 1572 i 1407 cm^{-1} , 1577 i 1409 cm^{-1} oraz 1575 i 1407 cm^{-1} mogące pochodzić od drgań rozciągających wiązań C-C w ugrupowaniu aromatycznym [424], które widoczne są również na widmie próbki nr 23 (1560 i 1410 cm^{-1}) (Rysunek 35g). Kolejne pasmo występujące w próbkach nr 12 (1246 cm^{-1}), 14 (1250 cm^{-1}), 23 (1248 cm^{-1}) i 25 (1245 cm^{-1}) może pochodzić od grup siarczanowych [199], natomiast pasma odpowiednio 1089 , 1046 , 1051 i 1046 cm^{-1} może pochodzić od drgań rozciągających wiązań C-N lub C-O [422], [423]. W przypadku widm próbek 3 (Rysunek 35a), 4 (Rysunek 35b), 5 (Rysunek 35c) i 23 (Rysunek 35g) pasma występujące przy długościach fali odpowiednio 1383 i 1119 , 1393 i 1117 , 1406 i 1105 oraz 1344 cm^{-1} mogą pochodzić od drgań zginających w ugrupowaniu C-O-H [421]. We wszystkich przeanalizowanych widmach w obszarze poniżej 1000 cm^{-1} można zaobserwować pasma pochodzące od tlenków metali, w tym pasma odpowiednio 616 (nr 3), 615 (nr 4), 623 (nr 5), 647 i 620 (nr 12), 647 i 619 (nr 14), 646 (nr 23) oraz 646 i 620 cm^{-1} (nr 25) a także 477 cm^{-1} w przypadku próbki nr 12 mogą pochodzić od drgań rozciągających wiązań Zn-O [199], [421]–[424]. Występowanie wiązań Zn-O widać również na widmach próbek nr 3, 4, 5 oraz 23, na co mogą wskazywać odpowiednio pasma 1646 , 1641 , 1616 oraz 1637 cm^{-1} [424].

5.3.5. Skaningowa mikroskopia elektronowa nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Na Rysunku 36 przedstawiono przykładowe zdjęcie nanocząstek tlenku cynku (dla nanocząstek nr 12 według Tabeli 16) i nanocząstek tlenku miedzi (dla nanocząstek nr 33 według Tabeli 16) wykonane mikroskopem SEM/FIB. Powiększenie wynosiło 65000.

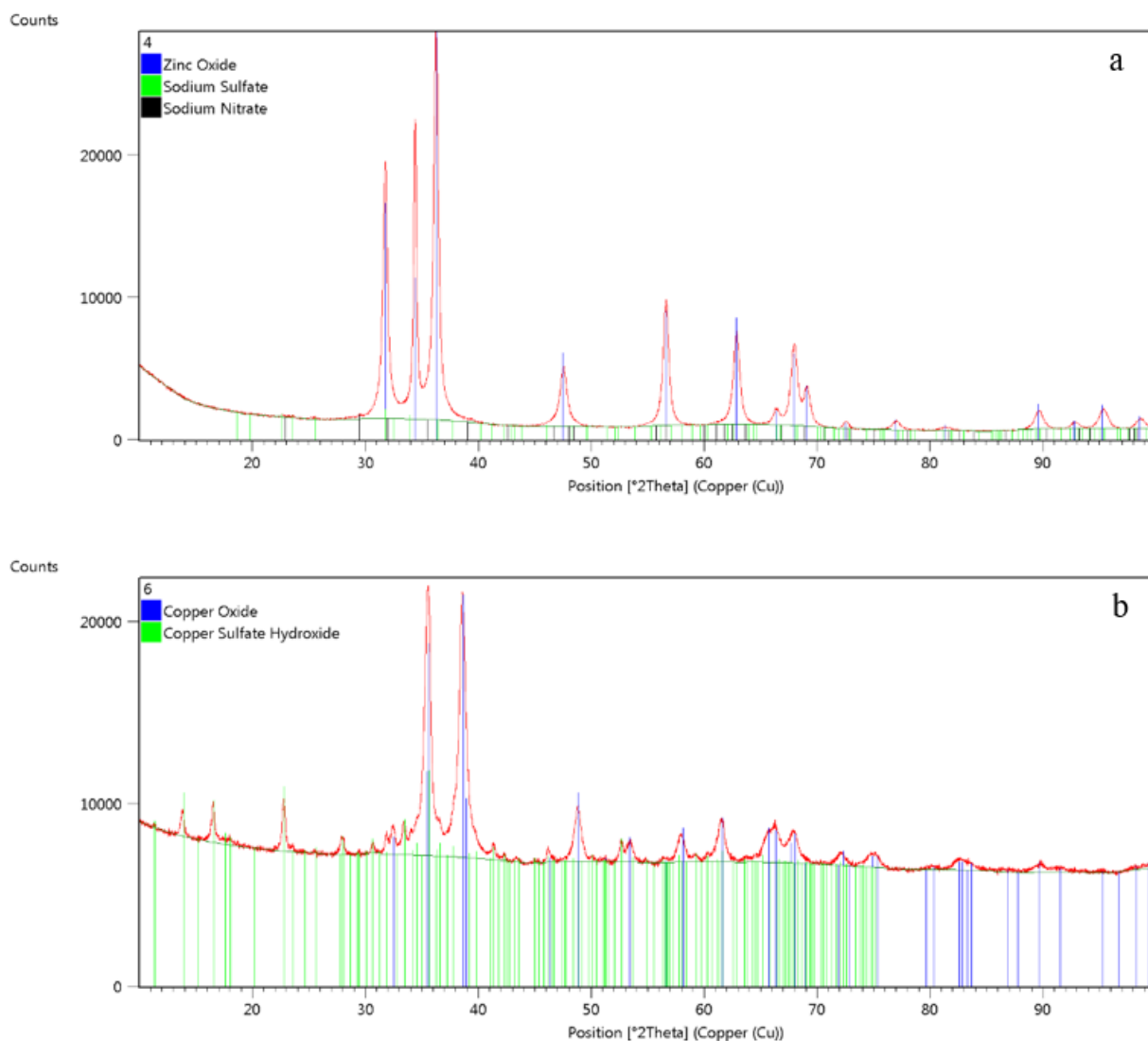


Rysunek 36. Zdjęcia SEM nanocząstek tlenku cynku: (a) nr 12; (b) nr 14; (c) nr 23; (d) nr 25 i nanocząstek tlenku miedzi: (e) nr 33

Badane próbki różniły się między sobą kształtem oraz wielkością charakterystycznych strukturalnie elementów (skupisk). W próbce nr 12 (Rysunek 36a) zaobserwowano głównie pałeczki, natomiast próbka nr 33 (Rysunek 36b) zawierała cząstki połączone w duże skupiska. Podobnie jak w wynikach badań przedstawionych przez Fakhari i in. (2019) [338], w badanych próbkach powstały sferyczne nanocząstki, które rosły i gromadziły się, tworząc aglomeraty przypominające kształtem płatki śniegu lub kwiaty. Według Elumalai i Velmurugana (2015) [425] prawdopodobną przyczyną agregacji jest wysoka energia powierzchniowa nanocząstek ZnO, która zwykle występuje, gdy synteza prowadzona jest w środowisku wodnym. Zagęszczanie nanocząstek skutkuje wtedy wąskimi przestrzeniami między cząstkami. W celu potwierdzenia obecności tlenku cynku i tlenku miedzi w badanych próbkach wykonano także analizę składu pierwiastkowego (EDS), która potwierdziła obecność ZnO oraz CuO w biosyntezyowanych nanocząstkach.

5.3.6. Dyfraktometria rentgenowska nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Na dyfraktogramach (Rysunek 37) przedstawiono przykładowe wyniki analizy XRD – zależność kąta padania od intensywności sygnału (j.u.) dla otrzymanych nanocząstek tlenku cynku (nr 3 według Tabela 16) i tlenku miedzi (nr 33 według Tabela 16). Nanocząstki te były wytworzone przy użyciu tej samej metody, z zastosowaniem odpowiednio siarczany cynku i siarczany miedzi jako prekursorów jonów metalu.



Rysunek 37. Dyfraktogramy (a) nanocząstek tlenku cynku nr 3; (b) nanocząstek tlenku miedzi nr 33

Analiza XRD umożliwiła zidentyfikowanie faz krystalicznych w badanych próbkach na podstawie biblioteki związków krystalicznych. We wszystkich próbkach mających zawierać nanocząstki tlenku cynku (nr 3, 4, 5, 12, 14, 23 i 25) występowały fazy tlenku cynku. Dodatkowo w próbkach nr 3, 4, 5 występował siarczan sodu (były to jedyne nanocząstki wytwarzane przy użyciu siarczany cynku, a nie octanu cynku jako prekursora jonów metalu). W próbce nr 3 występował także azotan sodu. W próbkach syntezowanych z zastosowaniem

octanu cynku znajdowała się faza octanu cynku – w próbkach nr 12, 14 i 25 w postaci bezwodnej, a w próbce nr 23 jako hydrat. Różnice te mogą wynikać z czasu suszenia próbek, przy dłuższym czasie suszenia cząsteczki wody mogły odłączyć się od struktury krystalicznej octanu sodu. W próbkach nr 12 i 25, oprócz tlenku cynku i octanu sodu, znajdowały się także fazy wodorotlenku cynku, co świadczy o niecałkowitej redukcji metali do nanocząstek tlenku cynku. Oprócz wymienionych faz, w próbkach nr 4 i 14 prawdopodobnie występowała także faza azotku cynku, a w próbce nr 12 faza sodu, aczkolwiek dopasowanie refleksów było dość małe i nie można jednoznacznie stwierdzić obecności tych faz.

W przypadku próbek mających zawierać nanocząstki tlenku miedzi, jedynie w próbce nr 33 występowała faza tlenku miedzi. Oprócz tego, w próbce tej stwierdzono obecność wodorotlenku siarczanu miedzi ($\text{Cu}_4(\text{SO}_4)(\text{OH})_6$). W próbce nr 31 występowała faza siarczanu sodu oraz prawdopodobnie faza azotanu sodu i dodatkowo szerokie refleksy pochodzące od fazy amorficznej lub bardzo drobnokrystalicznej, które (biorąc pod uwagę wyniki składu pierwiastkowego, wykonanego metodą EDS, opisane w Rozdziale 5.3.5) mogą być fazą z miedzią. Dopasowanie refleksów dla dwóch ostatnich faz było dość małe, więc nie można jednoznacznie stwierdzić ich obecności. Z kolei w próbce nr 44 występowały fazy wodorotlenku miedzi i chlorku amonu. Niewykrycie w próbkach nr 31 i 44 charakterystycznych refleksów dla nanocząstek tlenku miedzi może świadczyć albo o niskim stężeniu tych nanocząstek, albo o całkowitym ich braku.

5.3.7. Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Wyniki wstępnych badań dotyczących właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych wybranych nanocząstek przedstawiono w Tabeli 32. Do badań zastosowano roztwory nanocząstek o stężeniach 1 mg/mL. Badania polegały na wizualnej ocenie zahamowania wzrostu bakterii/grzybów w miejscu dodania roztworu nanocząstek na płytkę, na której znajdował się dany drobnoustrój.

Tabela 31. Wyniki wstępnych badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi

Nazwa szczepu	Nr nanocząstek*					
	3	33	25	44	28	47
<i>Escherichia coli</i>	+/-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	+++	-	+++	-	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+/-	-	-	+/-	+/-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+++	-	+/-	-	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	+	-	-	-	+/-	-
<i>Enterococcus hirae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+/-	-	-	-	+/-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharopolyspora hirsuta</i> (podłoże 79)	+/-	+	+	-	+	+/-
<i>Saccharopolyspora hirsuta</i> (podłoże agarowe)	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	+/-	+/-

* według Tabeli 16

+ nanocząstki wykazywały właściwości przeciwbakteryjne/przeciwgrzybiczne względem danego szczepu/gatunku

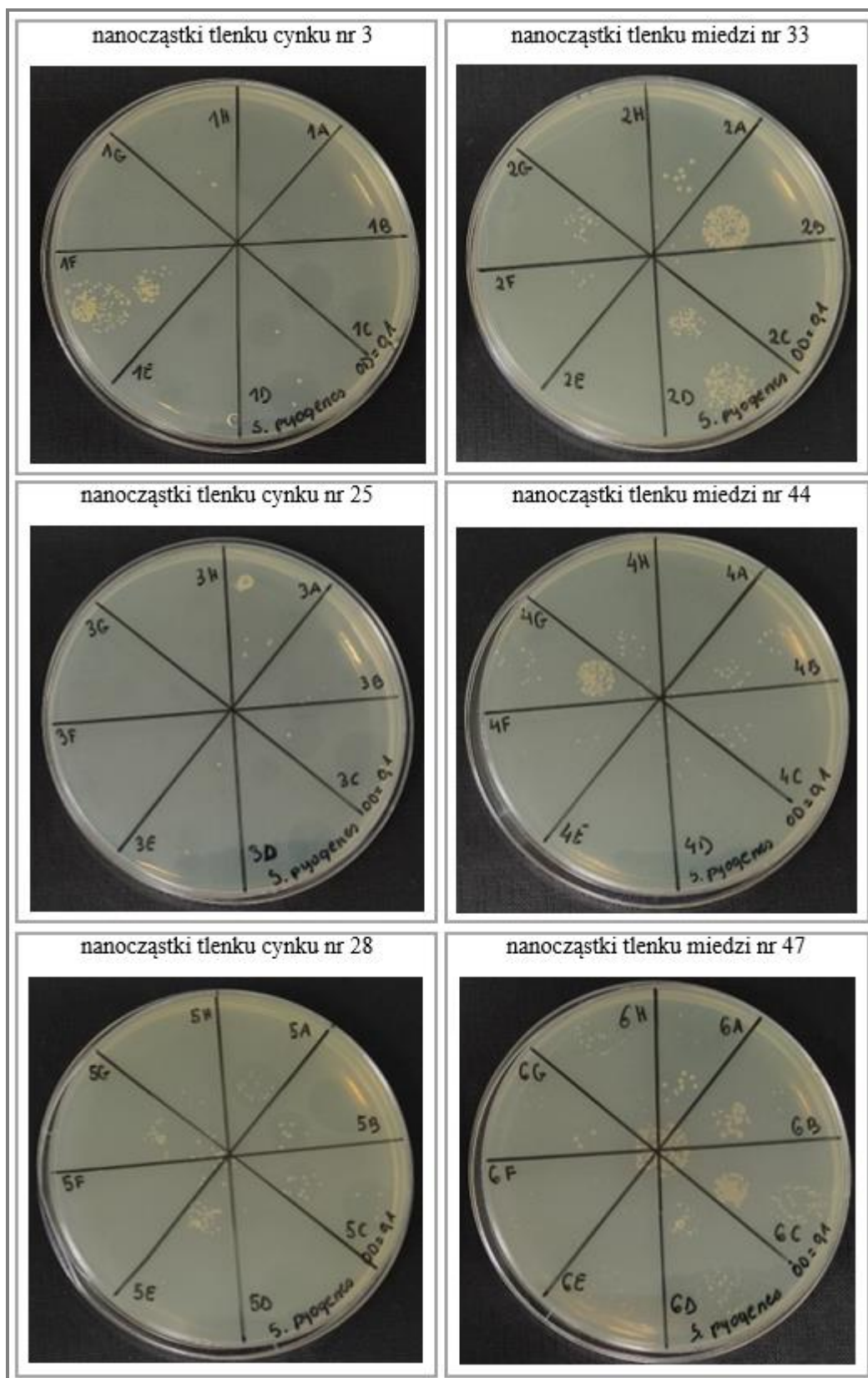
+++ nanocząstki wykazywały bardzo duże właściwości przeciwbakteryjne/przeciwgrzybiczne względem danego szczepu/gatunku

- nanocząstki nie wykazywały właściwości przeciwbakteryjnych/przeciwgrzybiczych względem danego szczepu/gatunku

+/- nanocząstki wykazywały niewielkie właściwości przeciwbakteryjne/przeciwgrzybiczne względem danego szczepu/gatunku

+/- nanocząstki wykazywały bardzo niewielkie właściwości przeciwbakteryjne/przeciwgrzybiczne względem danego szczepu/gatunku

Badane nanocząstki wykazywały właściwości przeciwbakteryjne względem szczepów *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Klebsiella pneumoniae* i *Saccharopolyspora hirsuta* oraz właściwości przeciwgrzybiczne względem *Candida albicans*. Na podstawie wyników badań wstępnych, wybrano szczepy bakterii i gatunki grzybów (dla których zaobserwowano największy wpływ nanocząstek na zahamowanie ich wzrostu) do dalszych testów, z wykorzystaniem różnych stężeń badanych nanocząstek. Przykładowe zdjęcia z badań dla bakterii *Streptococcus pyogenes*, dla której uzyskano największą aktywność przeciwbakteryjną dla badanych nanocząstek, przedstawiono na Rysunku 38 (dla gęstości optycznej hodowli mikroorganizmów 0,1) i na Rysunku 39 (dla gęstości optycznej hodowli mikroorganizmów 0,5). Litera od A do H oznaczają stężenie nanocząstek od najwyższego do najniższego (A – 5,00 mg/mL; B – 2,50 mg/mL; C – 1,25 mg/mL; D – 0,625 mg/mL; E – 0,313 mg/mL; F – 0,156 mg/mL; G – 0,0781 mg/mL; H – 0,0391 mg/mL).



Rysunek 38. Zdjęcia z badań przeciwbakteryjnych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi na przykładzie bakterii *Streptococcus pyogenes* dla gęstości optycznej hodowli mikroorganizmów 0,1

Wyniki dla nanocząstek tlenku cynku przedstawiono w Tabeli 32, a dla nanocząstek tlenku miedzi w Tabeli 33. Wyniki podano jako minimalne stężenie badanych nanocząstek [mg/mL] zdolne do całkowitego zahamowania wzrostu badanych bakterii/grzybów.

Tabela 32. Wyniki badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku (minimalne stężenie danych nanocząstek [mg/mL] zdolne do całkowitego zahamowania wzrostu danych bakterii/grzybów)

Nazwa szczepu	Nr nanocząstek*					
	3		25		28	
gęstość optyczna	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	1,25	5,00	1,25	2,50	1,25	5,00
<i>Bacillus subtilis</i>	0,313	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,50	2,50	5,00	5,00	5,00	2,50
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,313	0,625	0,313	0,312	0,625	0,625
<i>Saccharopolyspora hirsuta</i>	1,25	2,50	0,625	1,25	0,312	1,25
<i>Candida albicans</i>	x	x	x	x	x	x

* według Tabeli 16

x – brak działania przeciwbakteryjnego/przeciwgrzybicznego nanocząstek

Otrzymane wyniki wskazują na to, iż wszystkie badane nanocząstki tlenku cynku wykazały właściwości przeciwbakteryjne wobec wszystkich badanych szczepów bakterii (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* i *Saccharopolyspora hirsuta*). Natomiast nie wykazały one właściwości przeciwgrzybiczych wobec grzybów z gatunku *Candida albicans*. Nanocząstki nr 3 (syntezowane z użyciem ekstraktu z *C. glomerata*) wykazały największe właściwości przeciwbakteryjne spośród wszystkich badanych nanocząstek tlenku cynku wobec bakterii *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus* (minimalne stężenie tych nanocząstek zdolne do całkowitego zahamowania wzrostu badanych bakterii było najniższe). Największe właściwości przeciwbakteryjne wobec *Escherichia coli* i *Streptococcus pyogenes* wykazały nanocząstki nr 25 (syntezowane z użyciem ekstraktu z *F. vesiculosus*), a wobec *Saccharopolyspora hirsuta* nanocząstki nr 28 (syntezowane z użyciem ekstraktu z *Porphyra* sp.). Właściwości przeciwbakteryjne nanocząstek tlenku cynku przeciwko bakteriom *Escherichia coli* [156], [345], *Staphylococcus aureus* [156], [345], [426] i *Streptococcus pyogenes* [156] potwierdzają dane literaturowe. Asamoah i in. (2020) otrzymał niższą wartość minimalnego stężenia syntezowanych nanocząstek tlenku cynku zdolnych do całkowitego zahamowania wzrostu *S. aureus* (0,1 mg/mL), niż otrzymano dla wszystkich nanocząstek badanych w niniejszej pracy. Jednak badane przez niego nanocząstki nie wykazały właściwości przeciwbakteryjnych wobec *E. coli* [427].

Tabela 33. Wyniki badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku miedzi (minimalne stężenie danych nanocząstek [mg/mL] zdolne do całkowitego zahamowania wzrostu danych bakterii/grzybów)

Nazwa szczepu	Nr nanocząstek*					
	33		44		47	
OD	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	5,00	x	5,00	x	2,50	x
<i>Bacillus subtilis</i>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	x	x	x	x	x	x
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	2,50
<i>Saccharopolyspora hirsuta</i>	1,25	5,00	x	x	5,00	x
<i>Candida albicans</i>	x	x	x	x	x	x

* według Tabela 16

x – brak działania przeciwbakteryjnego/przeciwgrzybicznego nanocząstek

Nanocząstki tlenku miedzi wykazały mniejsze właściwości przeciwbakteryjne niż nanocząstki tlenku cynku wobec wszystkich badanych szczepów. Tak samo jak nanocząstki tlenku cynku nie wykazały właściwości przeciwgrzybiczych wobec grzybów z gatunku *Candida albicans*. Dodatkowo nie wykazały właściwości przeciwbakteryjnych wobec bakterii *Staphylococcus aureus*. Najskuteczniejsze przeciwko bakterii *Escherichia coli* były nanocząstki nr 47 (biosyntezowane z użyciem ekstraktu z *Porphyra* sp.), przeciwko bakterii *Saccharopolyspora hirsuta* nanocząstki nr 33 (biosyntezowane z użyciem ekstraktu z *C. glomerata*), a przeciwko *Streptococcus pyogenes* oba te rodzaje nanocząstek. Dla bakterii *Bacillus subtilis* całkowite zahamowanie wzrostu badanych bakterii występowało przy takim samym minimalnym stężeniu nanocząstek tlenku cynku. Właściwości przeciwbakteryjne nanocząstek tlenku miedzi przeciwko bakteriom *Escherichia coli* [426], [427], *Bacillus subtilis* [428] i *Streptococcus pyogenes* [429] potwierdzają dane literaturowe. Według niektórych źródeł, nanocząstki tlenku miedzi mogą wykazywać także właściwości przeciwbakteryjne wobec *Staphylococcus aureus* [426]–[429]. Asamoah i in. (2020) otrzymał niższą wartość minimalnego stężenia syntezowanych nanocząstek tlenku miedzi zdolnych do całkowitego zahamowania wzrostu *E. coli* (1 mg/mL) niż otrzymano dla wszystkich nanocząstek badanych w niniejszej pracy. Dodatkowo badane przez niego nanocząstki wykazały także właściwości przeciwbakteryjne wobec *S. aureus* (0,25 mg/mL) [427].

Badania opisane w Rozdziale 5.3 dotyczyły biosyntezy nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi z użyciem ekstraktów algowych oraz ich charakterystyki. Różne metody syntezy, wybrane na podstawie analizy danych literaturowych, testowano z użyciem ekstraktu z zielenicy *C. glomerata*. Dla wybranych, najlepszych metod syntezy (pod kątem ilości otrzymanych nanocząstek w stosunku do ilości użytego ekstraktu oraz soli, a także

biorąc pod uwagę poziom trudności metody) dokonano także syntezy nanocząstek z użyciem ekstraktów z innych makroalg, należących do wszystkich trzech gromad (zielenicy *Enteromorpha* sp., brunatnic *Sargassum* sp. i *F. vesiculosus* oraz krasnorostu *Porphyra* sp.). Obecność nanocząstek w roztworach otrzymanych w trakcie procesu biosyntezy potwierdziły wykonane widma UV-Vis. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań (analiza wielopierwiastkowa, spektroskopia fourierowska w podczerwieni, skaningowa mikroskopia elektronowa i dyfraktometria rentgenowska) wybrano nanocząstki, które w kolejnym etapie pracy zostały zastosowane do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Dodatkowo scharakteryzowano właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze wybranych nanocząstek biosyntezy z użyciem ekstraktów z makroalg należących do różnych gromad (zielenicy *C. glomerata*, brunatnicy *F. vesiculosus* i krasnorostu *Porphyra* sp.).

5.4. Testy na roślinach

W niniejszym podrozdziale opisane zostały właściwości użytkowe (wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost roślin) produktów scharakteryzowanych w poprzednich podrozdziałach (ekstraktów algowych oraz biosyntezy nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi) oraz przedsięwziętej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi (stałym i zmiennym polem magnetycznym oraz ultradźwiękami). Podrozdział ten dotyczy głównie:

- wpływu ekstraktów algowych na kiełkowanie nasion i wzrost roślin różnych gatunków (zastosowanie ekstraktów algowych jako biostymulatorów wzrostu roślin);
- wpływu nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi biosyntezy przy użyciu ekstraktów algowych na kiełkowanie nasion, wzrost roślin różnych gatunków i odporność na rozwój grzybów na powierzchni nasion (zastosowanie nanocząstek jako potencjalnych komponentów nawozów mikroelementowych oraz środków ochrony roślin);
- wpływu przedsięwziętej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi (stałego i zmiennego pola magnetycznego oraz ultradźwięków) na kiełkowanie nasion i wzrost roślin różnych gatunków (zastosowanie czynników fizycznych jako niechemicznej metody stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin).

5.4.1. Wpływ ekstraktów z zielenicy *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp. oraz brunatnicy *Fucus vesiculosus* na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej

Wyniki badań dotyczących wpływu ekstraktów o stężeniu 20% z trzech makroalg (zielenicy słodkowodnej *C. glomerata*, zielenicy morskiej *Enteromorpha* sp. i brunatnicy morskiej *F. vesiculosus*) aplikowanych do podłoża (testy *between paper*) na kiełkowanie nasion i wzrost siewek dwóch odmian soi warzywnej (polskiej *Abelina* i japońskiej *Enrei*) przedstawiono w Tabeli 34. Stężenie 20% zostało wybrane na podstawie badań dotyczących wpływ różnych stężeń ekstraktów algowych (20, 40, 60, 80 i 100%) na kiełkowanie nasion i wzrost siewek soi warzywnej, które zostało opisane w Rozdziale 5.4.7. Przeprowadzono dwie osobne analizy statystyczne – pierwsza dotyczyła wpływu ekstraktów algowych na kiełkowanie nasion i wzrost siewek soi odmiany *Abelina*, a druga na kiełkowanie nasion i wzrost siewek soi odmiany *Enrei*.

Tabela 34. Wpływ 20% ekstraktów algowych z zielenic *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp. oraz brunatnicy *Fucus vesiculosus* na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej

Mierzony parametr	Odmiana soi warzywnej							
	<i>Abelina</i>				<i>Enrei</i>			
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 20%			Grupa kontrolna	Ekstrakt 20%		
		<i>C. glomerata</i>	<i>F. vesiculosus</i>	<i>Enteromorpha</i> sp.		<i>C. glomerata</i>	<i>F. vesiculosus</i>	<i>Enteromorpha</i> sp.
Procent kiełkowania [%]*	68	76	72	59	25	b.p.	68	44
Długość korzenia [cm]*	14,0 ^{ab}	12,0 ^{ac}	11,0 ^{bd}	14,0 ^{cd}	9,0	b.p.	8,0	12,0
Długość hipokotylu [cm]*	11,0 ^e	11,0 ^{fg}	10,0 ^f	9,0 ^{eg}	6,0	b.p.	7,0	8,5
Długość epikotylu [cm]*	4,0 ^h	4,0 ⁱ	2,0 ^{hij}	4,0 ^j	3,0	b.p.	3,0	3,0
Chlorofil (SPAD) [–]*	22,8	29,1	24,0	34,0	20,4	b.p.	14,2	12,0
Chlorofil <i>a</i> [µg/mL]*	1,01	2,47	1,36	2,52	1,03	b.p.	0,53	0,79
Chlorofil <i>b</i> [µg/mL]*	0,58	1,39	0,71	1,44	0,64	b.p.	0,39	0,50
Chlorofil całkowity [µg/mL]**	1,95±1,39 ^k	4,35±1,99 ^k	2,56±1,93	3,86±0,56	1,42±0,71	b.p.	1,19±0,88	1,27±0,17
Karotenoidy [µg/mL]*	0,094	0,325	0,137	0,223	0,047	b.p.	0,053	0,049

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

b.p. – brak pomiaru (żadne z nasion nie wykiełkowało)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym

Analizując otrzymane wyniki (Tabela 34) można stwierdzić, że w grupie kontrolnej z wodą destylowaną, odmiana polska *Abelina* charakteryzowała się znacznie wyższym procentem kiełkowania (2,7 razy wyższy) niż odmiana japońska *Enrei*. W przypadku odmiany *Abelina* zastosowanie ekstraktów z *C. glomerata* i *F. vesiculosus* wpłynęło w nieznacznym stopniu pozytywnie na kiełkowanie nasion soi (wzrost o 4-8%), zaś zastosowanie ekstraktu z *Enteromorpha* sp. negatywnie (mniejszy procent kiełkowania w porównaniu z grupą kontrolną o 9%). Z kolei w przypadku odmiany *Enrei* ekstrakt z *Enteromorpha* sp. poprawił jej procent kiełkowania 1,8-krotnie, a ekstrakt z *F. vesiculosus* aż 2,7-krotnie w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast ekstrakt z *C. glomerata* całkowicie zahamował kiełkowanie nasion tej odmiany. Można zatem stwierdzić, że dla różnych odmian tej samej rośliny, inny ekstrakt będzie najkorzystniejszy. Pozytywny wpływ ekstraktu z *C. glomerata* o niższym stężeniu (10%) na kiełkowanie nasion soi warzywnej odmiany *Merlin* potwierdzili w 2019 r. Michalak i in. (poprawa o 2,4%) [13] oraz Lewandowska i in. (ponad 2-krotne zwiększenie procentu kiełkowania) w odniesieniu do kontroli [17]. Nie znaleziono badań w literaturze dotyczących wpływu ekstraktów z dwóch pozostałych makroalg na kiełkowanie nasion soi.

Długość korzenia siewek soi niepoddanej stymulacji ekstraktem algowym odmiany *Abelina* była większa (14 cm) niż odmiany *Enrei* (9 cm). Ekstrakty z *C. glomerata* i *F. vesiculosus* wpłynęły w sposób istotny statystycznie negatywnie na długość korzenia odmiany *Abelina*, natomiast ekstrakt z *Enteromorpha* sp. nie wpłynął na poprawę tego parametru w porównaniu do grupy kontrolnej. Ekstrakt z *F. vesiculosus* wpłynął także negatywnie na długość korzenia odmiany *Enrei*, jednak nie w sposób istotny statystycznie. Ekstrakt z *Enteromorpha* sp. zwiększył długość tego parametru dla odmiany *Enrei* o 25%. Wpływ ekstraktów algowych z różnych makroalg na korzenie siewek soi zbadali w 2015 r. Chaikina i in., wykazując, że ekstrakt z algi *Ulva fenestrata* (syn. *Enteromorpha*) nie wpływa w żaden sposób na długość korzenia badanej rośliny [62], co jest zgodne z wynikiem otrzymanym w niniejszej pracy dla odmiany *Abelina*.

Ekstrakt z *C. glomerata* nie miał wpływu na długość hipokotylu soi odmiany *Abelina*, natomiast ekstrakty z dwóch pozostałych makroalg miały negatywny wpływ (spadek o 9-18% w porównaniu do grupy kontrolnej), przy czym ekstrakt z *Enteromorpha* sp. w sposób istotny statystycznie. Z kolei dla nasion odmiany *Enrei* ekstrakty z *Enteromorpha* sp. i *F. vesiculosus* miały pozytywny wpływ na ten parametr (wzrost o 17-42% względem grupy kontrolnej).

Ekstrakty z *C. glomerata* i *Enteromorpha* sp. nie miały wpływu na długość epikotylu siewek soi odmiany *Abelina*. Natomiast ekstrakt z *F. vesiculosus* wpłynął w sposób istotny

statystycznie na ten parametr (2-krotne zmniejszenie długości w porównaniu do grupy kontrolnej). Żaden z ekstraktów nie miał wpływu na długość epikotyli siewek odmiany *Enrei*.

Zawartość chlorofilu w liściach siewek soi odmiany *Abelina*, mierzona przy użyciu chlorofilomierza SPAD wzrosła po zastosowaniu stymulacji każdym testowanym ekstraktem algowym, jednak nie w sposób istotny statystycznie. Natomiast w przypadku odmiany *Enrei* zaobserwowano spadek zawartości chlorofilu po stymulacji wszystkimi badanymi ekstraktami. Podczas badań prowadzonych w 2019 r. na odmianie soi warzywnej *Merlin*, Michalak i in. zaobserwowali wzrost zawartości chlorofilu w liściach siewek o 33% przy zastosowaniu stymulacji ekstraktem 10% z *C. glomerata* [13]. Wynik ten jest o 5% wyższy niż uzyskany w niniejszej pracy dla 20% ekstraktu z *C. glomerata*.

Pomiary spektrofotometryczne zawartości chlorofilu *a* i *b* oraz chlorofilu całkowitego potwierdzają zależności uzyskane podczas pomiarów chlorofilomierzem SPAD – stymulacja ekstraktami algowymi zwiększyła zawartość chlorofilu w liściach soi odmiany *Abelina* i zmniejszyła w liściach soi odmiany *Enrei*. Z kolei zawartość karotenoidów w liściach wzrosła dla obu odmian po zastosowaniu stymulacji każdym z ekstraktów, jednak w przypadku odmiany *Enrei* wzrost tego parametru był niewielki.

Podsumowując, wszystkie badane ekstrakty algowe wpłynęły pozytywnie na zawartość barwników (chlorofilu i karotenoidów) w liściach siewek soi warzywnej odmiany *Abelina*. Dodatkowo, ekstrakty z *C. glomerata* i *F. vesiculosus* wpłynęły także pozytywnie na procent kiełkowania nasion soi tej odmiany. Z kolei dla odmiany *Enrei* zaobserwowano pozytywny wpływ ekstraktów z *F. vesiculosus* i *Enteromorpha* sp. na procent kiełkowania i długość hipokotyli, a w przypadku ekstraktu z *Enteromorpha* sp. także na długość korzenia. Różnice we wpływie tych ekstraktów na dwie różne odmiany tej samej rośliny wynikają z różnic genotypowych pomiędzy tymi odmianami [337]. Biorąc pod uwagę wszystkie analizowane parametry na odmianę *Abelina* najkorzystniej wpłynął ekstrakt z *C. glomerata*, natomiast na odmianę *Enrei* ekstrakty z *F. vesiculosus* i *Enteromorpha* sp.

5.4.2. Wpływ ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost łubinu wąskolistnego

Wyniki badań dotyczących wpływu 10 i 20% ekstraktu z *C. glomerata* aplikowane do podłoża (testy *pleated paper*) na kiełkowanie nasion i wzrost siewek trzech odmian (*Homer*, *Jowisz* i *Tytan*) łubinu wąskolistnego przedstawiono w Tabeli 35. Badania były prowadzone na

nasionach zebranych w latach 2015, 2016, 2017, 2018, 2019. Testowane stężenia ekstraktu zostały wybrane na podstawie wcześniejszych badań dotyczących wpływu różnych stężeń (20, 40, 60, 80 i 100%) ekstraktu z *C. glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost siewek soi warzywnej, która tak jak łubin wąskolistny należy do rodziny bobowatych (Rozdział 5.4.7).

Tabela 35. Wpływ 10 i 20% ekstraktów algowych z zielenicy *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost łubinu wąskolistnego dla nasion z lat: (a) 2015; (b) 2016; (c) 2017; (d) 2018; (e) 2019.

Mierzony parametr	(a) Odmiana łubinu wąskolistnego – 2015								
	<i>Homer</i>			<i>Jowisz</i>			<i>Tytan</i>		
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%
Procent kiełkowania [%]	82	80	80	81±10	83±5	82±9	74	84	78
Długość korzenia [cm]	6,3 ^{ab}	7,8 ^{ac}	8,7 ^{bc}	5,0 ^{ab}	12,3 ^a	14,0 ^b	6,0 ^{ab}	7,2 ^{ac}	9,8 ^{bc}
Długość hipokotylu [cm]	5,7±1,0	5,3±0,9 ^d	5,7±1,0 ^d	7,0	7,0	7,0	7,0 ^d	7,0 ^e	8,0 ^{de}
Długość epikotylu [cm]	5,6 ^e	4,9 ^e	5,2	4,0 ^c	4,7 ^{cd}	4,0 ^d	5,0	5,1	4,6
Chlorofil (SPAD) [–]	71,9 ^{fg}	77,9 ^f	78,7 ^g	67,8±7,4	70,2±6,9	67,6±7,9	72,5 ^f	70,7	67,4 ^f

Mierzony parametr	(b) Odmiana łubinu wąskolistnego – 2016								
	<i>Homer</i>			<i>Jowisz</i>			<i>Tytan</i>		
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%
Procent kiełkowania [%]	96	94	92	100	92	98	86	84	88
Długość korzenia [cm]	6,6±1,8 ^{ab}	7,7±2,1 ^{ac}	8,5±1,6 ^{bc}	8,8 ^{ab}	11,0 ^a	11,0 ^b	6,6 ^{ab}	8,0 ^a	8,5 ^b
Długość hipokotylu [cm]	6,2 ^{de}	5,3 ^{df}	7,3 ^{ef}	6,1 ^c	6,2 ^d	7,0 ^{cd}	5,7 ^{cd}	7,0 ^c	7,0 ^d
Długość epikotylu [cm]	4,4 ^{gh}	4,1 ^{gi}	5,3 ^{hi}	4,7 ^e	4,0 ^{ef}	4,5 ^f	4,7 ^{ef}	5,0 ^e	6,0 ^f
Chlorofil (SPAD) [–]	66,4	71,3	67,5	61,2	69,6	68,5	56,5	51,3	48,8

Mierzony parametr	(c) Odmiana łubinu wąskolistnego – 2017								
	<i>Homer</i>			<i>Jowisz</i>			<i>Tytan</i>		
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%
Procent kiełkowania [%]	77±4	82±9	80±5	83±13	83±8	83±8	74	84	76
Długość korzenia [cm]	5,6 ^{ab}	6,7 ^{ac}	8,0 ^{bc}	7,7±2,4 ^{ab}	8,5±2,2 ^{ac}	10,5±2,1 ^{bc}	6,3±1,7 ^a	6,1±2,2 ^b	8,6±2,2 ^{ab}
Długość hipokotylu [cm]	5,2 ^d	5,9 ^{de}	5,0 ^e	6,3	6,0	6,0	5,7 ^c	6,0	6,3 ^c
Długość epikotylu [cm]	4,6	4,5	4,4	4,7 ^{de}	4,0 ^d	4,0 ^e	4,3 ^{de}	5,5 ^d	5,3 ^e
Chlorofil (SPAD) [–]	66,2±6,8 ^f	68,5±6,6 ^g	61,8±6,2 ^{fg}	64,2 ^f	58,4	55,6 ^f	54,5	53,1	50,6

Mierzony parametr	(d) Odmiana lubinu wąskolistnego – 2018								
	<i>Homer</i>			<i>Jowisz</i>			<i>Tytan</i>		
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%
Procent kiełkowania [%]	83±4	81±5	79±3	75±3	78±5	77±5	80	76	76
Długość korzenia [cm]	5,7 ^a	6,0 ^b	7,6 ^{ab}	6,5 ^{ab}	11,6 ^{ac}	14,2 ^{bc}	5,6 ^{ab}	6,9 ^{ac}	11,1 ^{bc}
Długość hipokotylu [cm]	5,2 ^{cd}	6,2 ^c	6,2 ^d	5,8 ^{de}	7,0 ^{df}	6,5 ^{ef}	6,0 ^{de}	6,3 ^d	6,7 ^e
Długość epikotylu [cm]	5,1 ^{ef}	5,6 ^e	5,4 ^f	5,5 ^g	5,7	5,8 ^g	7,1 ^f	6,4 ^f	6,6
Chlorofil (SPAD) [–]	63,3±7,0	61,0±6,0 ^g	66,0±6,4 ^g	66,2±6,3 ^{hi}	52,9±8,0 ^{hj}	60,0±8,5 ^{ij}	61,4 ^g	54,4 ^{gh}	60,1 ^h

Mierzony parametr	(e) Odmiana lubinu wąskolistnego – 2019								
	<i>Homer</i>			<i>Jowisz</i>			<i>Tytan</i>		
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%	Grupa kontrolna	Ekstrakt 10%	Ekstrakt 20%
Procent kiełkowania [%]	78±5	80±5	82±9	82	76	80	79±5	77±4	86±7
Długość korzenia [cm]	6,7 ^{ab}	7,7 ^{ac}	8,8 ^{bc}	6,6 ^{ab}	11,2 ^{ac}	14,0 ^{bc}	5,3 ^{ab}	8,5 ^{ac}	10,8 ^{bc}
Długość hipokotylu [cm]	5,8±0,8 ^{de}	6,7±0,9 ^d	6,4±0,8 ^e	5,9 ^d	6,0 ^e	6,7 ^{de}	6,3 ^d	6,7 ^e	7,0 ^{de}
Długość epikotylu [cm]	4,9	4,7	4,8	4,7 ^f	4,8 ^g	5,2 ^{fg}	6,0	6,3	6,0
Chlorofil (SPAD) [–]	53,3 ^{fg}	48,3 ^f	47,5 ^g	52,3	49,7	49,9	60,7±6,1 ^{fg}	55,8±6,8 ^f	56,3±7,4 ^g

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym

Dla wyników przedstawionych w postaci mediany wykonano test Kruskala-Wallisa, a dla wyników przedstawionych w postaci średniej ± odchylenie standardowe test Tukeya.

Dla nasion łubinu wąskolistnego z 2015 roku można zaobserwować zróżnicowany wpływ stężenia ekstraktu algowego na parametry biometryczne siewek (Tabela 35a). Dla odmiany *Homer* najwyższe parametry uzyskano na ogół przy 20% stężeniu ekstraktu (długość korzenia i hipokotyli oraz zawartość chlorofilu). Dla długości korzeni zaobserwowano różnice istotne statystycznie między następującymi grupami: grupa kontrolna i 10% ekstrakt, grupa kontrolna i 20% ekstrakt oraz 10% ekstrakt i 20% ekstrakt. W przypadku długości hipokotyli, różnice istotne statystycznie były widoczne między ekstraktem 10% i 20%. Z kolei w przypadku zawartości chlorofilu w liścieniach różnice te zaobserwowano pomiędzy grupą kontrolną a 10% ekstraktem oraz pomiędzy grupą kontrolną a 20% ekstraktem. Dla odmiany *Jowisz*, oba stężenia ekstraktu wpłynęły pozytywnie na mierzone parametry (z wyjątkiem zawartości chlorofilu w liścieniach dla grupy traktowanej 20% ekstraktem, która była nieznacznie niższa niż w grupie kontrolnej). W przypadku tej odmiany 10% ekstrakt miał lepszy wpływ na kiełkowanie i wzrost siewek łubinu. Warto również zauważyć, że długość korzenia w grupach doświadczalnych była aż 2,5 razy dłuższa dla 10% ekstraktu i 2,8 razy dłuższa dla 20% ekstraktu w porównaniu do grupy kontrolnej. Dla odmiany *Tytan* wyniki nie są jednoznaczne – dłuższe korzenie i hipokotyle otrzymano w grupie stymulowanej 20% ekstraktem, natomiast długość epikotyli i procent kiełkowania były wyższe dla 10% ekstraktu. Na podstawie uzyskanych wyników trudno jest wybrać odmianę łubinu, która charakteryzowała się największym wzrostem po zastosowaniu ekstraktu z *C. glomerata*. Wyniki nie są jednoznaczne – najdłuższy korzeń miała odmiana *Jowisz*, najdłuższy hipokotyl – odmiana *Tytan*, a najwyższą zawartość chlorofilu – odmiana *Homer*. Procent kiełkowania był porównywalny we wszystkich grupach.

W przypadku wszystkich odmian łubinu wąskolistnego uprawianych z nasion z 2016 r., najlepszy efekt stymulujący wzrost roślin zaobserwowano w grupach traktowanych 20% ekstraktem (Tabela 35b). Jednak we wszystkich grupach stymulowanych ekstraktami algowymi, procent kiełkowania nasion był niższy niż w grupie kontrolnej (z wyjątkiem grupy z 20% ekstraktem dla odmiany *Tytan*). Dla odmiany *Homer* najwyższe wartości mierzonych parametrów uzyskano dla 20% ekstraktu, z wyjątkiem zawartości chlorofilu, która jednak była wciąż wyższa niż w grupie kontrolnej. W przypadku długości korzeni, hipokotyli i epikotyli zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a 10% ekstraktem, grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz 10% ekstraktem i 20% ekstraktem. Dla odmiany *Jowisz*, podobnie jak dla nasion z 2015 roku, zaobserwowano istotny wpływ obu stężeń ekstraktu algowego na długość korzenia, która była 1,25 razy większa (dla obu stężeń) niż

w grupie kontrolnej. W przypadku długości korzenia zaobserwowano różnice istotne statystycznie między grupą kontrolną a 10% ekstraktem oraz grupą kontrolną a 20% ekstraktem. W przypadku długości hipokotyli różnice te odnotowano między grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz 10% ekstraktem a 20% ekstraktem. Dla odmiany *Tytan*, 20% stężenie ekstraktu miało lepszy wpływ na mierzone parametry niż stężenie 10%, z wyjątkiem zawartości chlorofilu. Jednak oba stężenia pozwoliły otrzymać lepsze wyniki wzrostu łubinu niż w grupie kontrolnej. W przypadku długości korzenia, hipokotyli i epikotyli zaobserwowano różnice istotne statystycznie między grupą kontrolną a 10% ekstraktem oraz grupą kontrolną a 20% ekstraktem. Podobnie jak dla nasion z 2015 r., zawartość chlorofilu w liścieniach tej odmiany w grupach poddanych stymulacji ekstraktem algowym była niższa niż w grupie kontrolnej. Ekstrakty o stężeniach 10 i 20% zwiększyły zawartość chlorofilu w liścieniach łubinu odmiany *Homer* i *Jowisz*, natomiast obniżyły ją u odmiany *Tytan*. Porównując wszystkie trzy odmiany, najbardziej pozytywne działanie ekstraktów zaobserwowano dla odmiany *Jowisz*, a najmniej dla odmiany *Tytan*.

W przypadku nasion z 2017 roku (Tabela 35c) zaobserwowano stymulujący efekt zastosowania 10% ekstraktu algowego w porównaniu z grupą kontrolną dla odmiany *Homer*. Dla długości korzenia zaobserwowano różnice istotne statystycznie między grupą kontrolną a 10% ekstraktem, grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz 10% ekstraktem i 20% ekstraktem. W przypadku długości hipokotyli, różnice istotne statystycznie odnotowano między grupą kontrolną a 10% ekstraktem oraz 10% ekstraktem i 20% ekstraktem. Stężenie ekstraktu 10% wykazało lepsze właściwości stymulujące wzrost łubinu niż stężenie 20%. W przypadku odmiany *Jowisz*, oba stężenia ekstraktu stymulowały jedynie długość korzenia (zaobserwowano istotne statystycznie różnice między grupą kontrolną a 10% ekstraktem, grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz ekstraktami o stężeniach 10% i 20%). Pozostałe parametry były niższe niż w grupie kontrolnej. Procent kiełkowania nasion był równy we wszystkich grupach. W przypadku odmiany *Tytan*, 20% ekstrakt pozytywnie wpłynął na wszystkie mierzone parametry, z wyjątkiem zawartości chlorofilu w liścieniach w porównaniu z grupą kontrolną. Dla długości korzenia różnice istotne statystycznie wystąpiły między grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz ekstraktami 10% i 20%. Na podstawie wyników uzyskanych dla wszystkich trzech odmian, najbardziej widoczny wpływ ekstraktu z *C. glomerata* na wzrost łubinu wąskolistnego zaobserwowano dla odmiany *Tytan*.

Analizując wyniki otrzymane dla nasion z 2018 r. (Tabela 35d) można zauważyć, iż jedynie w przypadku odmiany *Jowisz* zastosowanie obu stężeń ekstraktów algowych zwiększyło

procent kiełkowania, jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie dla tego parametru. Dla odmiany *Homer* oba ekstrakty wpłynęły pozytywnie na wszystkie mierzone parametry (poza zawartością chlorofilu w grupie stymulowanej 10% ekstraktem), ale nieznacznie lepsze było stężenie 20%. W przypadku długości korzenia zaobserwowano istotne statystycznie różnice między grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz ekstraktem 10% i 20%. Dla pomiarów długości hipokotyli i epikotyli odnotowano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a 10% ekstraktem oraz grupą kontrolną a 20% ekstraktem. W przypadku odmiany *Jowisz*, długość korzenia, hipokotyli i epikotyli dla stymulacji obydwoma stężeniami ekstraktu była większa niż w grupie kontrolnej, ale zawartość chlorofilu w liścieniach była mniejsza. W przypadku długości korzenia i hipokotyli, zaobserwowano różnice istotne statystycznie między grupą kontrolną a 10% ekstraktem, grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz ekstraktami 10% i 20%. Dla długości epikotyli różnice istotne statystycznie odnotowano tylko między grupą kontrolną a 20% ekstraktem. Warto również zwrócić uwagę na długość korzenia w grupach doświadczalnych, która była 1,8 razy dłuższa dla 10% ekstraktu i 2,2 razy dłuższa dla ekstraktu 20% niż w grupie kontrolnej. W przypadku odmiany *Tytan*, oba stężenia ekstraktów stymulowały jedynie długość korzenia i hipokotyli, która była wyższa dla 20% ekstraktu niż 10% ekstraktu. W przypadku długości korzenia zaobserwowano różnice istotne statystycznie między grupą kontrolną a 10% ekstraktem, grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz między ekstraktami 10% i 20%. Długość korzeni łubinu w grupie z 20% ekstraktem była 2-krotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. Dla długości hipokotyli różnice istotne statystycznie odnotowano dla grupy kontrolnej i 10% ekstraktu oraz grupy kontrolnej i 20% ekstraktu. W przypadku długości epikotyli różnice istotne statystycznie obserwowano między grupą kontrolną a 10% ekstraktem. Na podstawie opisanych wyników trudno jest wybrać jedną odmianę nasion z 2018 roku, na którą najlepiej zadziałało zastosowanie ekstraktu z *C. glomerata*. Dla wszystkich odmian zastosowanie ekstraktu w obu stężeniach wpłynęło pozytywnie na długość korzenia i hipokotyli.

Dla nasion łubinu z 2019 r. (Tabela 35e) zastosowanie 20% ekstraktu zwiększyło procent kiełkowania nasion odmian *Homer* i *Tytan*. Zastosowanie obu stężeń obniżyło zawartość chlorofilu w liścieniach wszystkich badanych odmian, natomiast zwiększyło długość korzenia i hipokotyli. Ekstrakt o stężeniu 20% wykazywał lepsze właściwości stymulujące niż 10% ekstrakt. W przypadku długości korzenia, dla wszystkich odmian łubinu zaobserwowano różnice istotne statystycznie między grupą kontrolną a 10% ekstraktem, grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz ekstraktem 10% i 20%. Długość korzenia łubinu odmiany *Jowisz* w grupie

stymulowanej 20% ekstraktem była 2,1 razy większa niż w grupie kontrolnej, a w grupie stymulowanej 10% ekstraktem 1,7 razy większa. Dla długości korzenia odmiany *Tytan* wartości te były 2,1 razy większe (20% ekstrakt) i 1,6 razy większe (10% ekstrakt) niż w grupie kontrolnej. Dla odmiany *Homer* zaobserwowano różnice istotne statystycznie w długości hipokotyli pomiędzy grupą kontrolną a 10% ekstraktem oraz wodą destylowaną a 20% ekstraktem. Dla odmian *Jowisz* i *Tytan* dla tego parametru zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a 20% ekstraktem oraz ekstraktami 10% i 20%. Dodatkowo różnice istotne statystycznie pomiędzy tymi samymi grupami zaobserwowano w długości epikotyli odmiany *Jowisz*.

Analizowane nasiona łubinu wąskolistnego danej odmiany pochodzące z różnych lat wykazywały zróżnicowaną reakcję na stymulację ekstraktem z *C. glomerata*. Ogólnie wpływ ekstraktu był w większości przypadków pozytywny, a stężenie 20% stymulowało wzrost siewek łubinu wąskolistnego lepiej niż stężenie 10%. Spośród badanych odmian największą długością korzenia i zawartością chlorofilu w liściach charakteryzowała się odmiana *Jowisz*, natomiast największą długością hipokotyli i epikotyli odmiana *Tytan*. Procent kiełkowania nasion był zbliżony dla wszystkich odmian, a stymulacja ekstraktem algowym nie miała dużego wpływu na ten parametr (brak różnic istotnych statystycznie). Do tej pory nie znaleziono w literaturze badań dotyczących wpływu ekstraktów algowych na kiełkowanie nasion i wzrost roślin łubinu.

5.4.3. Wpływ ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* i nanocząstek ZnO i CuO biosyntezyowanych przy użyciu tego ekstraktu na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej

Wyniki badań dotyczących wpływu różnych stężeń ekstraktu z *C. glomerata* (20, 40, 60, 80 i 100%) oraz różnych stężeń nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi (10, 50 i 100 mg/L) biosyntezyowanych przy użyciu tego ekstraktu na kiełkowanie nasion i wzrost roślin rzodkwi zwyczajnej (odmiana *Faraon*) przedstawiono w Tabeli 36. Ekstrakt wytworzony był przy użyciu homogenizatora UP50H. Nanocząstki syntezowane były na podstawie metody opisanej przez Vaishnava i in. (2017) [203] (nr 3 i 33 według Tabeli 16). Stężenia nanocząstek zostały wybrane na podstawie analizy literaturowej (Tabela 9). Jako dodatkową grupę kontrolną (oprócz wody destylowanej) zastosowano roztwory soli, z których syntezowane były nanocząstki (siarczan cynku (II) 7-wodny i siarczan miedzi (II) 5-wodny) o tych samych stężeniach. Zarówno ekstrakt, jak i nanocząstki aplikowane były do podłoża (testy szalkowe).

Tabela 36. Wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkiewki: (a) ekstraktu z *Cladophora glomerata*; (b) nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *Cladophora glomerata*; (c) nanocząstek tlenku miedzi biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *Cladophora glomerata*.

(a) Ekstrakt z <i>Cladophora glomerata</i>						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%]*	92	96	92	97	92	97
Długość korzenia [cm]*	5,6	7,2 ^a	6,2	6,2	5,8	5,3 ^a
Długość hipokotyłu [cm]*	2,1 ^{bcdef}	2,5 ^{bghi}	2,9 ^c	3,3 ^{dg}	3,3 ^{eh}	3,1 ^{fi}
Długość epikotyłu [cm]*	1,0 ^{ijklmn}	1,4 ^{jo}	1,6 ^k	1,7 ^{lo}	1,6 ^m	1,5 ⁿ
Długość części nadziemnej [cm]*	3,0 ^{pqrs}	3,8 ^{tuv}	4,5 ^{pw}	5,2 ^{qt}	4,8 ^{ru}	4,9 ^{svw}
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,06 ^{xyza'b'}	1,83 ^{xc'}	2,15 ^y	2,45 ^{zc'}	2,13 ^{a'}	2,01 ^{b'}
Chlorofil (SPAD) [–]*	51,1	48,9 ^{d'}	53,1	50,4	54,6	54,9 ^{d'}

(b) Nanocząstki tlenku cynku biosyntezyzowane z użyciem ekstraktu z <i>C. glomerata</i>							
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Nanocząstki tlenku cynku			Siarczan cynku (II) 7-wodny		
		10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L
Procent kiełkowania [%]*	92	92	87	92	95	97	91
Długość korzenia [cm]*	6,0	6,1	6,0	6,3	6,2	6,8	6,1
Długość hipokotyłu [cm]*	2,4	2,6	2,6	2,3	2,2	2,1	2,2
Długość epikotyłu [cm]*	1,3	1,2	1,3	1,3	1,2	1,2	1,2
Długość części nadziemnej [cm]*	3,6	3,9	4,1	3,8	3,6	3,3	3,6
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,62	1,35	1,41	1,52	1,59	1,67	1,66
Chlorofil (SPAD) [–]*	48,2	53,4	48,1	50,6	52,3	50,7	48,9

(c) Nanocząstki tlenku miedzi biosyntezowane z użyciem ekstraktu z <i>C. glomerata</i>							
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Nanocząstki tlenku miedzi			Siarczan miedzi (II) 5-wodny		
		10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L
Procent kiełkowania [%]*	80	92	96	84	92	84	80
Długość korzenia [cm]*	5,1 ^{abc}	7,6 ^{adefg}	5,0 ^{dhi}	3,0 ^{behjk}	6,2 ^{jl}	4,5 ^{fkm}	2,9 ^{cgilm}
Długość hipokotylu [cm]*	2,0	1,8	1,8	1,8	1,9	1,6	1,8
Długość epikotylu [cm]*	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,1	1,2
Długość części nadziemnej [cm]*	3,2	3,0	3,0	3,0	3,1	2,7	3,0
Świeża masa części nadziemnej [g]**	1,38±0,20	1,50±0,09	1,43±0,15	1,40±0,09	1,61±0,17	1,23±0,15	1,74±0,26
Chlorofil (SPAD) [-]*	42,6 ^{nop}	50,1	53,3 ⁿ	54,5 ^o	49,7	51,7	53,3 ^p

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym, roztworem nanocząstek ani roztworem soli

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 36a można stwierdzić, iż stymulacja nasion rzodkwi zwyczajnej ekstraktem z *C. glomerata* nie miała znaczącego wpływu na ich kiełkowanie. Podobnie, ekstrakt algowy z *E. flexuosa* stosowany przez Gaikwad [52], nie miał istotnego wpływu na wzrost procentu wykiełkowanych nasion rzodkwi zwyczajnej.

Długość korzenia wzrosła przy zastosowaniu ekstraktów o stężeniach 20-80% (5,8-7,2 cm), a zmalała przy zastosowaniu ekstraktu o stężeniu 100% (5,3 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (5,6 cm). Najwyższą wartość ten parametr osiągnął przy stymulacji roślin stężeniem 20%. Różnice pomiędzy wartością długości korzenia otrzymaną dla stężenia 20% a wartością otrzymaną dla stężenia 100% były istotne statystycznie. Pozytywne działanie ekstraktu na długość korzenia może wynikać z obecności związków aktywnych, takich jak fitohormony i polifenole (Tabela 24) oraz ich aktywności przeciwutleniającej (Tabela 25) [92], [430]. Mocny system korzeniowy jest bardzo istotny, ponieważ może zwiększyć wchłanianie wody i składników odżywczych przez korzenie roślin z gleby [92].

Długość hipokotylu wzrosła po stymulacji roślin wszystkimi testowanymi stężeniami ekstraktu algowego (2,5-3,3 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (2,1 cm). Najwyższą wartość tego parametru otrzymano przy zastosowaniu stężeń 60 i 80%. Dla tego parametru zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną i wszystkimi badanymi stężeniami oraz pomiędzy stężeniem ekstraktu 20% a stężeniami 60, 80 i 100%. Długość epikotylu była istotnie statystycznie wyższa dla stymulacji ekstraktem algowym (1,4-1,7 cm), niż dla grupy kontrolnej (1,0 cm). Różnice istotne statystycznie dla tego parametru zaobserwowano także pomiędzy stężeniem 20% (1,4 cm) a 60% (1,7 cm). Długość części nadziemnej także wzrosła po zastosowaniu stymulacji wszystkimi ekstraktami z *C. glomerata* (3,8-5,2cm) w porównaniu z grupą kontrolną (3,0 cm). Zaobserwowano dla niej różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a stężeniami 40, 60, 80 i 100%, a także pomiędzy stężeniem 20% a stężeniami 60, 80 i 100% i pomiędzy stężeniem 40% a 100%. W literaturze nie znaleziono informacji na temat wpływu ekstraktów z *C. glomerata* na długość łodygi rzodkwi zwyczajnej, jednak Ahmed i in. (2021) wykazali pozytywny wpływ stymulacji tej rośliny z zastosowaniem suchej biomasy makroalg – zielenicy *Ulva fasciata* i brunatnicy *Sargassum lacerifolium* [431], a Kasim i in. (2016) ekstraktów z alg: zielenicy – *Codium taylorii* i krasnorostu – *Pterocladia capillacea* o stężeniu 10 g/L [430].

Wszystkie stężenia ekstraktów algowych wpłynęły pozytywnie w sposób istotny statystycznie na świeżą masę części nadziemnej siewek rzodkwi zwyczajnej (1,83-2,45 g) w porównaniu z grupą kontrolną (1,06 g). Różnice istotne statystycznie dla tego parametru

wystąpiły także pomiędzy stężeniami ekstraktu 20 % (1,83 g) a 60% (2,45 g). Wcześniej wspomniane w tym rozdziale badania [48], [92], [431] również potwierdzały pozytywny wpływ makroalg w różnej postaci (suchej biomasy, kompostu, ekstraktu) na masę siewek rzodkwi zwyczajnej.

Zawartość chlorofilu w liścieniach rzodkwi wzrosła dla następujących stężeń ekstraktu: 40, 80 i 100% (miernik SPAD 53,1-54,9), a zmalała dla stężeń 20 i 60% (48,9-50,4) w porównaniu z grupą kontrolną (51,1). Różnice istotne statystycznie zaobserwowano jedynie pomiędzy grupami, w których aplikowano ekstrakt o stężeniu 20% (48,9) i 100% (51,1). Poprawę biosyntezy chlorofilu przez ekstrakty algowe można przypisać wysokiej zawartości fitohormonów, takich jak cytokiny [92], a także wysokiemu stężeniu azotu i magnezu (składników strukturalnych chlorofilu) w tych ekstraktach [430].

Przedstawione wyniki (Tabela 36a) są pierwszymi badaniami dotyczącymi wpływu ekstraktu z tej makroalgi na rzodkiew zwyczajną. Do tej pory w literaturze pojawiły się jednak badania dotyczące wpływu kompostu z różnych makroalg (zawierającego algę *C. glomerata*) na suchą masę i skład pierwiastkowy rzodkwi zwyczajnej [48] oraz badania dotyczące wpływu ekstraktów z innych makroalg na tę roślinę, m.in. ekstraktu z algi *Enteromorpha flexuosa* na procent kiełkowania [52] i ekstraktu z *Sargassum vulgare* na parametry biometryczne roślin w testach polowych [92].

Podsumowując wyniki zebrane w Tabeli 36a, najkorzystniejszym stężeniem badanego ekstraktu z *C. glomerata* do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin rzodkwi zwyczajnej jest stężenie 60%. Dla tego stężenia otrzymano najwyższe wartości długości hipokotylu, epikotylu i części nadziemnej rośliny, a także świeżej masy siewki. Jedynie wartości długości korzenia i zawartości chlorofilu w liścieniach nie były najwyższe dla tego stężenia, ale nie występowały dla tych parametrów różnice istotne statystycznie pomiędzy stężeniem 60%, a najkorzystniejszym stężeniem dla danego parametru (stężenie 20% dla długości korzenia i stężenie 100% dla zawartości chlorofilu w liścieniach).

W kolejnym etapie badań sprawdzono wpływ nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi biosyntezy z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej. Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 36b dotyczące zastosowania nanocząstek tlenku cynku można zauważyć, że chociaż wystąpiły różnice pomiędzy poszczególnymi grupami dla parametrów biometrycznych wzrostu siewek rzodkwi oraz zawartości chlorofilu w liścieniach to dla żadnego z badanych parametrów nie były to różnice

istotne statystycznie. Wartości procentu kiełkowania nasion uzyskane dla poszczególnych grup były do siebie zbliżone.

Długość korzenia nieznacznie wzrosła lub pozostała taka sama po zastosowaniu wszystkich badanych roztworów nanocząstek oraz soli (6,0-6,8 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (6,0 cm). Najwyższą wartość (6,8 cm) otrzymano przy zastosowaniu roztworu soli o stężeniu 50 mg/L. Porównując wyniki uzyskane dla roztworów nanocząstek i roztworów soli można zauważyć, że dla niższych stężeń (10 i 50 mg/L) lepsze rezultaty uzyskano dla soli, zaś dla stężenia 100 mg/L dla nanocząstek. Dla porównania Singh i Kumar otrzymali znaczący spadek wartości tego parametru przy zastosowaniu stężenia nanocząstek 100 mg/L oraz brak wpływu przy zastosowaniu stężenia 10 mg/L [355].

Długość hipokotyli była największa (2,6 cm) po zastosowaniu stymulacji roślin nanocząstkami o stężeniach 10 i 50 mg/L, zaś najmniejsza (2,1 cm) po stymulacji roślin roztworem soli nieorganicznej o stężeniu 50 mg/L. Długość hipokotyli była większa dla roztworów nanocząstek niż dla odpowiadających im stężeniem roztworów soli. Długość epikotyli dla roślin stymulowanych roztworami nanocząstek o stężeniach 50 i 100 mg/L była taka sama jak dla grupy kontrolnej, której nie poddano stymulacji żadnym roztworem (1,3 cm). Wartość tego parametru dla wszystkich pozostałych grup była nieznacznie niższa (1,2 cm) niż dla grupy kontrolnej. Długość części nadziemnej rośliny wzrosła przy stymulacji każdym ze stężeń nanocząstek (3,8-4,1 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (3,6 cm) i zmalała dla stężenia 50 mg/L soli (3,3 cm). Dla pozostałych dwóch stężeń soli wartość ta pozostała taka sama jak dla wody destylowanej. Podobnie, Singh i Kumar również nie zaobserwowali różnic istotnych statystycznie dla długości łodygi rzodkwi zwyczajnej przy stymulacji nanocząstkami tlenu cynku o stężeniu 10 mg/L. Jednak zaobserwowali oni spadek dla stężenia 100 mg/L [355].

Świeża masa siewek wzrastała wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek. Jednak była ona niższa niż dla wszystkich stężeń soli oraz dla wody destylowanej. Najwyższą wartość parametr ten osiągnął dla stężenia soli 50 mg/L (1,67 g), a najniższą dla stężenia nanocząstek 10 mg/L (1,35 g). Badania prowadzone przez Singha i Kumara również potwierdzają negatywny wpływ nanocząstek o stężeniach należących do tego zakresu na masę siewek rzodkwi zwyczajnej [355].

Zawartość chlorofilu w liściach rzodkwi była najwyższa dla stężenia nanocząstek 10 mg/L (miernik SPAD 53,4), zaś najniższa dla stężenia nanocząstek 50 mg/L (48,1). Dla stężeń 10 i 100 mg/L wartość tego parametru była wyższa dla roztworów nanocząstek niż

odpowiadających im roztworów soli i niż dla wody destylowanej. Z kolei dla stężenia 50 mg/L wartość ta była nieznacznie wyższa dla roztworu soli (5%) i dla wody destylowanej (poniżej 1%) niż dla roztworu nanocząstek.

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, iż ogólnie niższe stężenia nanocząstek (10 i 50 mg/L) dały lepsze rezultaty dla większości mierzonych parametrów kiełkowania nasion i wzrostu rzodkwi zwyczajnej niż wyższe stężenie (100 mg/L). Jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie istotnych pomiędzy stymulacją roślin badanymi stężeniami nanocząstek, a stymulacją roztworami soli lub niepoddanych stymulacji. Na podstawie otrzymanych wyników oraz analizy literaturowej można przypuszczać, iż niższe stężenia niż 10 mg/L mogłyby dać lepsze rezultaty.

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 36c dotyczące wpływu nanocząstek tlenku miedzi biosyntezowanych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej można zauważyć, że chociaż wystąpiły różnice pomiędzy poszczególnymi grupami doświadczalnymi dla pomiarów parametrów wybranych biometrycznych roślin to różnice istotne statystycznie zaobserwowano jedynie dla długości korzenia oraz zawartości chlorofilu w liściach.

Wartość procentu kiełkowania nasion rzodkwi wzrosła dla wszystkich badanych stężeń nanocząstek (84-96%) w porównaniu z wodą destylowaną (80%), a w przypadku wyższych stężeń (50 i 100 mg/L) także w porównaniu z odpowiadającymi im roztworami soli.

Długość korzenia wzrosła jedynie w przypadku stymulacji roślin roztworami o stężeniu 10 mg/L (7,6 cm dla roztworu nanocząstek i 6,2 cm dla roztworu soli) w porównaniu z grupą kontrolną (5,1 cm). Wyższe stężenia (50 i 100 mg/L), zarówno nanocząstek, jak i roztworu soli, wpłynęły negatywnie na ten parametr (3,0-5,0 cm dla roztworu nanocząstek oraz 2,9-4,5 cm dla roztworu soli). Długość korzenia zmierzone w grupach, w których aplikowano nanocząstki była wyższa niż długość otrzymana w grupach, w których stosowano odpowiadające im stężenia soli. W obu przypadkach długość korzenia malała wraz ze wzrostem stężenia badanego produktu. Zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy stężeniem 10 mg/L nanocząstek, a wszystkimi pozostałymi grupami (z wyjątkiem stężenia soli 10 mg/L). Otrzymana wartość była aż 1,5 razy wyższa niż dla wody destylowanej. Dla porównania, Singh i Kumar również otrzymali znaczący spadek wartości tego parametru dla rzodkwi zwyczajnej przy zastosowaniu stężenia nanocząstek 100 mg/L jednak w przypadku ich badań zaobserwowano brak wpływu przy zastosowaniu stężenia 10 mg/L [355].

Długość hipokotyli rzodkwi zmalała po zastosowaniu wszystkich stężeń nanocząstek (1,8 cm we wszystkich grupach) i soli (1,6-1,9 cm) w porównaniu z grupą kontrolną podlewaną wodą destylowaną (2,0 cm), jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie. Najniższą wartość długości hipokotyli (1,6 cm) otrzymano dla stężenia soli 50 mg/L, a najwyższą (1,9 cm) dla stężenia soli 10 mg/L. Długość epikotyli rzodkwi była taka sama dla wszystkich badanych grup (1,2 cm), z wyjątkiem grupy, w której rośliny stymulowano roztworem soli o stężeniu 50 mg/L, dla której długość ta była nieznacznie niższa (1,1 cm). Długość części nadziemnej rzodkwi nieznacznie zmalała we wszystkich grupach eksperymentalnych (3,0 cm dla nanocząstek i 2,7-3,1 cm dla soli) w porównaniu z wodą destylowaną (3,2 cm). Najniższą wartość długości części nadziemnej (2,7 cm) otrzymano dla rzodkwi w grupie, w której stosowano stężenie soli 50 mg/L. Singh i Kumar (2019) również nie zaobserwowali różnic istotnych statystycznie dla długości łodygi rzodkwi zwyczajnej przy stymulacji nanocząstkami tlenku miedzi o stężeniu 10 mg/L. Jednak zaobserwowali oni istotny statystycznie spadek tego parametru dla stymulacji rzodkwi stężeniem 100 mg/L w porównaniu do grupy kontrolnej [355].

Masa części nadziemnej rzodkwi wzrosła po zastosowaniu stymulacji roślin każdym testowanym stężeniem nanocząstek (1,40-1,50 g) oraz stężeniami 10 i 100 mg/L soli (1,61-1,74 g) w porównaniu do wody destylowanej (1,38 g), natomiast zmalała dla stężenia soli 50 mg/L (1,23 g). Wartość tego parametru dla grup, w których aplikowano nanocząstki malała wraz ze wzrostem ich stężenia. Przeciwny efekt (negatywny wpływ roztworów nanocząstek o stężeniach 10-100 mg/L na masę siewek rzodkiewki) uzyskali w swoich badaniach Singh i Kumar (2019) [355].

Zawartość chlorofilu w liściach rzodkwi wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych (50,1-54,5 dla roztworów nanocząstek i 49,7-53,3 dla roztworów soli) w porównaniu z wodą destylowaną (42,6). Zarówno dla roztworów nanocząstek, jak i dla roztworów soli, wartość tego parametru wzrastała wraz ze wzrostem stężenia aplikowanego produktu. Dodatkowo zaobserwowano różnice istotne statystycznie w zawartości chlorofilu w liściach pomiędzy grupą kontrolną (w której stosowano wodę destylowaną) a grupami, w których stosowano najwyższe stężenia nanocząstek (50 i 100 mg/L) oraz najwyższe stężenia soli (100 mg/L).

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, iż podobnie jak dla stymulacji rzodkwi zwyczajnej nanocząstkami tlenku cynku, niższe stężenia nanocząstek tlenku miedzi (10 i 50 mg/L) dały lepsze rezultaty dla większości mierzonych parametrów

rzodkwi niż wyższe stężenie (100 mg/L). Wyjątkiem była zawartość chlorofilu w liścieniach, która była najwyższa dla stężenia 100 mg/L, jednak parametr ten nie jest aż tak istotny jak długość i masa rośliny oraz długość systemu korzeniowego, który może mieć wpływ na wchłanianie wody i składników odżywczych z gleby [92].

Do tej pory w literaturze pojawiło się kilka badań dotyczących wpływu różnych rodzajów nanocząstek (np. srebra lub ceru) na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej [133]. Wpływ nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi o stężeniach z zakresu 0,1-1000 mg/L na długość korzenia, łodygi i świeżą masę rzodkwi zwyczajnej sprawdzili w 2019 r. Singh i Kumar [355]. Ich badania wykazały istotnie statystycznie negatywny wpływ wyższych stężeń (100 i 1000 mg/L) na badane parametry oraz neutralny lub nieznacznie pozytywny (nie w sposób istotny statystycznie) wpływ niższych stężeń (0,1, 1 i 10 mg/L). Z kolei Mahmoud i in. [432] sprawdzili łączny wpływ tlenku cynku i tlenku żelaza (o stężeniach odpowiednio 60 i 50 mg/L) na plon i parametry biometryczne rzodkwi zwyczajnej w testach polowych. Wykazali oni pozytywny wpływ jednoczesnej stymulacji tymi nanocząstkami na morfologię roślin oraz ich zawartość składników odżywczych.

Podsumowując wyniki przeprowadzonych badań można stwierdzić, że spośród badanych bioproduktów najkorzystniejszy wpływ na kiełkowanie nasion i parametry wzrostu roślin miał ekstrakt algowy otrzymany z *Cladophora glomerata*, jednak nanocząstki (zarówno tlenku cynku, jak i tlenku miedzi) wpłynęły korzystniej na zawartość chlorofilu w liścieniach. Żaden z badanych produktów nie wykazywał działania fitotoksycznego na rośliny.

5.4.4. Wpływ nanocząstek ZnO biosyntezowanych przy użyciu ekstraktu z brunatnicy *Fucus vesiculosus* na kiełkowanie nasion i wzrost gorczycy białej

Wyniki badań dotyczących wpływu różnych stężeń nanocząstek tlenku cynku (1, 10, 50 i 100 mg/L) biosyntezowanych przy użyciu ekstraktu z *F. vesiculosus* aplikowanych doglebowo (testy Phytotoxkit) i donasiennie (testy doniczkowe) zostały przedstawione w Tabeli 37. Stężenia nanocząstek zostały wybrane na podstawie analizy literaturowej (Tabela 9). Jako dodatkową grupę kontrolną (oprócz wody destylowanej) zastosowano roztwory soli, z której syntezowane były nanocząstki (octan cynku (II) 2-wodny), o tych samych stężeniach co nanocząstki. Badania te, w przeciwieństwie do badań opisywanych w poprzednich rozdziałach, prowadzone były w środowisku glebowym (zestawy Phytotoxkit oraz testy doniczkowe), które w większym stopniu odzwierciedla warunki rzeczywiste.

Tabela 37. Wpływ nanocząstek tlenku cynku biosyntezowanych z użyciem ekstraktu z *Fucus vesiculosus* na kiełkowanie nasion i wzrost siewek gorczycy białej: (a) testy kiełkowania; (b) testy doniczkowe.

(a) Testy kiełkowania w zestawach Phytotoxkit									
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Nanocząstki tlenku cynku				Octan cynku (II) 2-wodny			
		1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L
Procent kiełkowania [%]*	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Długość korzenia [cm]*	4,9	8,9 ^{ab}	2,4	3,4	2,1 ^{ac}	7,6	8,7	8,3 ^{cd}	2,0 ^{bd}
Długość hipokotylu [cm]**	4,9±1,2	4,5±1,6	4,1±1,4	4,8±1,1	4,3±1,6	4,7±1,6	5,2±1,7	5,5±1,5 ^e	4,0±1,4 ^e
Długość epikotylu [cm]*	1,3	1,4	1,5	1,4	1,1	1,5	1,5	1,6	1,1
Długość części nadziemnej [cm]*	5,5	6,2	5,3	6,4	5,2	6,7	7,1	7,2 ^f	4,9 ^f
Świeża masa korzenia [g]**	0,129±0,063	0,067±0,007	0,063±0,006	0,047±0,016	0,030±0,028	0,039±0,031	0,032±0,043	0,059±0,027	0,059±0,027
Świeża masa części nadziemnej [g]*	0,719±0,051	0,618±0,030	0,700±0,005	0,797±0,153	0,631±0,070	0,659±0,289	0,790±0,105	0,712±0,059	0,570±0,071
Chlorofil (SPAD) [–]*	34,2	33,6	36,2	32,4	36,9	35,2	27,5	31,8	24,2

(b) Testy doniczkowe							
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Nanocząstki tlenku cynku			Octan cynku (II) 2-wodny		
		1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L
Procent kiełkowania [%]*	83	89	100	72	83	83	61
Długość hipokotylu [cm]*	2,2 ^{ab}	2,4 ^{cde}	1,5 ^{cf}	1,2 ^{adg}	1,6	2,2 ^{fgh}	1,2 ^{beh}
Długość epikotylu [cm]*	2,3 ^{ijk}	1,8	1,6 ⁱ	1,4 ^j	1,9	2,1 ^l	1,2 ^{kl}
Długość części nadziemnej [cm]*	4,1 ^{mn}	3,8 ^{op}	3,2	2,5 ^{moq}	3,7	4,1 ^{qr}	2,3 ^{npr}
Świeża masa części nadziemnej [g]**	1,100±0,517	0,737±0,092	0,793±0,187	0,572±0,207	0,815±0,243	0,862±0,400	0,387±0,111
Chlorofil (SPAD) [–]*	31,4	30,9	32,2	32,2	28,3 st	33,1 ^s	35,7 ^t

a, b, c, ... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji roztworem nanocząstek ani roztworem soli

Analizując wyniki z testów kiełkowania nasion gorczycy białej, przeprowadzonych w zestawach Phytotoxkit i przedstawionych w Tabeli 37a można stwierdzić, że stężenie zastosowanych nanocząstek lub roztworu soli octanu cynku (II) 2-wodnego nie miało wpływu na procent kiełkowania nasion gorczycy białej. Parametr ten był taki sam dla wszystkich badanych grup, a jego wartość wynosiła 100%.

Pozytywny wpływ na długość korzenia gorczycy białej zaobserwowano dla stymulacji roztworem nanocząstek o stężeniu 1 mg/L (8,9 cm) oraz roztworami soli o stężeniach 1-50 mg/L (7,6-8,7 cm) w porównaniu do wody destylowanej (4,9 cm). Z kolei dla nanocząstek o stężeniach 10-100 mg/L oraz soli o stężeniu 100 mg/L otrzymano spadek wartości tego parametru (odpowiednio 2,1-3,4 cm oraz 2,0 cm). Dodatkowo zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami stymulowanymi stężeniem 1 mg/L nanocząstek i stężeniem 50 mg/L soli (dwie najlepsze grupy) a stężeniami 100 mg/L obu produktów (dwie najslabsze grupy). Na podstawie tych wyników można wnioskować, iż w przypadku stosowania stymulacji wzrostu korzeni gorczycy białej z użyciem cynku, nanocząstki mogą pozwolić na uzyskanie pożądanego efektu przy niższym stężeniu niż przy stosowaniu soli.

Długość hipokotyli nieznacznie zmalała dla stymulacji gorczycy białej nanocząstkami tlenku cynku (4,1-4,8 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (woda destylowana) (4,9 cm). W przypadku stymulacji roztworem soli organicznej, parametr ten wzrastał wraz ze wzrostem stężenia tego roztworu, aż do 50 mg/L (4,7-5,5 cm), ale zmalał dla stężenia 100 mg/L (4,0 cm). Różnice w długości hipokotyli pomiędzy grupami traktowanymi stężeniami soli 50 mg/L a 100 mg/L były istotne statystycznie. Długość epikotyli gorczycy nieznacznie wzrosła podczas stymulacji roztworami nanocząstek i soli o stężeniach 1-50 mg/L (odpowiednio 1,4-1,5 cm i 1,5-1,6 cm) w porównaniu z wodą destylowaną (1,3 cm), ale zmalała dla stymulacji tymi produktami o stężeniu 100 mg/L (1,1 cm dla obu). Długość części nadziemnej gorczycy była wyższa dla stężeń 1 mg/L (6,2 cm) i 50 mg/L (6,4 cm) nanocząstek, ale niższa dla stężeń 10 mg/L (5,3 cm) i 100 mg/L (5,2 cm) niż dla wody destylowanej (5,5 cm). Natomiast dla roztworów soli, podobnie jak długość hipokotyli, długość części nadziemnej wzrastała wraz ze stężeniem tego roztworu aż do 50 mg/L (6,7-7,2 cm), ale zmalała dla stężenia 100 mg/L (4,9 cm). Dla tego parametru również zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami traktowanymi stężeniami soli 50 i 100 mg/L.

Świeża masa korzenia gorczycy zmalała dla każdej testowanej grupy doświadczalnej przynajmniej 2-krotnie, a w przypadku najwyższego stężenia nanocząstek aż 4-krotnie w porównaniu do grupy kontrolnej z wodą destylowaną (0,129 g). Oznacza to, że mimo iż

niektóre stężenia nanocząstek i roztworów soli wpłynęły pozytywnie na długość korzenia, wszystkie wpłynęły negatywnie na jego masę (2-4 krotny spadek względem grupy kontrolnej).

Dla świeżej masy części nadziemnej gorczycy nie zaobserwowano znacznych zmian porównując wartości tego parametru uzyskane dla roztworów nanocząstek (0,619-0,797 g) i dla wody destylowanej (0,719 g). Z kolei roztwór soli o najwyższym stężeniu (100 mg/L) spowodował znaczny spadek świeżej masy siewek (0,570 g), jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie.

Zastosowanie różnych stężeń roztworów nanocząstek w testach Phytotoxkit nie wpłynęło znacząco na zawartość chlorofilu w liścieniach (miernik SPAD 32,4-36,9) w porównaniu z grupą kontrolną, w której stosowano tylko wodę destylowaną (34,2). Natomiast zastosowanie soli o wyższych stężeniach (10-100 mg/L) spowodowało spadek tego parametru (24,2-31,8).

Na podstawie wyników przedstawionych w Tabeli 37a stwierdzono, iż badane nanocząstki tlenku cynku zastosowane w stężeniu 100 mg/L wykazywały działanie fitotoksyczne wobec siewek gorczycy białej – stymulacja roztworem nanocząstek o tym stężeniu wpłynęła negatywnie na wszystkie badane parametry, z wyjątkiem zawartości chlorofilu w liścieniach. Z tego powodu w kolejnym etapie testów (w testach doniczkowych) zastosowano jedynie stężenia z zakresu 1-50 mg/L – Tabela 37b.

W przypadku testów doniczkowych, niższe stężenia nanocząstek (1-10 mg/L) wpłynęły pozytywnie na procent kiełkowania nasion gorczycy (89-100%), zaś stężenie 50 mg/L negatywnie (72%) w porównaniu z grupą kontrolną z wodą destylowaną (83%). Dodatkowo wartości otrzymane dla stymulacji kiełkowania nasion roztworami nanocząstek były wyższe niż wartości otrzymane dla odpowiadających im stężeń roztworów soli octanu cynku (II) 2-wodnego (61-83%).

Długość hipokotyli gorczycy wzrosła nieznacznie w przypadku stymulacji z użyciem roztworu nanocząstek o stężeniu 1 mg/L (2,4 cm) w porównaniu do grupy kontrolnej z wodą destylowaną (2,2 cm), zaś dla pozostałych stężeń (10-50 mg/L) zmalała (1,2-1,1 cm). Parametr ten zmalał także dla grup, w których stosowano stężenia roztworów soli 1 i 50 mg/L (odpowiednio 1,6 i 1,2 cm) oraz pozostał bez zmian dla stężenia 10 mg/L. Pomiedzy grupą kontrolną z wodą destylowaną, a grupami stymulowanymi obydwoma roztworami o stężeniu 50 mg/L zaobserwowano różnice istotne statystycznie. Długość epikotyli gorczycy zmalała dla wszystkich badanych stężeń roztworów, zarówno nanocząstek (1,4-1,8 cm) jak i soli (1,2-2,1 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (2,3 cm). Długość części nadziemnej gorczycy zmalała

zarówno dla stymulacji roztworami nanocząstek o wszystkich stężeniach (2,5-3,8 cm), jak i roztworami soli o stężeniach 1 i 50 mg/L (odpowiednio 3,7 i 2,3 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (4,1 cm). Wartość tego parametru przy stymulacji roztworem soli o stężeniu 10 mg/L nie uległa zmianie. Ponadto, pomiędzy obydwooma badanymi produktami o stężeniu 50 mg/L a grupą kontrolną wystąpiły różnice istotne statystycznie.

Wartość świeżej masy części nadziemnej gorzycy zmalała zarówno po zastosowaniu stymulacji nanocząstkami (0,572-0,793 g), jak i roztworem soli (0,387-0,815 g) w porównaniu z grupą kontrolną (1,100 g). Szczególnie negatywnie wpłynęło na ten parametr stężenie 50 mg/L, gdyż dla nanocząstek zmalał on 1,9-krotnie, a dla soli aż 2,8-krotnie.

Zawartość chlorofilu w liściach gorzycy nie ulegała znacznym zmianom po stymulacji nanocząstkami (miernik SPAD 30,9-32,2) w porównaniu do wody destylowanej (31,4). Z kolei w przypadku stymulacji roztworem octanu cynku wartość tego parametru zmalała dla stężenia 1 mg/L (28,3) i wzrosła dla obu wyższych stężeń (33,1-35,7). Różnice pomiędzy grupami stymulowanymi stężeniem 1 mg/L, a stężeniami 10 i 50 mg/L były istotne statystycznie.

W dostępnych źródłach literaturowych nie znaleziono badań dotyczących wpływu nanocząstek metali lub tlenków metali na kiełkowanie nasion i wzrost gorzycy białej, ale istnieją badania potwierdzające pozytywny wpływ nanocząstek zawierających cynk na inne rośliny z rodziny kapustowatych, np. na rzodkiewkę (nanocząstki tlenku cynku) [355] lub na kapustę (nanocząstki siarczku cynku) [358].

Podsumowując wyniki przedstawione w Tabeli 37b, pomimo iż stężenie 10 mg/L wpłynęło najkorzystniej na procent kiełkowania nasion gorzycy białej w testach doniczkowych, najlepszym stężeniem okazało się stężenie 1 mg/L, gdyż wpłynęło korzystniej na długość hipokotyli. Jednak ze względu na spadek wartości epikotyli i części nadziemnej rośliny oraz masy części nadziemnej dla wszystkich badanych stężeń, konieczne byłoby przeprowadzenie dalszych badań, stosując niższe stężenia, przed rozważeniem możliwości wprowadzenia tych nanocząstek do użytku jako stymulatorów wzrostu roślin. Ponadto stężenie 50 mg/L, które podczas testów w zestawach Phytotoxkit wpłynęło pozytywnie na część mierzonych parametrów, podczas testów doniczkowych okazało się być fitotoksyczne wobec gorzycy białej (wpłynęło negatywnie na wszystkie parametry, z wyjątkiem zawartości chlorofilu w liściach).

5.4.5. Wpływ nanocząstek ZnO i CuO biosyntezyowanych przy użyciu ekstraktu z zielenicy *Enteromorpha* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost gorczycy białej oraz zawartość cynku i miedzi w części nadziemnej roślin

Wyniki badań dotyczących wpływu nanocząstek ZnO i CuO o różnych stężeniach (1, 10, 50 i 100 mg/L) biosyntezyowanych z użyciem ekstraktu z *Enteromorpha* sp. (aplikacja doglebowa) na kiełkowanie nasion i wzrost siewek gorczycy białej w testach doniczkowych przedstawiono w Tabeli 38. Stężenia nanocząstek zostały wybrane na podstawie analizy literaturowej (Tabela 9) oraz poprzednich badań (Rozdział 5.4.4). Jako dodatkowe grupy kontrolne (oprócz wody destylowanej) zastosowano także roztwory soli, z których syntezyowane były nanocząstki (octan cynku (II) 2-wodny i octan miedzi (II) 1-wodny), o tych samych stężeniach co nanocząstki. Badania dla obu rodzajów nanocząstek były prowadzone jednocześnie, ale dla większej przejrzystości tabela przedstawiająca wyniki zostało podzielona na dwie części. Grupa kontrolna (woda destylowana) jest taka sama w obu częściach tabeli.

Tabela 38. Wpływ nanocząstek biosyntezowanych z użyciem ekstraktu z *Enteromorpha* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost siewek gorczycy białej: (a) nanocząstki tlenku cynku; (b) nanocząstki tlenku miedzi.

(a) Nanocząstki tlenku cynku – testy doniczkowe									
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Nanocząstki tlenku cynku				Octan cynku (II) 2-wodny			
		1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L
Procent kiełkowania [%]*	89	100	89	100	89	100	89	89	100
Długość hipokotylu [cm]*	5,2 ^a	6,5 ^{abcdef}	6,1 ^{ghi}	5,9 ^j	5,4	5,6	6,0 ^k	5,6	6,3 ^{lmn}
Długość epikotylu [cm]*	2,7	2,8	2,7	2,7	2,7	2,6	2,8	2,8	2,8
Długość części nadziemnej [cm]*	7,6	9,5 ^{rst}	8,8 ^u	8,4	8,1	8,3	9,0 ^v	8,4	9,3 ^{wx}
Świeża masa części nadziemnej [g]**	0,981±0,443 ^z	1,54±0,18	1,36±0,10	1,48±0,04	1,52±0,17	1,58±0,15	1,45±0,32	1,63±0,06 ^z	1,44±0,06
Chlorofil (SPAD) [–]*	22,2	23,3	21,5	22,2	20,2	23,8	22,5	23,1	23,2

(b) Nanocząstki tlenku miedzi – testy doniczkowe									
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Nanocząstki tlenku miedzi				Octan miedzi (II) 1-wodny			
		1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	1 mg/L	10 mg/L	50 mg/L	100 mg/L
Procent kiełkowania [%]*	89	89	100	100	100	100	89	100	100
Długość hipokotylu [cm]*	5,2 ^a	5,8 ^{opq}	5,8	5,7	5,3 ^b	4,7 ^{cgl}	4,6 ^{dhmp}	5,1 ^e	4,3 ^{fijknq}
Długość epikotylu [cm]*	2,7	2,9	2,8	2,7	2,8	2,8	3,0	3,0	2,7
Długość części nadziemnej [cm]*	7,6	8,7 ^y	8,4	8,2	8,3	7,4 ^{rw}	7,9 ^s	7,9	7,1 ^{tuvsxy}
Świeża masa części nadziemnej [g]**	0,981±0,443 ^z	1,56±0,13	1,49±0,17	1,59±0,15	1,26±0,14	1,24±0,08	1,47±0,22	1,29±0,19	1,08±0,42
Chlorofil (SPAD) [–]*	22,2	22,5	21,6	22,1	22,1	22,0	22,0	23,0	21,3

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji roztworem nanocząstek ani roztworem soli

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 38 można zauważyć, iż stymulacja nanocząstkami tlenku cynku i nanocząstkami tlenku miedzi biosyntezyowanymi z użyciem ekstraktu z *Enteromorpha* sp. nie miała istotnego wpływu na procent kiełkowania nasion gorczycy białej. Porównując te wyniki z tymi opisanymi w Rozdziale 5.4.4, dotyczącymi stymulacji kiełkowania nasion gorczycy nanocząstkami tlenku cynku biosyntezyowanymi z zastosowaniem ekstraktu z *F. vesiculosus* można stwierdzić, iż nanocząstki z *Enteromorpha* sp. wykazywały mniejszą toksyczność nawet w wyższych stężeniach (przy stężeniu 50 mg/L nanocząstki tlenku cynku z *F. vesiculosus* wpłynęły negatywnie na procent kiełkowania), co może wynikać z różnic w składzie chemicznym nanocząstek (Rozdział 5.3).

Długość hipokotylu wzrosła zarówno dla stymulacji nasion nanocząstkami tlenku cynku (5,4-6,5 cm), jak i nanocząstkami tlenku miedzi (5,3-5,8 cm) w porównaniu z grupą podlewaną tylko wodą destylowaną (5,2 cm). W przypadku obu grup najkorzystniej wypadło najniższe stężenie, a długość hipokotylu malała wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek. W przypadku nanocząstek tlenku cynku o stężeniach 1-50 mg/L oraz nanocząstek tlenku miedzi o wszystkich stężeniach otrzymane wyniki były wyższe niż wyniki dla odpowiadających im stężeń octanu miedzi. Najwyższą wartość hipokotylu uzyskano dla stymulacji 1 mg/L roztworu nanocząstek tlenku cynku – różnice pomiędzy tą grupą a wodą destylowaną, najwyższym stężeniem nanocząstek tlenku miedzi oraz wszystkimi stężeniami octanu miedzi były istotne statystycznie. Długość epikotylu nie uległa istotnym zmianom przy stymulacji nasion badanymi stężeniami nanocząstek (2,7-2,9 cm) oraz soli (2,6-3,0 cm) w porównaniu z grupą kontrolną (2,7 cm). Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy żadnymi grupami dla tego parametru. Długość części nadziemnej gorczycy wzrosła dla wszystkich stosowanych stężeń nanocząstek tlenku cynku i nanocząstek tlenku miedzi oraz octanu cynku, a także dla stężeń 10 i 50 mg/L octanu miedzi. Podobnie jak dla długości hipokotylu, dla długości części nadziemnej, najlepszą grupą okazało się stężenie 1 mg/L nanocząstek tlenku cynku. Porównując te wyniki z wynikami dotyczącymi stymulacji kiełkowania nasion gorczycy nanocząstkami tlenku cynku biosyntezyowanymi z zastosowaniem ekstraktu z *F. vesiculosus* (Rozdział 5.4.4) można zauważyć, że nanocząstki z *Enteromorpha* sp. syntezowane z użyciem tej samej metody miały znacznie lepszy wpływ na długość roślin (nanocząstki z *F. vesiculosus* wpłynęły pozytywnie jedynie na długość epikotylu).

Świeża masa części nadziemnej gorczycy wzrosła dla wszystkich zastosowanych metod stymulacji (1,36-1,54 g dla nanocząstek tlenku cynku, 1,26-1,59 g dla nanocząstek tlenku miedzi, 1,44-1,63 g dla octanu cynku, 1,08-1,47 g dla octanu miedzi) w porównaniu z grupą

kontrolną (0,98 g). W przypadku nanocząstek tlenku cynku o stężeniu 100 mg/L oraz nanocząstek tlenku miedzi o wszystkich stężeniach masa części nadziemnej otrzymana dla grup stymulowanych nanocząstkami była wyższa niż dla grup stymulowanych odpowiadającymi im stężeniami soli. Dla tego parametru również można zauważyć odwrotne rezultaty niż dla wcześniej badanych nanocząstek biosyntezy z użyciem ekstraktu z *F. vesiculosus*, dla których zaobserwowano negatywny wpływ wszystkich badanych stężeń na świeżą masę części nadziemnej.

Żaden z badanych produktów nie miał istotnego wpływu na zawartość chlorofilu w liściach gorczycy białej, podobnie jak to miało miejsce dla wyników opisywanych w Rozdziale 5.4.4. Najlepsze rezultaty otrzymano dla stężenia 1 mg/L octanu cynku (miernik SPAD 23,8) i dla stężenia 1 mg/L nanocząstek tlenku cynku (23,3), jednak wyniki te nie różniły się znacząco od grupy kontrolnej (22,2).

Opisane badania wykazały pozytywny wpływ wytworzonych nanocząstek na badane parametry biometryczne gorczycy białej. Nanocząstki jednak mogą akumulować się w środowisku naturalnym (w glebie) i w roślinach, przez co pomimo korzystnego wpływu na ich wzrost, mogą sprawić, że roślina taka stanie się nienadająca do spożycia ze względu na zbyt dużą zawartość mikroelementów jakimi są cynk i miedź [133]. W celu sprawdzenia akumulacji cynku i miedzi w badanych roślinach wykonano analizę wielopierwiastkową techniką ICP-OES części nadziemnej roślin (Tabela 39).

Tabela 39. Wyniki analizy wielopierwiastkowej dotyczącej zawartości cynku oraz miedzi w części nadziemnej gorzycy białej oraz w glebie przed i po testach doniczkowych

Badana grupa		Zawartość cynku w roślinie [mg/kg s.m.]	Zawartość miedzi w roślinie [mg/kg s.m.]
Woda destylowana		211±15	21,4±1,5
Nanocząstki tlenku cynku	1 mg/L	217±5	-
	10 mg/L	229±1	-
	50 mg/L	235±16	-
	100 mg/L	307±14	-
Octan cynku (II) 2-wodny	1 mg/L	205±5	-
	10 mg/L	276±11	-
	50 mg/L	305±5	-
	100 mg/L	445±27	-
Nanocząstki tlenku miedzi	1 mg/L	-	13,2±1,1
	10 mg/L	-	14,5±1,0
	50 mg/L	-	19,4±0,8
	100 mg/L	-	28,5±1,8
Octan miedzi (II) 1-wodny	1 mg/L	-	19,4±1,3
	10 mg/L	-	20,9±0,5
	50 mg/L	-	29,0±0,5
	100 mg/L	-	38,7±1,2

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 39 można zauważyć, stężenie cynku w roślinach dla nanocząstek o stężeniach 1-50 mg/L (217-235 mg/kg s.m.) i dla octanu cynku o stężeniu 1 mg/L (205 mg/kg s.m.) nie wzrosło znacznie w porównaniu do grupy kontrolnej (211 mg/kg s.m.). Z kolei stężenie miedzi w roślinach dla nanocząstek o stężeniach 1-50 mg/L (13,2-19,4 mg/kg s.m.) i octanu miedzi o stężeniach 1-10 mg/L (19,4-20,9 mg/kg s.m.) nie przekroczyło wartości uzyskanych dla grupy kontrolnej (21,4 mg/kg s.m.). Oznacza to, że miedź, zwłaszcza aplikowana w niższych stężeniach, akumulowała się głównie w glebie lub korzeniach, a nie w części nadziemnej roślin.

Podsumowując badania dotyczące wpływu nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi biosyntezowanych z użyciem ekstraktu z *Enteromorpha* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost siewek gorzycy białej można stwierdzić, iż najkorzystniejszym stężeniem w przypadku obu rodzajów nanocząstek było 1 mg/L. Dla nanocząstek tlenku cynku stężenie to umożliwiło osiągnięcie najwyższych wartości wszystkich badanych parametrów. W przypadku nanocząstek tlenku miedzi, dla stężenia 50 mg/L uzyskano większą świeżą masę części nadziemnej, a także większy procent kiełkowania, jednak pozostałe parametry były wyższe przy stymulacji stężeniem 1 mg/L.

5.4.6. Wpływ stałego pola magnetycznego i ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej

Badania dotyczące wpływu jednoczesnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon* z wykorzystaniem stałego pola magnetycznego i ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* zostały poprzedzone badaniami dotyczącymi wyboru najlepszego stężenia ekstraktu (20, 40, 60, 80 i 100%) oraz metody aplikacji (do podłoża, donasiennie lub dolistnie) (Tabela 40).

Tabela 40. Wpływ ekstraktu z *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej: (a) aplikacja do podłoża; (b) aplikacja donasienna; (c) aplikacja dolistna

(a) Aplikacja do podłoża						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%]*	84	84	84	92	92	84
Długość korzenia [cm]*	7,4	7,7	6,2	8,0	6,5	7,3
Długość hipokotylu [cm]*	2,7 ^{abc}	3,2 ^{de}	3,3 ^f	4,2 ^{adfg}	3,7 ^{bg}	3,7 ^{ce}
Długość epikotylu [cm]*	1,3 ^{hijk}	1,5 ^l	1,6 ^h	1,8 ^{il}	1,7 ^k	1,6 ^l
Długość części nadziemnej [cm]*	4,2 ^{mnp}	4,7 ^{qrs}	4,9 ^{mt}	5,8 ^{nqt}	5,4 ^{or}	5,3 ^{ps}
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,88	2,53	2,37	2,53	2,41	2,07
Chlorofil (SPAD) [-]*	46,8	48,0	50,3	48,3	51,5	49,0

(b) Aplikacja donasienna						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%]*	63	55	61	63	51	63
Długość korzenia [cm]*	5,7	6,7	5,8	6,2	7,0	6,2
Długość hipokotylu [cm]*	2,2 ^{ab}	2,1 ^{cd}	2,7 ^{ac}	2,5	2,5	2,7 ^{bd}
Długość epikotylu [cm]*	1,2	1,2 ^e	1,2	1,2	1,3	1,4 ^e
Długość części nadziemnej [cm]**	3,4±0,8 ^{fgh}	3,4±0,8 ^{ijk}	4,0±1,0 ^{fi}	3,8±1,1	3,9±1,0 ^{gj}	4,2±0,8 ^{hk}
Świeża masa części nadziemnej [g]**	1,77±0,31	1,35±0,19	1,43±0,05	1,61±0,38	1,74±0,30	1,66±0,36
Chlorofil (SPAD) [-]*	42,0	47,1	47,9	47,8	43,9	45,9

(c) Aplikacja dolistna						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%] *	64	71	71	71	68	62
Długość korzenia [cm] *	6,2	6,1 ^a	5,8	4,7 ^{ab}	5,5	6,7 ^b
Długość hipokotylu [cm] **	2,9±0,8 ^{cdef}	3,3±0,9 ^{ghij}	3,8±1,1 ^{cg}	4,3±1,2 ^{dh}	3,9±1,0 ^{ei}	3,9±1,0 ^{fj}
Długość epikotylu [cm] *	1,4 ^{klmn}	1,5 ^{opq}	1,6 ^{kr}	1,9 ^{lo}	2,0 ^{mpr}	1,9 ^{nq}
Długość części nadziemnej [cm] *	4,4 ^{stuv}	4,8 ^{wxyz}	5,6 ^{sw}	6,1 ^{tx}	5,8 ^{uy}	5,7 ^{vz}
Świeża masa części nadziemnej [g] **	1,75±0,05 ^{a'b'c'd'e'}	2,27±0,13 ^{a'f'}	2,69±0,18 ^{b'}	2,93±0,29 ^{c't'g'}	2,62±0,19 ^{d'}	2,52±0,60 ^{e'g'}
Chlorofil (SPAD) [-] **	43,4±9,2	47,8±10,0	50,1±10,4 ^{h'}	49,7±10,1 ^{i'}	47,4±9,4	42,1±9,0 ^{h'i'}

a, b, c, ... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym

Porównując wyniki przedstawione w Tabeli 40a-c można zauważyć, że w przypadku aplikacji ekstraktu z *C. glomerata* do podłoża najwyższy procent kiełkowania nasion rzodkwi otrzymano dla stężeń 60 i 80% (wzrost o 8% w porównaniu do grupy kontrolnej), w przypadku aplikacji donasiennej żadne stężenie ekstraktu nie umożliwiło poprawy tego parametru, a w przypadku aplikacji dolistnej wszystkie stężenia oprócz najwyższego (100%) wpłynęły pozytywnie na procent kiełkowania, w szczególności stężenia 20-60% (wzrost o 7% w porównaniu do grupy kontrolnej).

Największą wartość długości korzenia dla aplikacji do podłoża otrzymano dla stężenia 60% (dłuższy o 8% niż dla grupy kontrolnej), dla donasiennej dla stężenia 80% (dłuższy o 23% niż dla grupy kontrolnej), a dla dolistnej dla stężenia 100% (dłuższy o 8% niż dla grupy kontrolnej).

Długość hipokotyli podczas stymulacji nasion ekstraktem algowym aplikowanym do podłoża wzrosła aż o 56%, a aplikowanym dolistnie o 48% w porównaniu do grupy kontrolnej (w obu przypadkach dla stężenia 60%). Natomiast dla ekstraktu aplikowanego donasienne długość hipokotyli wzrosła tylko o 23% (dla stężeń 40 i 100%). Długość epikotyli wzrosła o 38%, 17% i 43%, odpowiednio dla aplikacji do podłoża (stężenie ekstraktu 60%), aplikacji donasiennej (stężenie 100%) i aplikacji dolistnej (stężenie 80%). Z kolei długość całej części nadziemnej rzodkwi wzrosła o 38%, 19% i 32%, odpowiednio dla aplikacji do podłoża (stężenie ekstraktu 60%), aplikacji donasiennej (stężenie ekstraktu 100%) i aplikacji dolistnej (stężenie ekstraktu 80%). Różnice pomiędzy najwyższą otrzymaną wartością dla grup eksperymentalnych a wartością otrzymaną dla grupy kontrolnej dla każdego z tych parametrów i dla każdej metody stymulacji były istotne statystycznie. Zarówno aplikacja do podłoża, jak i dolistna umożliwiły wzrost wszystkich opisanych parametrów długości rośliny (hipokotyli, epikotyli i części nadziemnej) dla każdego z badanych stężeń. W przypadku aplikacji donasiennej stężenie 20% spowodowało nieznaczny spadek długości hipokotyli oraz brak poprawy pozostałych dwóch parametrów, a dla stężeń poniżej 80% nie zaobserwowano wzrostu długości epikotyli w porównaniu do grupy kontrolnej.

Świeża masa części nadziemnej wzrosła dla wszystkich badanych stężeń podczas aplikacji do podłoża (największy wzrost dla stężeń 20 i 60% – o 35% w porównaniu do grupy kontrolnej) i dolistnej (największy wzrost dla stężenia 60% – o 67% w porównaniu do grupy kontrolnej), zaś spadła podczas aplikacji donasiennej. Dla aplikacji dolistnej zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy najwyższą otrzymaną masą a masą otrzymaną dla grupy kontrolnej.

Zawartość chlorofilu w liściach wzrosła dla wszystkich zastosowanych stężeń i metod aplikacji w porównaniu z grupą kontrolną. W przypadku aplikacji do podłoża najwyższą wartość tego parametru otrzymano dla stężenia 80% (wzrost o 10% w porównaniu do grupy kontrolnej). Natomiast dla aplikacji donasiennej i dolistnej najwyższą wartość otrzymano dla stężenia 40% (wzrost o odpowiednio 14% i 16% w porównaniu do grupy kontrolnej).

Podsumowując zebrane wyniki, aplikacja ekstraktu algowego do podłoża wypadła najkorzystniej w przypadku procentu kiełkowania nasion oraz długości hipokotylu i części nadziemnej. Aplikacja donasienna wpłynęła najkorzystniej na długość korzenia, jednak wpłynęła negatywnie na masę części nadziemnej. Pozostałe parametry wypadły najlepiej dla aplikacji dolistnej (długość epikotylu, świeża masa części nadziemnej, zawartość chlorofilu w liściach). Na podstawie tych wyników jako najlepszą metodę aplikacji, którą zastosowano w kolejnym etapie testów, wybrano aplikację do podłoża, gdyż w przypadku rzodkwi zwyczajnej szczególnie ważnym parametrem jest długość hipokotylu (hipokotyl stanowi jadalną część tej rośliny). Najlepszym stężeniem dla tej metody aplikacji było 60% – dla tego stężenia otrzymano największy wzrost większości badanych parametrów (z wyjątkiem zawartości chlorofilu w liściach. Podobnie, w badaniach opisanych w Rozdziale 5.4.3 dotyczących wpływu ekstraktu z *C. glomerata* (otrzymywanego przy użyciu homogenizatora UP50H) na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej, również stężenie 60% zostało wybrane jako najlepsze.

Wyniki dotyczące wpływu jednoczesnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon* z wykorzystaniem stałego pola magnetycznego (indukcja magnetyczna – 250 i 500 mT, czas stymulacji – 3 i 12 min) i ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* (60%, aplikacja do podłoża/ doglebowa) zostały przedstawione w Tabeli 41. Parametry stałego pola magnetycznego wybrano na podstawie analizy literaturowej (Tabela 2).

Tabela 41. Wpływ jednoczesnej stymulacji stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost roślin rzodkwi zwyczajnej: (a) testy kiełkowania; (b) testy doniczkowe

(a) Testy kiełkowania (szalkowe)										
Mierzony parametr	Grupa kontrolna					Ekstrakt 60%				
	Indukcja magnetyczna i czas stymulacji stałym polem magnetycznym									
	Brak stymulacji	250 mT 3 min	500 mT 3 min	250 mT 12 min	500 mT 12 min	Brak stymulacji	250 mT 3 min	500 mT 3 min	250 mT 12 min	500 mT 12 min
Procent kiełkowania [%]*	72	80	84	82	76	84	78	84	90	80
Długość korzenia [cm]*	5,3	4,7	5,5	5,0	4,2 ^a	4,2 ^b	6,2 ^{abcd}	4,8 ^c	5,6	4,4 ^d
Długość hipokotylu [cm]*	2,2 ^{efghi}	2,5 ^{ijklmn}	2,3 ^{opqrs}	2,8 ^{tuvwx}	2,5 ^{yzab'c'}	3,4 ^{ejoty}	3,7 ^{fkpuz}	3,3 ^{glqva'}	3,5 ^{hmrwb'}	3,4 ^{insxc'}
Długość epikotylu [cm]*	1,2 ^{d'e'f'g'h'}	1,3 ^{i'j'k'l'm'}	1,3 ^{n'o'p'q'r'}	1,3 ^{s't'u'v'w'}	1,3 ^{x'y'z'a''b''}	1,5 ^{d'i'n's'x'}	1,6 ^{e'j'o't'y'}	1,6 ^{f'k'p'u'z'}	1,7 ^{g'l'q'v'a''}	1,6 ^{h'm'r'w'b''}
Długość części nadziemnej [cm]*	3,5 ^{c''d''e''f''g''}	3,8 ^{h''i''j''k''l''}	3,6 ^{m''n''o''p''q''}	4,0 ^{r''s''t''u''v''}	3,7 ^{w''x''y''z''a'''}	5,2 ^{c''h''m''r''w''}	5,2 ^{d''i''n''s''x''}	4,9 ^{e''j''o''t''y''}	5,0 ^{f''k''p''u''z''}	5,3 ^{g''l''q''v''a'''}
Świeża masa części nadziemnej [g]**	1,30±0,14 b'''c'''	1,58±0,16	1,51±0,21 d'''e'''f'''g'''	1,62±0,16 h'''i'''	1,31±0,17 j'''k'''l'''m'''	2.00±0,29	2,13±0,23 b'''d'''h'''j'''	2,18±0,34 e'''k'''	2,54±0,25 c'''f'''i'''l'''	2,08±0,26 g'''m'''
Chlorofil (SPAD) [–]*	40,2 n'''o'''p'''q'''	45,8 ^{r'''}	42,2 ^{s'''t'''u'''}	48,1	44,3 ^{v'''w'''x'''}	46,5	53,6 ^{n'''s'''v'''}	54,2 o'''r'''t'''w'''	54,2 ^{p'''u'''x'''}	47,9 ^{q'''}

(b) Testy doniczkowe						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna			Ekstrakt 60%		
	Indukcja magnetyczna i czas stymulacji stałym polem magnetycznym					
	Grupa kontrolna	250 mT 3 min	500 mT 3 min	Brak stymulacji	250 mT 3 min	500 mT 3 min
Procent kiełkowania [%]*	100	100	100	100	100	100
Długość hipokotyli [cm]**	5,1±1,5	5,2±1,8	4,0±1,3	4,5±1,5	5,7±1,2	5,0±1,7
Długość epikotyli [cm]**	6,8±1,7	7,0±1,6	6,4±1,1	7,4±1,4	7,3±1,8	5,7±1,8
Długość części nadziemnej [cm]*	11,7	12,0	10,6 ^a	10,9	12,9 ^a	10,6
Masa hipokotyli [g]*	0,0929	0,1101	0,0964	0,0849	0,0910	0,0905
Masa epikotyli [g]**	0,716±0,371	0,682±0,367	0,837±0,345	0,888±0,379	0,774±0,359	0,507±0,287
Masa części nadziemnej [g]**	0,857±0,372	0,829±0,385	0,968±0,337	1,016±0,411	0,894±0,378	0,641±0,320
Ilość liści [-]	4	4	5 ^b	4	4 ^b	4
Chlorofil (SPAD) [-]**	23,0±3,6	23,3±2,8	25,9±6,7	24,1±4,9	23,5±4,2	25,8±5,7
Powierzchnia liścia [cm²]	2,06	2,42	1,96	2,69	2,53	1,17

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym ani czynnikiem fizycznym

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 41a (testy szalkowe) można zauważyć, iż wszystkie stosowane metody stymulacji miały pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion rzodkwi zwyczajnej, w szczególności jednoczesne zastosowanie przedsiewnej stymulacji stałym polem magnetycznym o indukcji magnetycznej 250 mT i czasie stymulacji 12 min i stymulacji 60% ekstraktem algowym. Dla tych warunków uzyskano procent kiełkowania na poziomie 90%, podczas gdy dla grupy kontrolnej jedynie 72%. Dla tego parametru nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami. Są to pierwsze badania dotyczące jednoczesnego wpływu stymulacji ekstraktem algowym i stałym polem magnetycznym (indukcja magnetyczna – 500 i 1000 mT, czas stymulacji – 3, 6 i 12 min) na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej, jednak w badaniach dotyczących innej rośliny z rodziny kapustowatych – marchwi zwyczajnej – również wykazano, że jednoczesna stymulacja ekstraktem z *C. glomerata* i stałym polem magnetycznym nie ma istotnego wpływu na procent kiełkowania nasion [16].

Długość korzenia rzodkwi wzrosła po zastosowaniu stymulacji polem magnetycznym o indukcji 500 mT i czasie stymulacji 3 min (o 4% w porównaniu do grupy kontrolnej), po zastosowaniu jednoczesnej stymulacji polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 3 min i ekstraktem algowym (o 17% w porównaniu do grupy kontrolnej) oraz po zastosowaniu jednoczesnej stymulacji polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 12 min i ekstraktem algowym (o 6% w porównaniu do grupy kontrolnej).

Długość hipokotylu wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Największy wzrost (o 68% w porównaniu do grupy kontrolnej) otrzymano dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 3 min oraz ekstraktem algowym. Podobnie, długości epikotylu i części nadziemnej wzrosły dla wszystkich grup eksperymentalnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Największy wzrost długości epikotylu (o 42%) zaobserwowano dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 12 min oraz ekstraktem algowym, zaś największy wzrost długości części nadziemnej (o 51%) dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 500 mT i czasie stymulacji 12 min oraz ekstraktem algowym. Dla wszystkich trzech parametrów dotyczących długości rośliny zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy wszystkimi grupami stymulowanymi ekstraktem algowym a wszystkimi grupami niestymulowanymi ekstraktem algowym. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami stymulowanymi różnymi parametrami pola magnetycznego.

Świeża masa części nadziemnej rzodkwi wzrosła dla każdej zastosowanej metody stymulacji w porównaniu z grupą kontrolną. Parametr ten osiągnął najwyższą wartość dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 12 min oraz ekstraktem algowym (prawie 2-krotny wzrost w porównaniu do grupy kontrolnej).

Zawartość chlorofilu w liścieniach również wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych, w szczególności dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 500 mT i czasie stymulacji 3 min oraz ekstraktem algowym oraz dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 12 min oraz ekstraktem algowym (wzrost o 35% w porównaniu do grupy kontrolnej dla obu tych grup).

Na podstawie opisanych wyników badań można stwierdzić, iż najlepsze wyniki uzyskano dla grupy eksperymentalnej, w której nasiona stymulowano jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 3 min oraz ekstraktem algowym. Dla tej grupy otrzymano najwyższe wartości długości korzenia, hipokotylu i części nadziemnej spośród wszystkich analizowanych grup. Była ona także na drugim miejscu pod względem długości epikotylu i zawartości chlorofilu w liścieniach oraz trzecim pod względem masy części nadziemnej. Najwyższe wartości dla wszystkich pozostałych parametrów (procent kiełkowania nasion, długość epikotylu, masa części nadziemnej oraz zawartość chlorofilu w liścieniach) otrzymano dla grupy stymulowanej jednocześnie polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 12 min oraz ekstraktem algowym, jednak różnice między tymi dwoma grupami dla wymienionych parametrów były niewielkie. Ponadto w przypadku rzodkwi zwyczajnej najistotniejszymi parametrami są długość hipokotylu (część jadalna) oraz długość korzenia, gdyż mocny system korzeniowy może zwiększyć wchłanianie wody i składników odżywczych poprzez korzenie roślin z gleby [92]. Dodatkowo, 4-krotnie krótszy czas stymulacji polem magnetycznym sprawia, że metoda ta jest bardziej opłacalna z ekonomicznego punktu widzenia, niż gdyby czas stymulacji miał wynosić 12 min.

Podczas testów doniczkowych (Tabela 41b), oprócz jednoczesnej stymulacji polem magnetycznym o indukcji magnetycznej 250 mT i czasie stymulacji 3 min oraz 60% ekstraktem algowym, zastosowano także jednoczesną stymulację polem o indukcji magnetycznej 500 mT i czasie stymulacji 3 min. Były to najlepsze grupy wytypowane z testów kiełkowania, dlatego też postanowiono zweryfikować wyniki uzyskane dla nich w testach

doniczkowych. Dla porównania zastosowano także stymulację każdym z tych czynników (polem magnetycznym i ekstraktem) osobno.

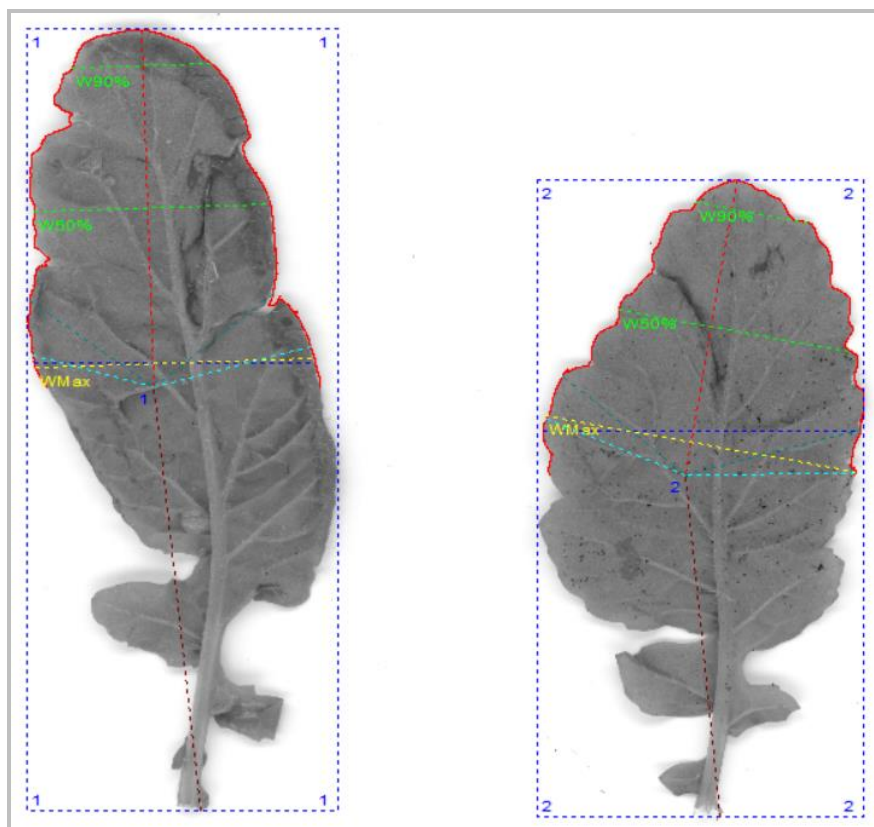
Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 41b można dostrzec, że procent kiełkowania nie różnił się pomiędzy poszczególnymi grupami i wynosił dla wszystkich 100%.

Długość hipokotyli wzrosła w porównaniu do grupy kontrolnej jedynie dla dwóch grup – poddanej stymulacji polem o indukcji magnetycznej 250 mT (wzrost o 2%) oraz poddanej jednoczesnej stymulacji tym samym polem i ekstraktem algowym (wzrost o 12%). Długość epikotyli zmalała jedynie w przypadku stymulacji polem o wyższej indukcji magnetycznej (500 mT). Najwyższą wartość ten parametr osiągnął dla grupy stymulowanej tylko ekstraktem algowym (wzrost o 9% w porównaniu do grupy kontrolnej), zaś na drugim miejscu była grupa poddana jednoczesnej stymulacji polem o indukcji magnetycznej 250 mT oraz ekstraktem algowym (wzrost o 7% w porównaniu do grupy kontrolnej). Długość całej części nadziemnej, podobnie jak długość hipokotyli, wzrosła w porównaniu do grupy kontrolnej jedynie dla grupy poddanej stymulacji polem o indukcji magnetycznej 250 mT (wzrost o 3%) oraz poddanej jednoczesnej stymulacji tym samym polem i ekstraktem algowym (wzrost o 10%).

Masa hipokotyli wzrosła jedynie dla grup stymulowanych samym polem magnetycznym – o 19% w porównaniu do kontroli dla grupy stymulowanej polem o niższej indukcji (250 mT) i o 4% w porównaniu do kontroli dla stymulowanej polem o wyższej indukcji (500 mT). Dla pozostałych grup zaobserwowano niewielki spadek wartości tego parametru (od 2 do 9% w porównaniu do kontroli), jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie. Masa epikotyli oraz masa całej części nadziemnej wzrosły dla grupy stymulowanej polem o indukcji magnetycznej 500 mT (o odpowiednio 17% i 13% w porównaniu do kontroli), dla grupy stymulowanej ekstraktem algowym (o 24% i 19% w porównaniu do kontroli) i dla grupy stymulowanej jednocześnie polem o indukcji magnetycznej 250 mT i ekstraktem algowym (o 8% i 4% w porównaniu do kontroli). Dla pozostałych dwóch grup zaobserwowano spadek wartości tych parametrów, jednak nie wystąpiły różnice istotne statystycznie.

Jedyną metodą stymulacji, która miała wpływ na ilość liści była stymulacja polem o indukcji magnetycznej 500 mT – spowodowała zwiększenie tego parametru o 25%. Zawartość chlorofilu w liściach wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Największy wzrost nastąpił dla grupy stymulowanej polem o indukcji magnetycznej 500 mT (o 13%) oraz dla grupy stymulowanej jednocześnie tym samym polem i ekstraktem algowym (o 12%). Z kolei powierzchnia liści wzrosła w porównaniu do grupy kontrolnej dla grup stymulowanych polem o indukcji magnetycznej 250 mT (o 17%),

ekstraktem algowym (o 31%) oraz obydwoma tymi czynnikami jednocześnie (o 23%). Dla pozostałych dwóch grup powierzchnia liści była niższa niż dla grupy kontrolnej, ale nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie. Przykładowe zdjęcie z programu WinFOLIA obrazujące pomiar powierzchni liści rzodkiewki zostało przedstawione na Rysunku 40.



Rysunek 40. Zdjęcie z systemu do analizy powierzchni liści WinFOLIA wykonane podczas analizy wyników testów doniczkowych wpływu ekstraktu z *C. glomerata* i stałego pola magnetycznego na kiełkowanie i wzrost rzodkiewki zwyczajnej (źródło: K. Dziągowska)

Podsumowując wyniki uzyskane w Tabeli 41b, najlepsze wyniki pod kątem długości hipokotylu i długości części nadziemnej uzyskano dla jednoczesnej stymulacji stałym polem magnetycznym o indukcji 250 mT i ekstraktem z *C. glomerata*. Z kolei pod względem długości epikotylu, masy epikotylu, masy części nadziemnej i powierzchni liści najlepiej wypadła stymulacja samym ekstraktem algowym. Ilość liści i zawartość chlorofilu w liściach były największe dla stymulacji samym stałym polem magnetycznym o indukcji magnetycznej 500 mT. Biorąc pod uwagę wszystkie parametry, najlepszą metodą stymulacji okazała się jednoczesna stymulacja stałym polem magnetycznym o indukcji 250 mT i ekstraktem algowym, gdyż spowodowała wzrost kluczowego parametru – długości hipokotylu, a także zwiększyła wartości większości z pozostałych parametrów. W przypadku roślin o jadalnych liściach, lepszą metodą stymulacji mogłoby być zastosowanie samego ekstraktu lub samego pola magnetycznego o indukcji 500 mT,

gdyż metody te miały większy wpływ na parametry biometryczne związane ze wzrostem liści.

5.4.7. Wpływ ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* i stałego pola magnetycznego na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej

Wyniki badań dotyczących wpływu różnych stężeń ekstraktu z *C. glomerata* (20, 40, 60, 80 i 100%) aplikowanego do podłoża (testy kiełkowania na wałku) na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany *Abelina* przedstawiono w Tabeli 42. Natomiast wyniki badań dotyczących wpływu różnych parametrów przedsiewnej stymulacji nasion soi warzywnej odmiany *Abelina* stałym polem magnetycznym (indukcja magnetyczna – 250 i 500 mT, czas stymulacji 3 i 12 min) przedstawiono w Tabeli 43. Na podstawie wyników tych badań wybrano najlepsze stężenie ekstraktu z *C. glomerata* oraz warunki przedsiewnej stymulacji stałym polem magnetycznym pod kątem wpływu na procent kiełkowania nasion i parametry biometryczne siewek soi warzywnej.

Tabela 42. Wpływ ekstraktu z *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany *Abelina*

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%]*	68 ^{ab}	86 ^a	73	84	88 ^b	80
Długość korzenia [cm]*	13,0	13,8 ^c	13,5	14,7 ^d	12,1 ^{cde}	14,3 ^e
Długość hipokotylu [cm]*	10,6 ^{fg}	11,3 ^{hi}	9,6 ^{fhjkl}	11,3 ^j	11,6 ^{gkm}	10,7 ^{ilm}
Długość epikotylu [cm]*	2,6 ^{no}	3,1 ^{pq}	2,0 ^{nprs}	2,8 ^{rt}	3,0 ^{su}	1,9 ^{oqtu}
Długość części nadziemnej [cm]*	13,6 ^{vwxy}	14,8 ^{vza'}	12,1 ^{wzb'c'}	14,2 ^{b'd'e'}	15,1 ^{xc'd'f'}	12,7 ^{ya'e'f'}
Sucha masa części nadziemnej [g]*	3,39	3,52	3,33	3,31	3,27	3,66
Chlorofil (SPAD) [-]**	26,1±7,2	28,5±10,0	26,2±11,3	27,8±9,2	28,9±11,1	27,5±10,4
Chlorofil <i>a</i> [µg/mL]**	5,16±1,88	5,17±1,83	4,43±1,29	4,74±0,76	5,97±2,08	4,13±1,59
Chlorofil <i>b</i> [µg/mL]**	2,04±0,99	2,54±1,05	2,43±1,14	2,70±0,88	3,16±1,16	1,93±0,90
Chlorofil całkowity [µg/mL]**	7,19±2,86	7,71±2,86	6,86±2,37	7,44±1,53	9,13±3,21	6,06±2,47
Karotenoidy [µg/mL]**	0,360±0,190	0,288±0,215	0,221±0,174	0,168±0,110	0,229±0,115	0,355±0,178

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

Tabela 43. Wpływ przedsewnej stymulacji stałym polem magnetycznym na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany *Abelina*

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stale pole magnetyczne			
		250 mT 3 min	500 mT 3 min	250 mT 12 min	500 mT 12 min
Procent kiełkowania [%]*	84	81	82	79	76
Długość korzenia [cm]*	14,4 ^{ab}	17,1 ^{acd}	16,4 ^{be}	13,8 ^{ce}	14,6 ^d
Długość hipokotylu [cm]*	10,2 ^{fg}	10,5 ^{hi}	10,3 ^{jk}	9,3 ^{fhj}	9,2 ^{gik}
Długość epikotylu [cm]*	1,9 ^l	1,8	2,0 ^{mn}	1,8 ^{lm}	1,8 ⁿ
Długość części nadziemnej [cm]*	12,2 ^{op}	12,5 ^{qr}	12,6 st	11,2 ^{oqs}	11,1 ^{prt}
Sucha masa części nadziemnej [g]**	3,51±0,33	3,56±0,17	3,62±0,09	3,53±0,20	3,70±0,35
Chlorofil (SPAD) [-]*	18,6 ^{uv}	26,0	26,4 ^u	26,7 ^v	24,4
Chlorofil <i>a</i> [µg/mL]**	3,19±0,70 ^w	5,24±0,93 ^w	4,77±2,27	4,70±1,33	4,53±0,91
Chlorofil <i>b</i> [µg/mL]*	1,47	2,67	1,41	1,84	2,36
Chlorofil całkowity [µg/mL]*	4,44 ^x	8,15 ^x	5,65	5,96	7,27
Karotenoidy [µg/mL]*	0,106	0,492	0,327	0,252	0,210

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

Analizując dane przedstawione w Tabeli 42 można zauważyć, iż wszystkie stężenia ekstraktu z *C. glomerata* miały pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion soi warzywnej, w szczególności stężenia 20 i 80%, dla których procent kiełkowania był wyższy o odpowiednio 18 i 20% niż dla grupy kontrolnej. Zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami otrzymanymi przy tych dwóch stężeniach ekstraktu a grupą kontrolną. Do tej pory opublikowano kilka badań dotyczących zastosowania ekstraktu z *C. glomerata* do stymulacji kiełkowania nasion soi warzywnej. Pozytywny wpływ ekstraktu z *C. glomerata* o niższym stężeniu (10%) na kiełkowanie nasion soi warzywnej odmiany Merlin potwierdzili w 2019 r. Michalak i in. (poprawa o 2,4%) [13] oraz Lewandowska i in. (ponad 2-krotne zwiększenie procentu kiełkowania) [17]. W przypadku wcześniej opisanych w niniejszej pracy badań (Rozdział 5.4.1) dotyczących wpływu ekstraktu z *C. glomerata* (zebranej w innym miejscu niż alga zastosowana w badaniach przedstawionych w tym rozdziale) o stężeniu 20% na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany *Abelina* również otrzymano zwiększenie procentu kiełkowania (o 8%) w porównaniu do grupy kontrolnej.

Długość korzenia soi wzrosła dla wszystkich zastosowanych stężeń ekstraktu algowego, z wyjątkiem stężenia 80%. Najwyższą wartość długości korzenia otrzymano dla stymulacji soi ekstraktem o stężeniu 60% (o 13% wyższą niż dla grupy kontrolnej). Pomiedzy wartościami długości korzenia otrzymanymi dla stężenia 80% a dla stężeń 20, 60 i 100% zaobserwowano różnice istotne statystycznie. Wcześniej opisane badania (Rozdział 5.4.1) dotyczące wpływu ekstraktu z *C. glomerata* na wzrost soi warzywnej wykazały negatywny wpływ stężenia 20% na długość korzenia (spadek o 14% w porównaniu do grupy kontrolnej).

Długość hipokotylu wzrosła dla wszystkich zastosowanych stężeń ekstraktu algowego, z wyjątkiem stężenia 40%. Pomiedzy tą grupą a grupą kontrolną zaobserwowano różnice istotne statystycznie. Najwyższą wartość parametr ten osiągnął dla stymulacji soi stężeniem 80% (o 9% wyższą niż dla grupy kontrolnej), dla której zaobserwowano także różnice istotne statystycznie względem grupy kontrolnej. Długość epikotylu wzrosła przy zastosowaniu stymulacji soi stężeniami 20, 60 i 80%, zaś zmalała dla pozostałych testowanych stężeń. Między wartościami otrzymanymi dla grup stymulowanych stężeniami 40 i 100% a wartością otrzymaną dla grupy kontrolnej zaobserwowano różnice istotne statystycznie. Najwyższą wartość (o 19% wyższą niż dla grupy kontrolnej) zaobserwowano dla 20% stężenia ekstraktu. Długość części nadziemnej soi wzrosła dla tych samych stężeń ekstraktu, co dla długości epikotylu (w przypadku stężeń 20 i 80% istotnie statystycznie w odniesieniu do grupy kontrolnej). Wartość tego parametru również zmalała istotnie statystycznie dla stężeń 40

i 100%. Najwyższą wartość długości części nadziemnej otrzymano dla stężenia 80% (o 11% wyższą niż dla grupy kontrolnej). Wcześniej opisane badania (Rozdział 5.4.1) dotyczące wpływu ekstraktu z *C. glomerata* na wzrost soi warzywnej wykazały brak wpływu na długość hipokotyli i epikotyli 20% stężenia ekstraktu algowego. Różnice we wpływie tych ekstraktów na parametry wzrostu soi mogły wpływać z różnego miejsca i czasu zbioru makroalgi.

Sucha masa części nadziemnej soi wzrosła jedynie przy zastosowaniu ekstraktów o stężeniu 20% (o 4%) i 100% (o 8%) w porównaniu do grupy kontrolnej. Dla pozostałych stężeń ekstraktów, wartość tego parametru nieznacznie zmalała, nie zaobserwowano jednak różnic istotnych statystycznie.

Wartość chlorofilu mierzona przy pomocy chlorofilomierza SPAD wzrosła dla wszystkich zastosowanych stężeń ekstraktu, w szczególności dla stężenia 80% (o 11% w porównaniu do grupy kontrolnej). Jednak nie zaobserwowano różnic istotnych dla tego parametru pomiędzy badanymi grupami. W badaniach opisanych w Rozdziale 5.4.1 otrzymano większy wzrost wartości chlorofilu w liścieniach soi warzywnej przy zastosowaniu stymulacji 20% ekstraktem z *C. glomerata* – o 28% w porównaniu do grupy kontrolnej. Z kolei podczas badań prowadzonych w 2019 r. na odmianie soi warzywnej *Merlin*, Michalak i in. zaobserwowali wzrost zawartości chlorofilu w liściach siewek aż o 33% przy zastosowaniu stymulacji ekstraktem 10% z *C. glomerata*. Wartość chlorofilu *a* w liściach siewek, mierzona metodą spektrofotometryczną, wzrosła przy zastosowaniu ekstraktu algowego o stężeniu 80% (o 16%), nie uległa zmianie dla stężenia 20% oraz zmalała dla pozostałych stężeń. Wartość chlorofilu *b* w liściach siewek wzrosła dla stymulacji soi stężeniami z zakresu 20-80% (najwięcej o 55% dla stężenia 80%), a zmalała dla stężenia 100%. Najwyższą zawartość chlorofilu całkowitego również zaobserwowano po zastosowaniu 80% stężenia ekstraktu (o 27% wyższą niż dla grupy kontrolnej). Wzrost wartości tego parametru zaobserwowano również dla stężeń 20 i 60%. Spadek zawartości karotenoidów w liścieniach względem grupy kontrolnej zaobserwowano dla wszystkich grup eksperymentalnych, w szczególności dla grupy stymulowanej ekstraktem o stężeniu 60% (ponad 2-krotny ponad). Dla wszystkich parametrów związanych z zawartością pigmentów w liścieniach soi nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami. Znacznie korzystniejsze rezultaty otrzymano w badaniach opisanych w Rozdziale 5.4.1, gdzie otrzymano ponad 2-krotny wzrost zawartości chlorofilu *a*, *b* i całkowitego oraz prawie 3,5-krotny wzrost zawartości chlorofilu w liścieniach.

Podsumowując wyniki przedstawione w Tabeli 42, najkorzystniejszymi stężeniami ekstraktu z *C. glomerata* pod kątem poprawy badanych parametrów, względem grupy

kontrolnej, okazały się stężenia 20 i 80%. Dla 20% stężenia ekstraktu algowego uzyskano najwyższą wartość długości epikotyli spośród wszystkich badanych stężeń, a także drugą najwyższą wartość procentu kiełkowania nasion, długości hipokotyli, długości części nadziemnej, suchej masy części nadziemnej, chlorofilu *a* i chlorofilu całkowitego. Z kolei dla 80% stężenia ekstraktu algowego otrzymano najwyższe wartości procentu kiełkowania nasion, długości hipokotyli, długości części nadziemnej, zawartości chlorofilu mierzonego przy użyciu chlorofilomierza SPAD oraz chlorofilu *a*, *b* i całkowitego mierzonego metodą spektrofotometryczną. Było to także drugie najlepsze stężenie pod kątem długości epikotyli soi. W związku z tym, te dwa stężenia ekstraktu algowego zostały wybrane do kolejnego etapu testów, polegającego na zastosowaniu łącznej stymulacji ekstraktem algowym z *C. glomerata* i stałym polem magnetycznym kiełkowania nasion i wzrostu siewek soi warzywnej.

Kolejne testy kiełkowania przeprowadzone w ramach tego doświadczenia dotyczyły wpływu stałego pola magnetycznego o różnych wartościach indukcji magnetycznej (250 i 500 mT) i różnym czasie stymulacji (3 i 12 min) na kiełkowanie nasion i wzrost roślin soi warzywnej odmiany *Abelina*. Soja jest najczęściej badanym warzywem pod kątem wpływu stałego pola magnetycznego na jej kiełkowanie i parametry biometryczne, co potwierdzają dane przedstawione w Tabeli 2.

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 43 można zauważyć, iż procent kiełkowania nasion nieznacznie spadł względem grupy kontrolnej po zastosowaniu wszystkich kombinacji parametrów pola magnetycznego, jednak nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie. Brak istotnego wpływu przedświejnej stymulacji nasion polem magnetycznym (20 i 30 mT, 5 h stymulacji powtarzane codziennie przez 5 dni) na kiełkowanie nasion soi potwierdzają także badania przeprowadzone przez Payez i Ghanadi [315]. Z kolei badania innych naukowców wykazywały pozytywny wpływ tego czynnika fizycznego na procent kiełkowania soi dla indukcji magnetycznej z zakresu 100-200 mT i czasu stymulacji 0,5 min [313] oraz indukcji magnetycznej 400 mT i czasu stymulacji z zakresu 3-12 min [13], [17].

Długość korzenia soi wzrosła istotnie statystycznie względem grupy kontrolnej dla 3-minutowej stymulacji stałym polem magnetycznym dla obu zastosowanych wartości indukcji magnetycznej (o 19% dla 250 mT i o 14% dla 500 mT). Wartość tego parametru dla stymulacji 12-minutowej nie uległa znacznym zmianom w porównaniu do grupy kontrolnej. Według danych literaturowych pozytywny wpływ stałego pola magnetycznego na wzrost korzeni soi wykazano także przy stymulacji polem o indukcji z zakresu 2,9-4,6 mT i czasie stymulacji

z zakresu 2,2-19,8 s [284], [288] oraz o indukcji z zakresu 100-200 mT i czasie stymulacji 0,5 min [313].

Długości hipokotyli i części nadziemnej soi nieznacznie wzrosły w porównaniu do grupy kontrolnej przy 3-minutowej przedsiewnej stymulacji nasion polem magnetycznym o obu wartościach indukcji magnetycznej (o odpowiednio 1-3% dla hipokotyli i 2-3% dla części nadziemnej), natomiast zmalały w sposób istotny statystycznie dla 12-minutowej stymulacji (o odpowiednio 9-10% i 8-9%). W przypadku obu czasów stymulacji parametr ten był nieznacznie wyższy przy zastosowaniu niższej indukcji magnetycznej (250 mT). Długość epikotyli wzrosła o 5% w porównaniu do grupy kontrolnej dla stymulacji polem magnetycznym o parametrach 250 mT i 3 min, zaś dla wszystkich pozostałych warunków zmalała o 5%. Pozytywny wpływ bardzo krótkiego czasu przedsiewnej stymulacji nasion (2,2-19,8 s) stałym polem magnetycznym o niskiej indukcji magnetycznej na długość części nadziemnej soi został udowodniony przez Atak i in. w badaniach z 2003 i 2007 r. [284], [288]. Z kolei inne badania dowodzą pozytywnego wpływu na ten parametr także wyższych wartości indukcji magnetycznej (50-300 mT) i czasu stymulacji (30-60 min) [285], [294]. Natomiast badania wykorzystujące wartości indukcji magnetycznej z zakresu 100-200 mT i krótki czas przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym (0,5 min) nie wykazały żadnego wpływu na długość części nadziemnej soi [313].

Sucha masa części nadziemnej soi wzrosła w nieznacznym stopniu dla wszystkich zastosowanych parametrów pola magnetycznego w porównaniu do grupy niepoddanej żadnej stymulacji (o 1-5%). Nie zaobserwowano jednak różnic istotnych statystycznie pomiędzy porównywanymi grupami. Badania literaturowe potwierdzają brak istotnego wpływu krótkiej (0,5 min) stymulacji polem magnetycznym na suchą masę soi (przy 100-200 mT) [313]. Z kolei dłuższa stymulacja (30-90 min) polem o indukcji od 50 do 300 mT wpłynęła pozytywnie na ten parametr [285].

Zawartość chlorofilu w liściach mierzona z użyciem chlorofilomierza SPAD wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych w porównaniu do grupy kontrolnej (o 31-44%). W przypadku stymulacji stałym polem o indukcji magnetycznej 500 mT przez 3 min i indukcji magnetycznej 250 mT przez 12 min zaobserwowano różnice istotne statystycznie względem grupy kontrolnej. Wzrost zawartości chlorofilu w liściach soi (mierzony przy użyciu chlorofilomierza SPAD) zaobserwowali także w 2019 r. Michalak i in. dla stymulacji nasion stałym polem magnetycznym o indukcji magnetycznej 400 mT i przy takim samym czasie stymulacji jak w niniejszej pracy (3 i 12 min) [13]. Dla każdej grupy eksperymentalnej

zaobserwowano także wzrost w porównaniu do grupy kontrolnej zawartości chlorofilu *a*, chlorofilu całkowitego i karotenoidów. Najwyższe wartości tych parametrów otrzymano dla grupy nasion soi stymulowanej polem o indukcji magnetycznej 250 mT przez 3 min – wzrost odpowiednio o 64, 84 i 364% względem grupy kontrolnej. W przypadku chlorofilu *a* i chlorofilu całkowitego otrzymano różnice istotne statystycznie między tą grupą a grupą kontrolną. Wartość chlorofilu *b* względem kontroli wzrosła dla wszystkich grup, z wyjątkiem poddanej 3-minutowej stymulacji polem o indukcji 500 mT, dla której nieznacznie spadła (o 4%). Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami dla tego parametru. Najwyższy wynik dla zawartości chlorofilu *b* (o 82% wyższy niż dla grupy kontrolnej) otrzymano dla grupy nasion traktowanych polem magnetycznym o indukcji magnetycznej 250 mT i czasie stymulacji 3 min. Wzrost zawartości chlorofilu *a* i *b* i chlorofilu całkowitego otrzymali także Atak i in. (2004, 2007) dla stymulacji nasion soi stałym polem magnetycznym o indukcji 2,9-4,6 mT i czasie stymulacji 2,2-19,8 s [284], [288].

Podsumowując wyniki zebrane w Tabeli 43, przedsięwzięta stymulacja nasion soi stałym polem magnetycznym o indukcji 250 mT i czasie stymulacji 3 min spowodowała największy wzrost długości korzenia i hipokotylu oraz zawartości chlorofilu *a*, *b* i całkowitego, a także karotenoidów. Z kolei 3-minutowa stymulacja polem o większej indukcji (500 mT) skutkowała największym wzrostem długości epikotylu i części nadziemnej soi. Dłuższy czas ekspozycji nasion na stałe pole magnetyczne korzystniej wpłynął na zawartość chlorofilu mierzoną chlorofilomierzem SPAD (najwyższy wynik dla 250 mT) i suchą masę części nadziemnej (najwyższy wynik dla 500 mT). Na podstawie tych wyników do dalszego etapu badań wybrano stałe pole magnetyczne o indukcji magnetycznej 250 mT i czasie stymulacji 3 min, gdyż wariant ten najkorzystniej wpłynął na większość badanych parametrów.

Wyniki badań dotyczących jednoczesnej stymulacji nasion soi warzywnej odmiany *Abelina* przedsięwzięte stałym polem magnetycznym (indukcja magnetyczna 250 mT, czas stymulacji 3 min) i ekstraktem z *C. glomerata* (aplikowanym do podłoża podczas testów kiełkowania (szalkowych) i dolistnie podczas testów polowych) o stężeniach 20 i 80% przedstawiono w Tabeli 44.

Tabela 44. Wpływ przedsiewnej stymulacji stałym polem magnetycznym i ekstraktu z *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany *Abelina*: (a) testy kiełkowania; (b) testy polowe – 2021; (c) testy polowe – 2022

(a) Testy kiełkowania						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stale pole magnetyczne	Ekstrakt algowy		Ekstrakt algowy + stale pole magnetyczne	
		250 mT 3 min	20%	80%	20% + 250 mT 3 min	80% + 250 mT 3 min
Procent kiełkowania [%]*	85	90	91	91	92	89
Długość korzenia [cm]*	13,0	14,0 ^{abc}	12,0 ^a	12,0 ^b	13,5	13,0 ^c
Długość hipokotylu [cm]*	11,0 ^d	11,4	11,0 ^e	11,3 ^f	12,0 ^{def}	11,0
Długość epikotylu [cm]*	2,0 ^{ghi}	2,8 ^{gikl}	2,0 ^{jm}	1,7 ^{hkn}	2,1 ^{no}	1,5 ^{ilmo}
Długość części nadziemnej [cm]*	13,5	14,5 ^{pqr}	13,4 ^{ps}	13,3 ^{qt}	14,6 ^{stu}	13,0 ^{ru}
Sucha masa części nadziemnej [g]**	3,41±0,32	3,41±0,27	3,43±0,26	3,64±0,09	3,42±0,18	3,50±0,13
Chlorofil (SPAD) [–]*	19,7	17,3	13,5	18,6	17,2	13,4
Chlorofil <i>a</i> [µg/mL]**	3,50±0,94	2,65±0,76 ^v	3,68±1,56	4,72±1,00 ^v	3,43±1,27	3,24±1,45
Chlorofil <i>b</i> [µg/mL]**	1,31±0,48 ^w	1,13±0,54 ^x	1,79±1,16	2,51±0,46 ^{wx}	1,74±0,50	1,65±0,95
Chlorofil całkowity [µg/mL]**	4,80±1,39	3,52±1,33 ^y	5,47±2,58	7,22±1,32 ^y	5,16±1,75	4,89±2,36
Karotenoidy [µg/mL]*	0,132	0,150 ^z	0,252	0,401 ^z	0,276	0,130

(b) Badania polowe - 2021				
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stale pole magnetyczne	Ekstrakt algowy	Ekstrakt algowy + stale pole magnetyczne
		250 mT 3 min	20%	20% + 250 mT 3 min
Wysokość roślin [cm]*	128	131	130	134
Wysokość osadzenia 1. strąka [cm]*	22	22	23	23
Liczba rozgałęzień 1. rzędu*	0	0	0	0
Liczba strąków na roślinę*	19	21	19	20
Liczba nasion na 10 roślin**	505±57	542±153	467±136	498±139
Masa strąków na roślinę [g]**	33,5±6,5	35,2±11,1	30,7±10,1	31,0±9,4
Masa nasion z 10 strąków [g]**	88,4±22,1	89,0±30,2	73,3±20,0	80,8±25,3

(c) Badania polowe - 2022				
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stale pole magnetyczne	Ekstrakt algowy	Ekstrakt algowy + stale pole magnetyczne
		250 mT 3 min	20%	20% + 250 mT 3 min
Wysokość roślin [cm]*	54	54	49	49
Wysokość osadzenia 1. strąka [cm]*	9±2	9±2	9±3	8±2
Liczba rozgałęzień 1. rzędu*	1	1	1	1
Liczba strąków na roślinę**	32±5	27±4	26±4	26±5
Liczba nasion na 10 roślin**	664±105	544±59	531±101	580±147
Masa strąków na roślinę [g]**	16,9±2,5	14,6±1,2	14,3±2,0	16,5±4,2
Masa nasion z 10 strąków [g]**	104,3±19,3	92,7±7,1	91,5±15,8	105,5±27,8

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym ani czynnikiem fizycznym

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 44a dla testów kiełkowania można zauważyć, iż wszystkie badane metody stymulacji nasion (pole magnetyczne i ekstrakt algowy stosowane razem i osobno) wpłynęły pozytywnie na kiełkowanie nasion soi warzywnej, w szczególności połączenie 20% ekstraktu z polem magnetycznym (250 mT, 3 min). Badania prowadzone w 2019 r. przez Michalak i in. [13] i Lewandowską i in. [17] również potwierdzają pozytywny wpływ stałego pola magnetycznego (400 mT, 3 min) i ekstraktu z *C. glomerata* (10%) na kiełkowanie nasion soi warzywnej.

Długość korzenia wzrosła zarówno dla soi w grupie traktowanej samym polem magnetycznym (o 12% w porównaniu do kontroli), jak i jednocześnie stymulowanej polem magnetycznym i 20% ekstraktem algowym (o 8% w porównaniu do grupy kontrolnej). Parametr ten nie uległ zmianie dla grupy traktowanej jednocześnie polem magnetycznym i 80% ekstraktem algowym oraz nieznacznie zmalał dla grup poddanych jedynie działaniu ekstraktu (o 8% w porównaniu do kontroli dla obu stężeń).

Długość hipokotyli soi wzrosła istotnie statystycznie względem grupy kontrolnej dla jednoczesnej stymulacji polem magnetycznym i 20% ekstraktem (wzrost o 9%). Dla pozostałych grup wartość tego parametru nieznacznie wzrosła lub nie uległa zmianie. Długość epikotyli wzrosła istotnie statystycznie względem grupy kontrolnej jedynie dla grupy, w której nasiona poddano działaniu samego pola magnetycznego (wzrost o 40%). Parametr ten wzrósł także nieznacznie dla jednoczesnej stymulacji polem magnetycznym i 20% ekstraktem algowym (wzrost o 5%). Z kolei dla obu grup, w których stosowane było 80% stężenie ekstraktu (razem z polem magnetycznym i oddzielnie) zaobserwowano istotny statystycznie spadek (o 15-25%) względem grupy kontrolnej. Długość części nadziemnej wzrosła jedynie dla grup, w których nasiona poddano działaniu samego pola magnetycznego oraz jednocześnie pola magnetycznego i 20% ekstraktu (o 7-8% względem kontroli), natomiast nieznacznie zmalała dla pozostałych grup.

Sucha masa części nadziemnej soi nie uległa zmianie lub nieznacznie wzrosła (do 7% w porównaniu do grupy kontrolnej) we wszystkich grupach eksperymentalnych. Najwyższą wartość suchej masy otrzymano przy zastosowaniu samego ekstraktu 80%. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami dla tego parametru.

Zawartość chlorofilu w liściach mierzona przy użyciu chlorofilomierza SPAD spadła w porównaniu do grupy kontrolnej dla wszystkich zastosowanych metod stymulacji (o 6-32%). Nie zaobserwowano jednak różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami.

Michalak i in. w 2019 r. zaobserwowali wzrost zawartości chlorofilu w liściach soi warzywnej stymulowanej jednocześnie stałym polem magnetycznym (400 mT, 3-6 min) i ekstraktem z *C. glomerata*. Zawartość chlorofilu *a*, *b* i chlorofilu całkowitego w liściach soi zmalała względem grupy kontrolnej dla stymulacji samym polem magnetycznym (o odpowiednio 24, 14 i 27%), wzrosła dla stymulacji samym ekstraktem algowym (odpowiednio o 5-35%, 37-92% i 14-50%), zaś przy połączeniu obu tych metod pozostała na podobnym poziomie. Na podstawie tych wyników można przypuszczać, iż aplikacja ekstraktu algowego jest w stanie zniwelować negatywny wpływ przedsejowej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym na zawartość chlorofilu w liściach. Przy stymulacji soi samym ekstraktem stężenie 80% wypadło lepiej niż 20%, zaś przy połączeniu z polem magnetycznym stężenie 20% okazało się lepsze. Zawartość karotenoidów w liściach soi wzrosła lub nie uległa zmianie dla wszystkich zastosowanych metod stymulacji. Najwyższy wzrost tego parametru uzyskano dla stymulacji nasion samym ekstraktem algowym o stężeniu 80% (aż 3-krotny wzrost w porównaniu do kontroli). Drugą najwyższą wartość otrzymano dla grupy, w której nasiona poddano jednoczesnej stymulacji polem magnetycznym i ekstraktem 20% (ponad 2-krotny wzrost w porównaniu do kontroli).

Podsumowując wyniki zebrane w Tabeli 44a można jasno wskazać, iż w przypadku jednoczesnej stymulacji ekstraktem algowym i stałym polem magnetycznym, zastosowanie stężenia 20% wypadło znacznie lepiej. Wartości prawie wszystkich parametrów były wyższe dla stężenia 20% niż 80%. Wyjątkiem była sucha masa części nadziemnej, jednak wyniki dla tego parametru były do siebie zbliżone. Z tego powodu w dalszym etapie badań (testy polowe) zastosowano tylko stężenie 20%. Dotychczas, tylko w dwóch publikacjach opisano jednoczesny wpływ stymulacji nasion stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej [13], [17].

Opisywane w rozprawie badania są pierwszymi dotyczącymi wpływu jednoczesnej stymulacji nasion soi stałym polem magnetycznym oraz ekstraktem algowym na wzrost roślin w warunkach polowych. W dostępnej literaturze są jednak publikacje dotyczące badań polowych, w których testowano wpływ 20% ekstraktu z *C. glomerata* na wzrost soi [337] oraz wpływ stałego pola magnetycznego na wzrost soi [283], [313].

Porównując wyniki przedstawione w Tabeli 44b i Tabeli 44c można zauważyć, że w przypadku testów przeprowadzonych w 2021 roku, wysokość roślin wzrosła względem grupy kontrolnej dla jednoczesnej stymulacji obydwoma badanymi czynnikami (o 4%), zaś

w przypadku badań z 2022 roku zmalała (o 9%). Sam ekstrakt z *C. glomerata* również spowodował wzrost tego parametru w 2021 r. (o 2%) oraz spadek w 2022 r. (o 9%). Dla porównania Lewandowska i in. zaobserwowali w badaniach opublikowanych w 2022 r. wzrost tego parametru względem grupy kontrolnej (o 3-6%) dla dwóch odmian soi – *Erica* i *Enrei* [337]. W przypadku stymulacji samym polem magnetycznym w badaniach prowadzonych w ramach niniejszej pracy doktorskiej w 2021 r. zaobserwowano niewielki wzrost wysokości roślin (o 2%), natomiast w 2022 r. brak wpływu na ten parametr w porównaniu do grupy kontrolnej. Z kolei García i in. zaobserwowali w 2013 r. spadek w wysokości rośliny (o 3-26% względem grupy kontrolnej) przy stymulacji nasion soi odmian *Conquista* i *Incasoy-24* stałym polem magnetycznym o indukcji 100 i 150 mT przez 30 s [313].

Wysokość osadzenia 1. strąka wzrosła o 5% podczas badań prowadzonych w 2021 r., a zmalała o 11% w 2022 r. przy zastosowaniu stymulacji dwoma czynnikami (pole magnetyczne i ekstrakt algowy) jednocześnie, w porównaniu do grupy kontrolnej. Przy stymulacji samym ekstraktem algowym również zaobserwowano wzrost tego parametru o 5% w 2021 r., natomiast w 2022 r. uzyskano taki sam wynik jak dla grupy kontrolnej. Dla porównania Lewandowska i in. zaobserwowali w badaniach opublikowanych w 2022 r. wzrost wysokości osadzenia 1. strąka względem grupy kontrolnej (o 2-6%) dla dwóch odmian soi – *Erica* i *Enrei* stymulowanych 20% ekstraktem z *C. glomerata* [337], więc było to wyniki porównywalne do uzyskanych w niniejszej pracy doktorskiej.

Liczba rozgałęzień 1. rzędu w obu latach nie uległa zmianie przy zastosowaniu obu metod stymulacji. Badania Lewandowskiej i in. z 2022 r. również potwierdzają brak wpływu stymulacji 20% ekstraktem z *C. glomerata* na ten parametr [337].

Liczba strąków na roślinę wzrosła o 5% podczas badań prowadzonych w 2021 r., a zmalała o 19% w badaniach prowadzonych w 2022 r. przy zastosowaniu jednoczesnej stymulacji dwoma czynnikami (pole magnetyczne i ekstrakt algowy), w porównaniu do grupy kontrolnej. W przypadku stymulacji samym polem magnetycznym zaobserwowano wzrost tego parametru o 11% w 2021 r. i spadek o 16% w 2022 r. Dla porównania García i in. zaobserwowali w 2013 r. wzrost w liczbie strąków na roślinę (aż do 42% w porównaniu do grupy kontrolnej) przy stymulacji nasion soi odmian *Conquista* i *Incasoy-24* stałym polem magnetycznym o indukcji 100 i 150 mT przez 30 s [313].

Liczba nasion na 10 roślin spadła w obu latach w porównaniu do grupy kontrolnej dla stymulacji roślin samym ekstraktem algowym (o 8% w 2021 r. i 20% w 2022 r.) oraz jednoczesnej stymulacji ekstraktem i polem magnetycznym (o 1% w 2021 r. i 13% w 2022 r.).

W przypadku działania na nasiona samym polem magnetycznym parametr ten wzrósł o 7% w 2021 r. i zmalał o 17% w 2022 r.

W przypadku masy strąków na roślinę również otrzymano spadek w obu latach dla stymulacji samym ekstraktem (o 8% w 2021 r. i 15% w 2022 r.) oraz łącznej stymulacji ekstraktem i polem magnetycznym (o 7% w 2021 r. i 2% w 2022 r.). Natomiast dla stymulacji samym polem magnetycznym zaobserwowano wzrost w 2021 r. (o 5%) i spadek w 2022 r. (o 14%).

Masa nasion z 10 strąków wzrosła dla stymulacji samym polem magnetycznym jedynie nieznacznie w 2021 r. (o 1%), zaś w 2022 r. zmalała (o 11%). W przypadku stymulacji samym ekstraktem algowym zmalała w obu latach (o 17% w 2021 r. i 12% w 2022 r.). Z kolei przy zastosowaniu obu tych czynników jednocześnie zmalała podczas badań z 2021 r. (o 9%), lecz wzrosła podczas badań z 2022 r. (o 1%).

Porównując wszystkie wyniki zebrane podczas badań polowych (Tabela 44bc), można zauważyć, iż wyniki te znacznie różniły się w obu latach. Może to wynikać z różnic w materiale siewnym, wykorzystanym do badań w danym roku. Podczas testów przeprowadzonych w 2021 r. jednoczesna stymulacja stałym polem magnetycznym (250 mT, 3 min) i ekstraktem z *C. glomerata* wpłynęła pozytywnie na połowę badanych parametrów (wysokość roślin, wysokość osadzenia 1. strąka, liczba strąków na roślinę). Badania z 2022 r. wykazały pozytywny wpływ jednoczesnego zastosowania dwóch metod stymulacji na tylko jeden parametr – masę nasion z 10 strąków – jednak zwiększenie tej masy było bardzo małe (o 1%) w porównaniu z grupą kontrolną. W obu latach między żadnymi grupami nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie. Wyniki te pozwalają przypuszczać, iż jednoczesne zastosowanie stymulacji stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *C. glomerata* do poprawy kiełkowania nasion i wzrostu roślin soi warzywnej może przynieść lepsze efekty niż zastosowanie tych czynników osobno, jednak potrzebne są dalsze, wieloletnie badania na ten temat.

5.4.8. Wpływ ekstraktu z brunatnicy *Sargassum* sp. i zmiennego pola magnetycznego na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi zwyczajnej

Wyniki badań dotyczących wpływu różnych stężeń ekstraktu z *Sargassum* sp. (20, 40, 60, 80 i 100%) aplikowanego do podłoża na kiełkowanie nasion i wzrost siewek marchwi zwyczajnej odmiany *Amsterdam 3* przedstawiono w Tabeli 45. Jako dodatkową grupę kontrolną zastosowano komercyjnie dostępny ekstrakt z brunatnicy *Ascophyllum nodosum*. Natomiast wyniki badań dotyczących wpływu przedświejnej stymulacji zmiennym polem

magnetycznym (indukcja magnetyczna – 10, 17 i 21 mT, częstotliwość – 16, 50 i 100 Hz, czas stymulacji – 1, 10 i 30 min) nasion marchwi zwyczajnej odmiany *Amsterdam 3* na kiełkowanie i wzrost tej rośliny przedstawiono w Tabeli 46.

Tabela 45. Wpływ ekstraktu z *Sargassum* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi zwyczajnej odmiany *Amsterdam 3*

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu					Komercyjnie dostępny ekstrakt z <i>Ascophyllum nodosum</i>
		20%	40%	60%	80%	100%	
Procent kiełkowania [%]*	40	48	40	42	46	36	46
Długość korzenia [cm]*	3,0 ^{abcd}	1,7 ^{aef}	1,7 ^{bgh}	1,4 ^{cij}	3,2 ^{egik}	2,7 ^{fhjl}	1,7 ^{dkl}
Długość hipokotylu [cm]*	1,3	1,2	1,4 ^m	1,1 ^{mno}	1,4 ⁿ	1,4 ^o	1,3
Długość epikotylu [cm]*	1,4 ^p	1,7 ^q	1,6 ^r	1,2 ^{qrst}	1,9 ^{ps}	1,8 ^t	1,5
Długość części nadziemnej [cm]*	2,8	2,9	3,1 ^u	2,2 ^{uvw}	3,4 ^v	3,1 ^w	2,8
Świeża masa korzenia [g]*	0,0582	0,0461	0,0464	0,0254	0,0811	0,0357	0,0576
Świeża masa części nadziemnej [g]*	0,192	0,286	0,251	0,196	0,331	0,283	0,269

a, b, c, ... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym

Tabela 46. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion marchwi zwyczajnej odmiany *Amsterdam 3* zmiennym polem magnetycznym o różnych częstotliwościach (16, 50 i 100 Hz), indukcji magnetycznej (10, 17 i 21 mT) i czasie stymulacji na kiełkowanie nasion i wzrost roślin: (a) czas stymulacji – 1 min; (b) czas stymulacji – 10 min; (c) czas stymulacji – 30 min

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	(a) Zmienne pole magnetyczne – czas stymulacji 1 min								
		16 Hz			50 Hz			100 Hz		
		10 mT	17 mT	21 mT	10 mT	17 mT	21 mT	10 mT	17 mT	21 mT
Procent kiełkowania [%]*	40	42	44	40	42	44	48	48	50	40
Długość korzenia [cm]*	2,7	2,1	2,5	4,0 ^{ab}	2,0	1,8 ^{ac}	2,6	3,1 ^{cd}	1,5 ^{bd}	4,1
Długość hipokotylu [cm]*	1,1 ^{efghi}	0,9	0,7 ^e	0,7	0,8	0,7 ^f	0,8 ^g	0,8 ^h	0,7 ⁱ	0,8
Długość epikotylu [cm]**	1,5±0,3 ^j	1,3±0,3	1,1±0,3 ^j	1,5±0,4	1,5±0,4	1,4±0,4	1,3±0,3	1,4±0,3	1,4±0,3	1,5±0,4
Długość części nadziemnej [cm]*	2,7 ^{klmno}	2,1	1,8 ^k	2,2	2,3	2,1 ^l	2,1 ^m	2,1 ⁿ	2,2 ^o	2,2
Świeża masa korzenia [g]*	0,0867	0,0680	0,0642	0,1480	0,0252	0,0264	0,0776	0,1056	0,0713	0,0622
Świeża masa części nadziemnej [g]*	0,192	0,130	0,119	0,176	0,152	0,159	0,153	0,170	0,178	0,161

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	(b) Zmienne pole magnetyczne – czas stymulacji 10 min								
		16 Hz			50 Hz			100 Hz		
		10 mT	17 mT	21 mT	10 mT	17 mT	21 mT	10 mT	17 mT	21 mT
Procent kielkowania [%]*	38	38	36	38	36	36	36	38	36	36
Długość korzenia [cm]*	3,0	1,6	2,3	2,0	1,5	1,5	2,3	1,8	1,5	2,3
Długość hipokotyli [cm]*	1,1 ^{abcdef}	0,8	0,7 ^a	0,8 ^b	0,8	0,7 ^c	0,8	0,7 ^d	0,8 ^e	0,8 ^f
Długość epikotyli [cm]*	1,5	1,4	1,1	1,5	1,6	1,5	1,5	1,3	1,4	1,3
Długość części nadziemnej [cm]*	2,6 ^{gh}	2,3	1,8 ^g	2,3	2,3	2,2	2,3	2,2	2,3	1,9 ^h
Świeża masa korzenia [g]*	0,0793	0,0609	0,0611	0,0855	0,1200	0,0662	0,0864	0,0654	0,0347	0,0540
Świeża masa części nadziemnej [g]*	0,186	0,153	0,120	0,166	0,181	0,133	0,159	0,146	0,121	0,107

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	(c) Zmienne pole magnetyczne – czas stymulacji 30 min								
		16 Hz			50 Hz			100 Hz		
		10 mT	17 mT	21 mT	10 mT	17 mT	21 mT	10 mT	17 mT	21 mT
Procent kielkowania [%]*	38	40	44	42	44	50	44	54a	38a	40
Długość korzenia [cm]*	2,9 ^{bc}	2,7 ^{de}	1,7 ^{bd}	2,2	2,3	2,1	1,5	2,2	1,3 ^{ce}	2,1
Długość hipokotyli [cm]*	1,1 ^{fgh}	0,7 ^f	0,8	0,8	0,8	0,7 ^g	0,7	0,7 ^h	0,8	0,7
Długość epikotyli [cm]*	1,3	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3	1,3	1,2	1,2	1,2
Długość części nadziemnej [cm]*	2,6 ^{ijklm}	1,8 ⁱ	2,0 ^j	2,0 ^k	2,0	2,0	2,0	1,9 ^l	2,1	1,8 ^m
Świeża masa korzenia [g]*	0,0752	0,0708	0,0394	0,0710	0,0568	0,1014	0,0463	0,0883	0,0321	0,0508
Świeża masa części nadziemnej [g]**	0,179±0,023	0,112±0,016	0,145±0,018	0,143±0,017	0,141±0,004	0,180±0,040	0,136±0,018	0,184±0,005	0,110±0,011	0,124±0,008

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji czynnikiem fizycznym

Analizując wyniki zebrane w Tabeli 45 można dostrzec, iż najkorzystniejszy wpływ na procent kiełkowania nasion marchwi zwyczajnej miał ekstrakt algowy o stężeniu 20% (wzrost o 8% względem grupy kontrolnej) i ekstrakt algowy o stężeniu 80% (wzrost o 6% względem kontroli). Jedynym stężeniem, które wykazało negatywny wpływ na ten parametr było 100% (spadek o 4% względem grupy kontrolnej). Komercyjnie dostępny ekstrakt z *A. nodosum*, podobnie jak 80% ekstrakt z *Sargassum* sp. zwiększył procent kiełkowania nasion o 6% w porównaniu do grupy kontrolnej.

Długość korzenia wzrosła jedynie przy zastosowaniu ekstraktu o stężeniu 80% (o 7% w porównaniu do kontroli). Z kolei zmalała ona dla wszystkich pozostałych grup doświadczalnych, przy czym dla ekstraktu z *Sargassum* sp o stężeniach z zakresu 20-60%. i dla ekstraktu z *A. nodosum* spadek tej wartości był istotny statystycznie względem grupy kontrolnej.

Długość hipokotyli wzrosła dla roślin stymulowanych ekstraktem z *Sargassum* sp. o stężeniach 40, 80 i 100% (o 8% względem grupy kontrolnej dla wszystkich), zaś zmalała dla roślin poddanych działaniu ekstraktu o stężeniach 20 i 60% (o odpowiednio 8 i 15% względem grupy kontrolnej). W przypadku grupy traktowanej ekstraktem z *A. nodosum* wartość tego parametru nie uległa zmianie. Długość epikotyli wzrosła przy zastosowaniu ekstraktu z *Sargassum* sp. o stężeniach 20, 40, 80 i 100% (o 14-36% względem grupy kontrolnej) oraz ekstraktu z *A. nodosum* (o 7%), zaś zmalała dla 60% ekstraktu z *Sargassum* sp. (o 14%). Najwyższą wartość uzyskano dla 80% ekstraktu, wynik ten był istotnie statystycznie wyższy od wyniku otrzymanego dla grupy kontrolnej. Długość części nadziemnej marchwi wzrosła przy zastosowaniu ekstraktu z *Sargassum* sp. o stężeniach 20, 40, 80 i 100% (o 4-21% względem grupy kontrolnej), a zmalała przy stężeniu 60% (o 21%). Najwyższą wartość długości części nadziemnej marchwi otrzymano w przypadku aplikacji ekstraktu o stężeniu 80%. Ekstrakt z *A. nodosum* nie wpłynął w żaden sposób na ten parametr. Pozytywny wpływ ekstraktu z *Sargassum* sp. na długość innej rośliny z rodziny kapustowatych – gorczycy sarepskiej – wykazał także Yusuf i in. w badaniach z 2021 r. [90].

Świeża masa korzenia wzrosła w porównaniu do grupy kontrolnej jedynie dla grupy stymulowanej ekstraktem z *Sargassum* sp. o stężeniu 80% (o 39%). Dla pozostałych stężeń wartość tego parametru zmalała (o 20-56%), a w przypadku ekstraktu z *A. nodosum* nie zaobserwowano dużych zmian (spadek o 1% względem grupy kontrolnej). Dla porównania ekstrakt z *Sargassum* sp. o stężeniach 20, 40, 60, 80 i 100% wpłynął pozytywnie na świeżą masę korzenia gorczycy zwyczajnej według badań Yusufa i in. z 2021 r. [90]. Z kolei świeża

masa części nadziemnej w badaniach przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy doktorskiej dla wszystkich grup eksperymentalnych była wyższa niż dla grupy kontrolnej.

Do tej pory nie pojawiły się w literaturze badania dotyczące wpływu ekstraktu z *Sargassum* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi. Pojawiły się jednak badania dotyczące wpływu ekstraktu z tej algi na inne rośliny z rodziny kapustowatych, takie jak gorczyca sarepska (stężenia 20, 40, 60, 80, 100%, brak danych o sposobie aplikacji) [90] oraz rzodkiew zwyczajna (ekstrakt z *S. vulgare* aplikowany donasiennie i dolistnie w stężeniach 1, 2 i 3 mL/L) [92]. Testy kiełkowania prowadzone na gorzycy sarepskiej wykazały pozytywny wpływ wszystkich stężeń ekstraktu na długość rośliny, liczbę liści, świeżą i suchą masę liści, świeżą masę korzenia, a w przypadku najwyższego stężenia (100%) także na suchą masę korzenia [90]. Badania polowe prowadzone na rzodkwi zwyczajnej wykazały pozytywny wpływ ekstraktu na plon (najlepsze efekty uzyskano przy dolistnej aplikacji ekstraktu o stężeniu 3 mL/L [92]).

Podsumowując dane przedstawione w Tabeli 45 najkorzystniejszy wpływ na parametry biometryczne marchwi zwyczajnej miał ekstrakt z *Sargassum* sp. o stężeniu 80% - dla grupy stymulowanej tym stężeniem otrzymano najwyższe wartości długości korzenia, hipokotylu, epikotylu i części nadziemnej, a także masę korzenia i części nadziemnej. Uzyskane wartości tych parametrów były wyższe niż w przypadku nasion marchwi, które traktowano komercyjnie dostępnym ekstraktem z *A. nodosum*. Procent kiełkowania nasion był najwyższy dla ekstraktu z *Sargassum* sp. o stężeniu 20% (48%), ale dla ekstraktu o stężeniu 80% był tylko nieznacznie niższy (46%). Z tego powodu stężenie to zostało wybrane do kolejnego etapu badań – testów doniczkowych z wykorzystaniem jednoczesnej stymulacji nasion marchwi zmiennym polem magnetycznym (przedsiewnie) i ekstraktem z *Sargassum* sp. (aplikowanym dogłębowo).

Analizując wyniki zebrane w Tabeli 46abc można dostrzec, że procent kiełkowania nasion poddanych przedsiewnej stymulacji zmiennym polem magnetycznym przez 1 i 30 minut wzrósł lub pozostał bez zmian, zaś w przypadku czasu stymulacji 10 min zmalał lub pozostał bez zmian. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie dla tego parametru pomiędzy poszczególnymi grupami.

Na długość korzenia pozytywnie wpłynęły jedynie 3 warianty przedsiewnej stymulacji zmiennym polem magnetycznym, wszystkie dla czasu 1 min, 16 Hz i 21 mT (wzrost o 48% względem grupy kontrolnej), 100 Hz i 10 mT (wzrost o 19% względem grupy kontrolnej) oraz 100 Hz i 21 mT (wzrost o 52% względem grupy kontrolnej).

Długości hipokotyli i części nadziemnej zmalały dla marchwi we wszystkich grupach eksperymentalnych względem grupy kontrolnej o odpowiednio 18-36% i 12-33%. Długość epikotyli marchwi wzrosła jedynie dla grupy stymulowanej przez 10 minut zmiennym polem magnetycznym o parametrach 50 Hz i 10 mT (o 7% względem grupy kontrolnej).

Dla 1-minutowej stymulacji świeża masa korzenia wzrosła jedynie dla dwóch grup eksperymentalnych poddanych działaniu zmiennego pola magnetycznego – 16 Hz i 21 mT (o 70% względem grupy kontrolnej) oraz 100 Hz i 10 mT (o 22% względem grupy kontrolnej). Z kolei dla 10-minutowej stymulacji, świeża masa korzenia wzrosła dla 3 grup – 16 Hz i 21 mT (o 8%), 50 Hz i 10 mT (o 51%) i 50 Hz i 21 mT (o 9% względem grupy kontrolnej). Natomiast dla stymulacji trwającej 30 minut, parametr ten osiągnął najwyższe wartości dla 2 grup eksperymentalnych – 50 Hz i 17 mT (wzrost o 35% względem grupy kontrolnej) oraz 100 Hz i 10 mT (wzrost o 17%). Świeża masa części nadziemnej zmalała dla wszystkich grup eksperymentalnych względem grupy kontrolnej, z wyjątkiem grup poddanych 30-minutowej stymulacji polem magnetycznym o parametrach 50 Hz i 17 mT oraz 100 Hz i 10 mT (dla tych grup zaobserwowano wzrost tego parametru o odpowiednio 1 i 3%).

Zmienne pole magnetyczne nie było do tej pory wykorzystywane do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu marchwi zwyczajnej, jednak pojawiły się badania dotyczące wykorzystania go do przedsiewnej stymulacji innych nasion z rodziny kapustowatych. Konefał-Janocha i in. wykazali w 2019 r. pozytywny wpływ zmiennego pola magnetycznego (6 mT, 50 Hz) na kiełkowanie nasion oraz długość siewek rzodkwi zwyczajnej przy czasie stymulacji 3 min oraz negatywny przy czasie stymulacji 12 min [309]. Z kolei Novitskii i in. [334] wykazali w 2014 r. pozytywny wpływ przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej zmiennym polem magnetycznym (o indukcji magnetycznej 0,5 mT i częstotliwości 50 Hz) na zwiększenie zawartości glikolipidów i fosfolipidów w nasionach.

Podsumowując wyniki zebrane w Tabeli 46abc zmienne pole magnetyczne miało negatywny wpływ na większość badanych parametrów, w tym na najistotniejszy w przypadku marchwi zwyczajnej parametr – długość hipokotyli, który stanowi jadalną część tej rośliny. Jednak ze względu na pozytywny wpływ wybranych grup na procent kiełkowania (który w przypadku marchwi zwyczajnej jest dość niski) oraz długość i masę korzenia badania dotyczące wpływu przedsiewnej stymulacji nasion marchwi zwyczajnej zmiennym polem magnetycznym kontynuowano w badaniach doniczkowych.

Wyniki badań dotyczących jednoczesnego wpływu stymulacji zmiennym polem magnetycznym (przedsiewnie) i ekstraktem z *Sargassum* sp. (aplikowanym dogłębowo) na

kiełkowanie nasion i wzrost siewek marchwi zwyczajnej przedstawiono w Tabeli 47. Jako dodatkową grupę kontrolną zastosowano komercyjnie dostępny ekstrakt z *A. nodosum*.

Tabela 47. Wpływ przedsiewnej stymulacji zmiennym polem magnetycznym i ekstraktu z *Sargassum* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi zwyczajnej odmiany *Amsterdam 3* w testach doniczkowych

Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Zmienne pole magnetyczne		Ekstrakt algowy		Ekstrakt algowy + zmienne pole magnetyczne			
		16 Hz 21 mT 1 min	100 Hz 10 mT 1 min	<i>Sargassum</i> sp. 80%	<i>A. nodosum</i>	<i>Sargassum</i> sp. 80% + 16 Hz 21 mT 1 min	<i>Sargassum</i> sp. 80% + 100 Hz 10 mT 1 min	<i>A. nodosum</i> + 16 Hz 21 mT 1 min	<i>A. nodosum</i> + 100 Hz 10 mT 1 min
Procent kiełkowania [%]*	22	22	22	28	22	22	17	28	17
Długość hipokotylu [cm]*	4,3	4,0	3,0	2,9	4,0	4,0	3,9	4,1	4,2
Długość epikotylu [cm]*	4,5	5,2	5,1	2,9	4,2	3,7	6,3	3,3	3,5
Długość części nadziemnej [cm]*	9,3	8,9	8,3	5,5	8,7	7,8	9,8	7,4	7,5
Świeża masa części nadziemnej [g]*	0,453	0,680	0,553	0,350	0,629	0,391	0,840	0,643	0,330

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym ani czynnikiem fizycznym

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 47 można stwierdzić, iż na procent kiełkowania nasion marchwi wpłynęły pozytywnie dwie spośród wszystkich badanych grup eksperymentalnych – grupa stymulowana samym 80% ekstraktem z *Sargassum* sp. oraz grupa stymulowana jednocześnie ekstraktem z *A. nodosum* i polem magnetycznym o częstotliwości 16 Hz i 21 mT. Dla obu tych grup zaobserwowano wzrost tego parametru o 27% względem grupy kontrolnej. Z kolei spadek tej wartości zaobserwowano również dla dwóch grup – poddanych jednoczesnej stymulacji ekstraktem algowym (zarówno 80% z *Sargassum* sp., jak i komercyjnie dostępnym z *A. nodosum*) oraz zmiennym polem magnetycznym o częstotliwości 100 Hz i indukcji magnetycznej 10 mT. Dla pozostałych grup eksperymentalnych wartość tego parametru była taka sama jak dla grupy kontrolnej.

Długość hipokotyli marchwi zmalała względem grupy kontrolnej przy każdej zastosowanej metodzie stymulacji. Długość epikotyli wzrosła dla obu grup eksperymentalnych stymulowanych samym polem magnetycznym (o 13-16% w porównaniu do grupy kontrolnej) oraz dla grupy poddanej jednoczesnej stymulacji ekstraktem z *Sargassum* sp. i zmiennym polem magnetycznym o częstotliwości 100 Hz i indukcji magnetycznej 10 mT (o 40%). Dla ostatniej z tych grup wzrosła także długość części nadziemnej rośliny (o 5% w porównaniu do grupy kontrolnej).

Świeża masa części nadziemnej marchwi wzrosła w porównaniu do grupy kontrolnej dla 5 z 8 grup eksperymentalnych – grup stymulowanych zmiennym polem magnetycznym o parametrach 16 Hz i 21 mT (wzrost o 50%) oraz 100 Hz i 10 mT (wzrost o 22%), grupy stymulowanej ekstraktem z *A. nodosum* (wzrost o 39%), grupy stymulowanej jednocześnie zmiennym polem o parametrach 100 Hz i 10 mT i ekstraktem z *Sargassum* sp. (wzrost o 85%) oraz grupy stymulowanej jednocześnie zmiennym polem o parametrach 16 Hz i 21 mT i ekstraktem z *A. nodosum* (wzrost o 42%).

Do tej pory w literaturze ukazały się jedne badania dotyczące wpływu jednoczesnej stymulacji zmiennym polem magnetycznym i ekstraktem algowym na kiełkowanie nasion i zawartość chlorofilu w liściach. Badania te były prowadzone na nasionach soi warzywne i zastosowano w nich zmienne pole magnetyczne o częstotliwości 50 Hz i indukcji magnetycznej 30 mT dla czasu stymulacji 1, 2,5 i 5 min oraz ekstrakt z *C. glomerata* o stężeniu 10% [3]. Badania wykazały pozytywny wpływ jednoczesnej stymulacji tymi dwoma czynnikami na procent kiełkowania nasion (dla czasów 2,5 i 5 min) oraz zawartość chlorofilu w liściach (dla czasów 5 min).

Podsumowując wyniki zebrane w Tabeli 47 najkorzystniejszą metodą stymulacji nasion marchwi zwyczajnej okazała się jednoczesna stymulacja zmiennym polem magnetycznym o częstotliwości 100 Hz i indukcji magnetycznej 10 mT oraz 80% ekstraktem z *Sargassum* sp. Połączenie tych dwóch metod pozwoliło uzyskać największe wartości takich parametrów jak: długość epikotyłu, długość części nadziemnej i masa części nadziemnej. Jednak procent kiełkowania i długość hipokotyłu zmalały dla tej grupy, co oznacza, że konieczne są dalsze badania z wykorzystaniem innych wartości parametrów zmiennego pola magnetycznego.

5.4.9. Wpływ ekstraktów z krasnorostów *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata* oraz ultradźwięków na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej

Wyniki badań dotyczących wpływu ekstraktów z *Porphyra* sp. i *P. palmata* (20, 40, 60, 80 i 100%) aplikowanych do podłoża na kiełkowanie i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon* przedstawiono w Tabeli 48. Natomiast wpływ przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon* przedstawiono w Tabeli 49.

Tabela 48. Wpływ ekstraktów z krasnorostów na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon*: (a) ekstrakt z *Porphyra* sp.; (b) ekstrakt z *Palmaria palmata*

(a) Ekstrakt z <i>Porphyra</i> sp.						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%]*	90	92	92	92	78	88
Długość korzenia [cm]*	6,2 ^a	7,7 ^{bc}	5,8 ^b	5,8 ^d	6,0 ^e	4,8 ^{acde}
Długość hipokotylu [cm]*	2,6 ^{fghi}	2,7 ^{ijklm}	3,2 ^{fj}	3,2 ^{gk}	3,5 ^{hl}	3,6 ^{im}
Długość epikotylu [cm]*	1,3 ^{nopq}	1,5 ^{rst}	1,7 ^{nr}	1,6 ^o	1,8 ^{ps}	1,7 ^{qt}
Długość części nadziemnej [cm]*	3,9 ^{uvwx}	4,2 ^{yzab'}	5,0 ^{uy}	5,0 ^{vz}	5,3 ^{wa'}	5,6 ^{xb'}
Świeża masa części nadziemnej [g]*	2,01±0,19	2,28±0,29	2,56±0,29	2,54±0,20	2,16±0,21	2,47±0,36
Chlorofil (SPAD) [–]*	53,5	57,7 ^{c'}	53,2	51,5	49,2 ^{c'}	58,4

(b) Ekstrakt z <i>P. palmata</i>						
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Stężenie ekstraktu				
		20%	40%	60%	80%	100%
Procent kiełkowania [%]*	80	78	92	72	76	68
Długość korzenia [cm]*	6,2 ^a	8,7 ^{ab}	7,8	7,0	7,5	6,1 ^b
Długość hipokotylu [cm]*	2,6 ^{cdefg}	4,6 ^{ch}	5,3 ^d	5,3 ^{eh}	5,1 ^f	4,7 ^g
Długość epikotylu [cm]*	1,1 ^{ijklm}	1,6 ⁱⁿ	1,7 ^j	1,9 ^{kn}	1,8 ^l	1,7 ^m
Długość części nadziemnej [cm]*	3,8 ^{opqrs}	6,5 ^{ot}	7,1 ^p	7,3 ^{qt}	7,0 ^r	6,7 ^s
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,27±0,33 ^{tuvw}	2,04±0,12	2,48±0,63 ^t	2,51±0,51 ^u	2,46±1,00 ^v	2,32±0,20 ^w
Chlorofil (SPAD) [–]*	53,2±8,0 ^{xy}	50,0±11,3	49,7±10,7	47,6±8,7	44,2±7,6 ^x	46,2±9,1 ^y

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym

Tabela 49. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon* ultradźwiękami na kiełkowanie nasion i wzrost roślin

(a) Czasy stymulacji nasion 15-60 min					
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Czas stymulacji ultradźwiękami			
		15 min	30 min	45 min	60 min
Procent kiełkowania [%]*	90	58	78	62	56
Długość korzenia [cm]*	6,5	6,3	5,1	5,2	5,6
Długość hipokotylu [cm]*	2,4 ^a	2,8 ^a	2,7	2,5	2,5
Długość epikotylu [cm]*	1,2	1,2	1,2	1,3	1,4
Długość części nadziemnej [cm]*	3,7±0,9	4,1±0,8	4,0±1,1	3,9±0,9	3,9±0,9
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,70	1,02	1,56	0,97	1,33
Chlorofil (SPAD) [-]*	51,3±11,1 ^{bc}	41,2±9,2 ^{bd}	45,9±8,9	43,0±9,0 ^c	47,4±10,5 ^d

(b) Czasy stymulacji 2,5-10 min					
Mierzony parametr	Grupa kontrolna	Czas stymulacji nasion ultradźwiękami			
		2,5 min	5 min	7,5 min	10 min
Procent kiełkowania [%]*	87±8	74±12	87±4	88±3	73±15
Długość korzenia [cm]*	6,8 ^a	5,2 ^{ab}	6,7	6,3	7,0 ^b
Długość hipokotylu [cm]*	2,7 ^c	2,3 ^d	2,6 ^e	2,3 ^f	1,7 ^{cdef}
Długość epikotylu [cm]*	1,2	1,3 ^g	1,2 ^h	1,2 ⁱ	1,0 ^{ghi}
Długość części nadziemnej [cm]*	3,9 ^j	3,6 ^k	3,7 ^l	3,7 ^m	2,7 ^{klm}
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,60±0,11	1,38±0,21	1,78±0,20 ⁿ	1,72±0,08 ^o	1,13±0,27 ^{no}
Chlorofil (SPAD) [-]*	47,9±11,9	45,8±11,1	47,3±10,7	48,1±11,7	44,7±10,1

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji czynnikiem fizycznym

Analizując dane przedstawione w Tabeli 48 można dostrzec, iż procent kiełkowania nasion rzodkwi nie uległ istotnej poprawie względem grupy kontrolnej w przypadku zastosowania ekstraktu z *Porphyra* sp. – zaobserwowano wzrost o 2% dla stężeń 20, 40 i 60%. Z kolei w przypadku ekstraktu z *P. palmata* wzrost tego parametru (o 12%) zaobserwowano tylko dla stężenia 40%. Dla pozostałych stężeń ekstraktu, procent kiełkowania był niższy niż dla grupy kontrolnej, jednak nie były to różnice istotne statystycznie.

Długość korzenia rzodkwi wzrosła dla 20% ekstraktu z *Porphyra* sp. (o 24% względem grupy kontrolnej) oraz dla ekstraktów z *P. palmata* o stężeniach 20% (o 40%), 40% (o 26%), 60% (o 13%) i 80% (o 21%). Pomiędzy wynikiem otrzymanym dla 20% ekstraktu z *P. palmata* a grupą kontrolną zaobserwowano różnice istotne statystycznie.

Długości hipokotyli, epikotyli i części nadziemnej rzodkwi wzrosły dla wszystkich zastosowanych stężeń ekstraktu z *Porphyra* sp. (wzrost odpowiednio o 4-38%, 15-38% i 8-44% w odniesieniu do grupy kontrolnej). Najwyższe wartości długości hipokotyli i części nadziemnej otrzymano dla 100% stężenia ekstraktu, a długości epikotyli dla 80% stężenia ekstraktu. Pomiędzy stężeniami 40-100% a grupą kontrolną wystąpiły różnice istotne statystycznie dla każdego z tych parametrów. Z kolei dla grup, w których rośliny stymulowano ekstraktem z *P. palmata* długość hipokotyli wzrosła aż 1,8-2 krotnie, długość epikotyli o 45-73%, a długość części nadziemnej o 71-92% dla wszystkich stężeń, a różnice istotne statystycznie zaobserwowano między wszystkimi stężeniami a grupą kontrolną. Najwyższą wartość dla długości hipokotyli otrzymano przy stężeniach ekstraktu 40 i 60%, a dla pozostałych dwóch parametrów przy stężeniu 60%.

Świeża masa części nadziemnej rzodkwi wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych, w przypadku ekstraktów z *Porphyra* sp. o 7-27%, zaś w przypadku ekstraktów z *P. palmata* o 61-98%. Pomiędzy stężeniami 40-100% ekstraktu z *P. palmata* a grupą kontrolną wystąpiły różnice istotne statystycznie.

Zawartość chlorofilu w liściach rzodkwi mierzona przy pomocy chlorofilomierza SPAD wzrosła dla stężeń 20 i 100% ekstraktu z *Porphyra* sp. (o 7-9%), a zmalała dla pozostałych stężeń (o 1-8%). Z kolei dla ekstraktu z *P. palmata* wartość tego parametru zmalała dla wszystkich stężeń (o 6-17%), w tym dla dwóch najwyższych stężeń w sposób istotny statystycznie względem grupy kontrolnej.

Do tej pory nie znaleziono w literaturze badań dotyczących wpływu ekstraktów z *Porphyra* sp. i *P. palmata* na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.

Ekstrakty z obu alg miały pozytywny wpływ na parametry biometryczne siewek rzodkwi zwyczajnej. Na podstawie wyników zebranych w Tabeli 48 do kolejnego etapu testów wybrano ekstrakt z *P. palmata* o stężeniach 20, 40 i 60%. Stężenia 40 i 60% spowodowały największy (aż 2-krotny) wzrost długości hipokotyli i masy części nadziemnej. Stężenie ekstraktu 20% zostało wybrane dodatkowo dla porównania, czy dodatkowa przedsiewna stymulacja nasion ultradźwiękami wpłynie na otrzymane wyniki.

Analizując dane przedstawione w Tabeli 49a można zauważyć, iż dłuższy czas stymulacji nasion (15-60 min) wpłynął negatywnie na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej. Z tego powodu wykonano drugą część badań (Tabela 49b), w której zastosowano krótsze czasy stymulacji (2,5-10 min). Procent kiełkowania nasion był najwyższy podczas stymulacji trwającej 7,5 min (88%) oraz 5 min (87% - taki sam wynik jak dla grupy kontrolnej).

Długość korzenia rzodkwi zmalała dla wszystkich zastosowanych czasów stymulacji nasion względem grupy kontrolnej (o 1-24%), z wyjątkiem czasu 10 min, dla którego długość korzenia wzrosła o 3%. Dla czasu 5 min spadek tej wartości był najmniejszy (o 1%).

Długości hipokotyli i części nadziemnej rzodkwi wzrosła dla czasów stymulacji nasion 15-60 min (o odpowiednio 5-17% i 5-11%), zaś zmalała dla czasów 2,5-10 min (o odpowiednio 4-37% i 5-31%). Rośliny z grupy, której nasiona poddano działaniu ultradźwięków przez 15 min miała istotnie statystycznie dłuższy hipokotyl niż grupa kontrolna, natomiast grupa poddana działaniu ultradźwięków przez 10 min miała istotnie statystycznie krótszy hipokotyl i krótszą część nadziemną niż grupa kontrolna. Długość epikotyli wzrosła w grupach, w których nasiona rzodkwi poddano działaniu ultradźwięków przez 2,5, 45 i 60 min (o 8-17%), zaś zmalała dla czasu 10 min (o 17%). Dla pozostałych czasów ekspozycji nasion na działanie ultradźwięków, wartość tego parametru pozostała bez zmian.

Świeża masa części nadziemnej rzodkwi zmalała w porównaniu do grupy kontrolnej dla następujących czasów ekspozycji nasion na działanie ultradźwięków: 2,5, 10, 15, 30, 45 i 60 min o 8-43%, zaś wzrosła dla czasów 5 i 7,5 min o 8-11%. Największą świeżą masę rzodkwi otrzymano przy 5-minutowej stymulacji nasion ultradźwiękami.

Zawartość chlorofilu w liściach zmalała dla wszystkich zastosowanych czasów stymulacji (o 1-20%) z wyjątkiem 7,5 min, dla którego wartość była zbliżona do grupy kontrolnej (różnica mniejsza niż 1%). Dla czasów stymulacji nasion 15 i 45 min zaobserwowano różnice istotne statystycznie w porównaniu do grupy kontrolnej.

Do tej pory, według danych literaturowych, badania z wykorzystaniem przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami prowadzone były głównie na zbożach i roślinach z rodziny bobowatych (Tabela 3). Podczas przeglądu literaturowego nie znaleziono badań dotyczących wpływu tego czynnika na nasiona rzodkwi zwyczajnej ani innych roślin z rodziny kapustowatych.

Podsumowując wyniki zebrane w Tabeli 49 można wnioskować, że przedsiewna stymulacja nasion ultradźwiękami nie wykazała istotnie pozytywnego wpływu na kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Jednak ze względu na wskazywany w literaturze pozytywny wpływ ultradźwięków na wchłanianie wody do nasion (który sprzyja szybszemu kiełkowaniu nasion) [38] można przypuszczać, iż mogłyby one także zwiększyć wchłanianie ekstraktu algowego przez nasiona. Z tego powodu zdecydowano się na przeprowadzenie kolejnego etapu testów, w którym zastosowano jednoczesną przedsiewną stymulację nasion ultradźwiękami i wcześniej wybranymi stężeniami ekstraktu z *P. palmata*. Do kolejnego etapu wybrano czas stymulacji nasion ultradźwiękami 5 min, gdyż dla tego czasu nie uzyskano istotnego spadku żadnego z badanych parametrów – wszystkie wyniki były zbliżone do grupy kontrolnej.

Wyniki dotyczące wpływu jednoczesnej przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami (czas – 5 min) i ekstraktem z *P. palmata* (20, 40 i 60%) aplikowanym donasiennie na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon* przedstawiono w Tabeli 50.

Tabela 50. Wpływ jednoczesnej stymulacji ultradźwiękami i ekstraktem z *Palmaria palmata* na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej odmiany *Faraon*

(a) Testy kiełkowania								
Mierzony parametr	Brak stymulacji ultradźwiękami				Przedsięwna stymulacja ultradźwiękami			
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 20%	Ekstrakt 40%	Ekstrakt 60%	US	Ekstrakt 20% + US	Ekstrakt 40% + US	Ekstrakt 60% + US
Procent kiełkowania [%]*	68	82	60	84	78	88	80	68
Długość korzenia [cm]*	5,2 ^{abc}	2,7 ^{adef}	5,3 ^{dgh}	2,5 ^{bgijk}	5,7 ^{eil}	1,9 ^{chlmn}	4,9 ^{im}	6,6 ^{fkn}
Długość hipokotylu [cm]*	1,5 ^o	1,6 ^{pqr}	2,0 ^{pst}	2,0 ^{oquv}	1,5 ^{suwx}	1,5 ^{tyy}	1,9 ^w	1,9 ^{xy}
Długość epikotylu [cm]*	1,1 ^{za'b'}	1,4	1,4	1,6 ^{zc'd'}	1,3 ^{e'e'}	1,3 ^{d'f'}	1,6 ^{a'e'f'}	1,5 ^{b'}
Długość części nadziemnej [cm]*	2,7 ^{g'h'i'j'}	3,0 ^{k'l'm'n'}	3,6 ^{g'k'o'p'}	3,6 ^{h'l'q'r'}	2,7 ^{o'q's't'}	2,9 ^{p'r'u'}	3,6 ^{i'm's'}	3,3 ^{j'n't'u'}
Świeża masa części nadziemnej [g]*	1,11 ^{v'w'}	1,56	1,35	1,97 ^{v'}	1,41	1,74	1,88 ^{w'}	1,35
Chlorofil (SPAD) [–]*	39,4 ^{x'y'}	53,7 ^{x'z'}	49,0	46,3	37,7 ^{z'a''b''}	56,3 ^{y'a''}	49,1 ^{b''}	48,4

(b) Testy doniczkowe								
Mierzony parametr	Brak stymulacji ultradźwiękami				Przedsięwna stymulacja ultradźwiękami			
	Grupa kontrolna	Ekstrakt 20%	Ekstrakt 40%	Ekstrakt 60%	US	Ekstrakt 20% + US	Ekstrakt 40% + US	Ekstrakt 60% + US
Procent kiełkowania [%]*	89	89	100	94	89	89	89	89
Długość hipokotylu [cm]*	7,1	5,8 ^{abc}	7,7	8,5 ^a	7,4 ^b	7,3 ^c	7,2	7,7
Długość epikotylu [cm]*	3,3 ^d	3,8	3,8	4,0 ^d	3,6	3,7	3,8	4,1
Długość części nadziemnej [cm]**	10,7±2,0 ^e	9,9±2,0 ^f	11,0±2,0	12,4±2,2 ^{ef}	11,5±2,1	11,4±1,9	11,0±2,8	11,4±2,2
Świeża masa części nadziemnej [g]*	2,04	2,10	2,84	2,71	2,24	2,63	2,49	2,72
Chlorofil (SPAD) [–]*	27,5	28,4	29,9	28,4	27,7	28,4	26,9	27,3

a, b, c,... – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

** test Tukeya (wyniki przedstawione jako średnia ± odchylenie standardowe)

US – ultradźwięki

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji ekstraktem algowym ani czynnikiem fizycznym

Analizując dane zebrane w Tabeli 50a można zauważyć, iż podczas testów szalkowych na procent kiełkowania nasion pozytywnie wpłynęła stymulacja ekstraktem z *P. palmata* o stężeniu 20 i 60%, stymulacja samymi ultradźwiękami oraz łączna stymulacja ultradźwiękami i ekstraktem 20 oraz 40%. Natomiast stymulacja samym ekstraktem o stężeniu 40% wpłynęła negatywnie na ten parametr. Najwyższą wartość procentu kiełkowania nasion otrzymano dla jednoczesnej stymulacji ultradźwiękami i 20% ekstraktem algowym (wzrost o 20% względem grupy kontrolnej). Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie dla tego parametru pomiędzy poszczególnymi grupami.

Długość korzenia rzodkwi wzrosła względem grupy kontrolnej dla stymulacji nasion samymi ultradźwiękami (wzrost o 10%) oraz dla łącznej stymulacji ultradźwiękami i 60% ekstraktem algowym (wzrost o 27%). Dla grupy stymulowanej 40% ekstraktem (zarówno samym, jak i łącznie z ultradźwiękami) nie zaobserwowano dużych różnic (wzrost o 2% dla samego ekstraktu i spadek o 6% dla łącznej stymulacji). Z kolei dla pozostałych trzech grup zaobserwowano statystycznie istotny spadek długości korzenia względem grupy kontrolnej (o 48-63%).

Długość hipokotylu rzodkwi wzrosła dla stymulacji nasion samym ekstraktem (o 7-33%) oraz łącznej stymulacji ultradźwiękami i ekstraktem 40 i 60% (o 27% dla obu). Z kolei dla pozostałych grup eksperymentalnych wartość ta nie uległa zmianie względem grupy kontrolnej. Pomiędzy wynikiem uzyskanym dla 60% ekstraktu (bez ultradźwięków) a grupą kontrolną zaobserwowano różnice istotne statystycznie. Długość epikotyłu wzrosła dla wszystkich zastosowanych metod stymulacji (o 18-45%). Najwyższe wyniki uzyskano dla samego 60% ekstraktu oraz połączenia ultradźwięków i ekstraktów o stężeniu 40 i 60 %. Dla tych grup zaobserwowano istotnie statystyczny wzrost tego parametru względem grupy kontrolnej. Długość części nadziemnej rzodkwi wzrosła dla wszystkich metod stymulacji, w których zastosowano ekstrakty algowe (o 7-33%). Wzrost istotnie statystyczny zaobserwowano dla grup stymulowanych ekstraktami algowymi o stężeniach 40 i 60% (stosowanych zarówno w połączeniu z ultradźwiękami, jak i samodzielnie).

Masa części nadziemnej rzodkwi wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych o 22-77% względem grupy kontrolnej. Wzrost istotny statystycznie otrzymano dla grupy poddanej stymulacji samym 60% ekstraktem oraz łącznej stymulacji ultradźwiękami i 40% ekstraktem.

Zawartość chlorofilu w liściach rzodkwi wzrosła dla wszystkich metod stymulacji, w których zastosowano ekstrakty algowe (o 18-43%). Wzrost istotny statystycznie dla

zawartości chlorofilu zaobserwowano dla obu grup poddanych działaniu 20% ekstraktu algowego (stosowanego zarówno w połączeniu z ultradźwiękami, jak i samodzielnie).

Na podstawie przeprowadzonych testów kiełkowania nie udało się jednoznacznie wybrać najlepszej grupy badawczej łączącej jednocześnie zastosowanie ultradźwięków i ekstraktu z *P. palmata*, która wpłynęłaby znacząco na wzrost procentu kiełkowania nasion rzodkwi i parametrów biometrycznych w porównaniu do grupy kontrolnej. Zastosowanie ekstraktu o niższym stężeniu (20%) pozwoliło na zwiększenie procentu kiełkowania i zawartości chlorofilu w liścieniach, z kolei dla ekstraktów o wyższych stężeniach (40 i 60%) otrzymano wyższe wartości długości korzenia, hipokotyłu, epikotyłu i części nadziemnej rośliny. Z tego powodu w kolejnym etapie badań zastosowano wszystkie te same grupy badawcze, aby sprawdzić czy zależności te zostaną potwierdzone podczas testów doniczkowych.

Wyniki przedstawione w Tabeli 50b wskazują, iż pozytywny wpływ na procent kiełkowania nasion miała ich stymulacja ekstraktami algowymi z *P. palmata* o stężeniach 40% (wzrost o 11%) i 60% (wzrost o 5%). Dla pozostałych metod stymulacji otrzymano taki sam wynik jak dla grupy kontrolnej.

Długości hipokotyłu i części nadziemnej rzodkwi wzrosły (o odpowiednio 1-20% i 3-16%) dla wszystkich grup eksperymentalnych z wyjątkiem grupy, w której nasiona rzodkwi stymulowano samym ekstraktem algowym o stężeniu 20% (spadek o odpowiednio 18% i 7%). W przypadku 20% stężenia ekstraktu, zastosowanie ultradźwięków jako dodatkowego czynnika stymulującego wpłynęło pozytywnie na długość hipokotyłu i części nadziemnej, zaś w przypadku 60% stężenia ekstraktu negatywnie. Dla długości hipokotyłu, także przy 40% stężeniu, otrzymano niższą wartość przy połączeniu stymulacji nasion z ultradźwiękami niż dla samego ekstraktu. Długość epikotyłu wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych względem grupy kontrolnej (o 9-24%).

Świeża masa części nadziemnej rzodkwi wzrosła dla wszystkich grup badawczych względem grupy kontrolnej o 3-39%. Najwyższą wartość tego parametru otrzymano dla stymulacji nasion 40% ekstraktem algowym.

Zawartość chlorofilu w liściach wzrosła dla wszystkich grup eksperymentalnych w porównaniu do grupy kontrolnej (o 1-9%), z wyjątkiem grupy poddanej jednoczesnej stymulacji ultradźwiękami i ekstraktem o stężeniu 60%, dla której zaobserwowano nieznaczny spadek względem grupy kontrolnej (o 2%).

Podsumowując, najlepsze wyniki badań uzyskano dla stymulacji nasion ekstraktem algowym o stężeniu 60% (największa długość hipokotylu i części nadziemnej, drugi najwyższy procent kiełkowania nasion, długość epikotylu i zawartość chlorofilu w liściach, trzecia najwyższa masa świeżej części nadziemnej spośród wszystkich badanych grup). Jednak zauważono także, że w przypadku 20% stężenia ekstraktu algowego dodatkowa stymulacja nasion ultradźwiękami pozwoliła na poprawę większości parametrów, w porównaniu do grupy, w której nasiona stymulowano samym ekstraktem. Grupa, w której nasiona poddano jednocześnie przedsiewnej stymulacji ultradźwiękami i 20% ekstraktem algowym wypadła gorzej niż grupa, w której nasiona stymulowano samym 60% ekstraktem, jednak połączenie dwóch metod stymulacji pozwoliło uzyskać zbliżone wyniki przy zastosowaniu 3-krotnie mniejszej ilości ekstraktu. Dodatkowa stymulacja ultradźwiękami może zatem umożliwić stosowanie niższych stężeń ekstraktu algowego, a przez to jest to metoda bardziej opłacalna pod względem ekonomicznym.

5.4.10. Wpływ nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* i ultradźwięków na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej oraz rozwój grzybów obecnych na powierzchni nasion

Wyniki dotyczące wpływu jednoczesnej przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami i nanocząstkami tlenku cynku biosyntezyzowanymi z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* (aplikowanymi donasiennie podczas testów kiełkowania *top paper*) na kiełkowanie nasion rzodkwi odmiany *Saxa 2* zwyczajnej przedstawiono w Tabeli 51. Do badań zastosowano nanocząstki nr 12, 14 i 23 według Tabela 16. Nanocząstki te były biosyntezyzowane przy użyciu tej samej metody [206] z niewielkimi modyfikacjami zastosowanymi do nanocząstek nr 14 i 23 – w przypadku nanocząstek nr 14 jako rozpuszczalnik zastosowano etanol zamiast wody, natomiast w przypadku nanocząstek nr 23 zamiast mieszać ekstrakt z octanem cynku przez 2 h, roztwór ten poddano działaniu ultradźwięków przez 30 min. Testowane tężenia nanocząstek tlenku cynku wynosiły 1, 10 i 50 mg/L.

Tabela 51. Wpływ jednoczesnej stymulacji ultradźwiękami i nanocząstkami tlenku cynku biosyntezowanymi z użyciem ekstraktu z *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej odmiany *Saxa 2*

Mierzony parametr	Brak stymulacji nasion ultradźwiękami										Stymulacja nasion ultradźwiękami									
	Grupa kontrolna	Nanocząstki ZnO nr 12 – stężenie [mg/L]			Nanocząstki ZnO nr 14 – stężenie [mg/L]			Nanocząstki ZnO nr 23 – stężenie [mg/L]			US	Nanocząstki ZnO nr 12 – stężenie [mg/L] + US			Nanocząstki ZnO nr 14 – stężenie [mg/L] + US			Nanocząstki ZnO nr 23 – stężenie [mg/L] + US		
		1	10	50	1	10	50	1	10	50		1	10	50	1	10	50	1	10	50
Energia kiełkowania 1 [%]*	88	64	88	88 ^a	64	80	24	60	56	60	52	60	60	68	64	52	24 ^a	56	48	56
Energia kiełkowania 2 [%]*	92	92	88	92	92	88	92	92	80	84	84	84	88	88	92	76	84	88	84	80
Procent kiełkowania [%]*	92	92	88	92	92	92	92	92	88	84	88	84	88	88	92	76	84	88	84	80
Nasiona twarde [-]*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nasiona zdrowe niekiełkujące [-]*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nasiona martwe [-]*	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0
Nasiona kiełkujące, z których wyrosły siewki nienormalne [-]*	1	1	1	1	2	1	2	2	2	3	3	2	1	1	2	5	3	2	3	4

a – różnice statystycznie istotne dla $p < 0,05$

* test Kruskala-Wallisa (wyniki przedstawione jako mediana)

US – ultradźwięki

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji roztworem nanocząstek ani czynnikiem fizycznym

Na podstawie danych przedstawionych w Tabeli 51 można zauważyć, iż niektóre z zastosowanych metod stymulacji nasion wpłynęły negatywnie na energię kiełkowania. Jednak procent kiełkowania nasion nie odbiegał znacząco dla wyniku otrzymanego dla grupy kontrolnej. Najwięcej siewek nienormalnych zaobserwowano dla grupy nasion stymulowanej ultradźwiękami i roztworem nanocząstek tlenku cynku nr 14 o stężeniu 10 mg/L (5 siewek) oraz ultradźwiękami i roztworem nanocząstek tlenku cynku nr 23 o stężeniu 50 mg/L (4 siewki). Badania te zostały przeprowadzone, aby sprawdzić potencjalną fitotoksyczność nanocząstek tlenku cynku dla nasion rzodkwi, które zastosowano w kolejnym etapie badań jako substancje przeciwgrzybiczne.

Badania dotyczące właściwości przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku i ultradźwięków polegały na ocenie i porównaniu ilości grzybów znajdujących się na powierzchni nasion, poddanych i niepoddanych przewidzianej stymulacji, po dwóch tygodniach od ich umieszczenia na szalkach zawierających pożywkę (agar ziemniaczano-glukozowy). Pożywka umożliwia rozwój grzybów znajdujących się na nasionach. Różne gatunki grzybów znajdujące się na nasionach mogą być przenoszone na inne uprawiane rośliny [433]. Z tego powodu istotne jest poszukiwanie metod stymulacji nasion zapobiegającej ich rozwojowi na powierzchni nasion. Wyniki przedstawiające procentową ilość grzybów poszczególnych gatunków, które zaobserwowano w badaniach właściwości przeciwgrzybiczych wybranych nanocząstek (nr 12, 14 i 23 według Tabeli 16) o stężeniach 1, 10 i 50 mg/L zaprezentowano w Tabeli 52. Nanocząstki tlenku cynku były aplikowane na nasiona na dwa sposoby – poprzez namaczanie nasion w roztworze nanocząstek lub poprzez namaczanie nasion w roztworze nanocząstek tlenku cynku i jednocześnie poddanie działaniu ultradźwięków.

Tabela 52. Procent nasion zainfekowanych poszczególnymi gatunkami grzybów po poddaniu przedśiewnej stymulacji ultradźwiękami i roztworami nanocząstek nr 12, 14 i 23 według Tabeli 16

Gatunek grzyba	Brak stymulacji nasion ultradźwiękami										Stymulacja nasion ultradźwiękami									
	Grupa kontrolna	Nanocząstki ZnO nr 12 – stężenie [mg/L]			Nanocząstki ZnO nr 14 – stężenie [mg/L]			Nanocząstki ZnO nr 23 – stężenie [mg/L]			US	Nanocząstki ZnO nr 12 – stężenie [mg/L] + US			Nanocząstki ZnO nr 14 – stężenie [mg/L] + US			Nanocząstki ZnO nr 23 – stężenie [mg/L] + US		
		1	10	50	1	10	50	1	10	50		1	10	50	1	10	50	1	10	50
<i>Acremonium spp.</i>	3±4	0±0	4±0	0±0	0±0	1±1	3±4	3±1	1±1	4±3	2±3	2±0	0±0	0±0	0±0	1±1	4±0	2±0	0±0	2±0
<i>Alternaria alternata</i>	15±7	21±7	25±7	17±1	16±3	23±1	21±4	29±4	22±3	25±10	10±0	6±8	8±6	3±1	30±11	8±8	7±4	15±4	7±1	6±6
<i>Alternaria raphani</i>	1±1	7±4	1±1	3±1	3±4	2±3	3±1	5±4	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	2±0	2±3	0±0	0±0	2±3	1±0
<i>Alternaria tenuissima</i>	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Aureobasidium pullulans</i>	2±0	0±0	5±4	1±1	2±0	0±0	2±0	2±3	3±1	0±0	1±1	0±0	1±1	1±1	3±1	0±0	3±1	2±3	1±1	1±1
<i>Chaetomium spp.</i>	0±0	1±1	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Cladosporium herbarum</i>	5±4	2±0	5±1	8±3	7±7	7±4	5±4	3±1	10±11	2±0	1±1	5±4	1±1	5±4	2±3	5±7	1±1	5±1	3±1	2±3
<i>Curvularia sp.</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Drechslera sp.</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0
<i>Geotrichum</i>	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Epicocum purpurascens</i>	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Mucor spp.</i>	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1
<i>Papulaspora sp.</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Papularia arundinis</i>	0±0	1±1	1±1	0±0	1±1	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Penicillium spp.</i>	3±1	2±0	2±0	0±0	7±1	0±0	1±1	5±4	7±4	3±4	0±0	0±0	4±6	2±0	4±3	0±0	0±0	4±0	4±6	3±4
<i>Phoma sp.</i>	2±3	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Rhizoctonia solani</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	2±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Sclerotinia sp.</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>Stemphylium botryosum</i>	5±4	1±1	0±0	3±1	4±3	2±0	2±3	2±0	3±1	5±1	2±3	2±3	2±3	2±0	0±0	1±1	2±0	5±1	5±1	1±1

Gatunek grzyba	Brak stymulacji nasion ultradźwiękami										Stymulacja nasion ultradźwiękami									
	Grupa kontrolna	Nanocząstki ZnO nr 12 – stężenie [mg/L]			Nanocząstki ZnO nr 14 – stężenie [mg/L]			Nanocząstki ZnO nr 23 – stężenie [mg/L]			US	Nanocząstki ZnO nr 12 – stężenie [mg/L] + US			Nanocząstki ZnO nr 14 – stężenie [mg/L] + US			Nanocząstki ZnO nr 23 – stężenie [mg/L] + US		
		1	10	50	1	10	50	1	10	50		1	10	50	1	10	50	1	10	50
<i>Stemphylium consortiale</i>	13±4	11±4	9±10	1±1	6±3	18±6	18±3	19±7	19±10	16±3	2±3	3±4	9±1	0±0	24±0	4±0	1±1	4±3	3±1	5±1
Grzybnia niezarodnikująca	0±0	0±0	1±1	1±1	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0	0±0	1±1	1±1	0±0	0±0	1±1	0±0	3±1	0±0	0±0	0±0
Suma	50±3	48±6	54±14	46±6	47±1	56±0	57±4	68±8	66±3	56±0	19±1	21±10	26±8	14±3	68±6	21±4	21±7	38±6	25±4	22±3

US – ultradźwięki

grupa kontrolna – grupa nie poddana stymulacji roztworem nanocząstek ani czynnikiem fizycznym

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 52 można dostrzec, iż przedsięwzięte traktowanie nasion rzodkwi zwyczajnej odmiany *Saxa 2* roztworami nanocząstek tlenku cynku nie zmniejszyła łącznej ilości grzybów obecnych na powierzchni nasion w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednak dodatkowe zastosowanie ultradźwięków w przedsięwziętej stymulacji nasion znacznie poprawiło otrzymane wyniki. Najlepsze rezultaty otrzymano dla nanocząstek tlenku cynku nr 12 o stężeniu 50 mg/L zastosowanych w połączeniu z ultradźwiękami (grzyby znajdowały się na powierzchni 14% nasion). Drugi najlepszy wynik uzyskano dla stymulacji nasion samymi ultradźwiękami (grzyby znajdowały się na powierzchni 19% nasion). Zastosowanie nanocząstek tlenku cynku łącznie z ultradźwiękami okazało się korzystniejsze niż zastosowanie samych ultradźwięków w przypadku najpowszechniej występującego na badanych nasionach grzyba – *Alternaria alternata*. Zastosowanie wszystkich badanych nanocząstek tlenku cynku o stężeniach 10 i 50 mg/L oraz nanocząstek tlenku cynku nr 12 o stężeniu 1 mg/L razem z ultradźwiękami zmniejszyło ilość tego grzyba na powierzchni nasion bardziej niż zastosowanie samych ultradźwięków. Zastosowanie ultradźwięków znacząco ograniczyło występowanie grzybów takich jak *Alternaria alternata*, *Alternaria raphani*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium* spp., *Stemphylium botryosum* oraz *Stemphylium consortiale*.

Do tej pory w literaturze nie znaleziono badań dotyczących zastosowania ultradźwięków jako czynnika zmniejszającego ilość grzybów na powierzchni nasion. Analiza literaturowa potwierdza jednak właściwości przeciwgrzybicze ultradźwięków, m.in. wobec *Penicillium* spp. [42], [43]. Badania literaturowe potwierdzają także przeciwgrzybicze właściwości nanocząstek tlenku cynku, m.in. wobec *Alternaria alternata* [344].

Podsumowując, spośród dwóch badanych czynników (roztwory nanocząstek tlenku cynku i ultradźwięki), przedsięwzięta stymulacja nasion ultradźwiękami wykazała znacznie większe działanie przeciwgrzybicze. Zastosowanie ultradźwięków pozwoliło na aż 2,6-krotne zmniejszenie liczby grzybów na powierzchni badanych nasion rzodkwi zwyczajnej odmiany *Saxa 2*. Z kolei zastosowanie obu czynników jednocześnie umożliwiło zmniejszenie liczby grzybów na powierzchni nasion aż 3,6-krotnie (w przypadku roztworu nanocząstek tlenku cynku nr 12 o stężeniu 50 mg/L). Oznacza to, że zastosowanie obu tych metod przedsięwziętej stymulacji może być skuteczną metodą zapobiegania rozwojowi grzybów na powierzchni nasion i roślin.

5.5. Zagospodarowanie pozostałości poekstrakcyjnej do biosorpcji jonów Cr(III)

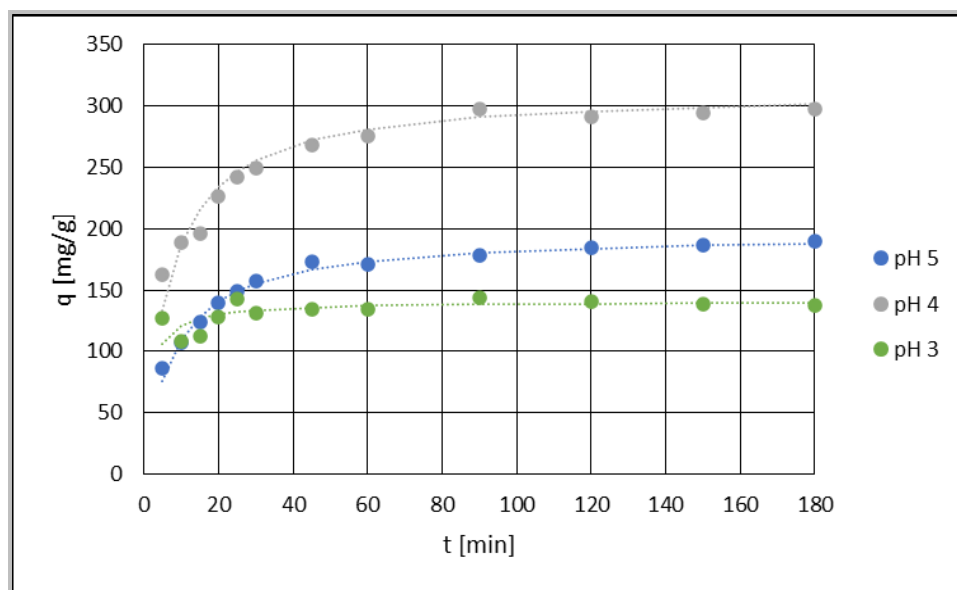
W niniejszym rozdziale przedstawiono wyniki dla zastosowania pozostałości poekstrakcyjnej (po ekstrakcji związków aktywnych metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganą ultradźwiękami) z sześciu makroalg jako biosorbentu jonów Cr(III). Jednocześnie przeprowadzono badania mające na celu określenie właściwości biosorpcyjnych samych makroalg. Do badań wybrano po dwa gatunki należące do każdej z trzech gromad: zielenice – *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp., brunatnice – *Sargassum* sp. i *Fucus vesiculosus* oraz krasnorosty – *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata*. Badania te miały na celu pokazanie możliwości zagospodarowania pozostałości, stanowiącej odpad po procesie ekstrakcji jako biosorbentu jonów metali ciężkich.

W pierwszym etapie badań przeprowadzono doświadczenia nad kinetyką procesu biosorpcji jonów Cr(III) w celu wyznaczenia czasu niezbędnego do osiągnięcia stanu równowagi. Doświadczenie prowadzone było dla różnych warunków doświadczalnych. Sprawdzone wpływ pH i stężenia początkowego roztworu jonów Cr(III) oraz stężenia sorbentu na proces biosorpcji. Zestawienie uzyskanych wartości równowagowej pojemności biosorpcyjnej (wyznaczonej z modelu pseudo-II-rzędowego – równanie 1) dla przebadanych makroalg i pozostałości poekstrakcyjnych przedstawiono w Tabeli 53.

Tabela 53. Pojemność biosorpcyjna makroalg oraz pozostałości po ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami związków biologicznie aktywnych z makroalg w stosunku do jonów Cr(III)

pH	C ₀ [mg/L]	C _s [g/L]	q _{eq} [mg/g]	
			makroalga	pozostałość poekstrakcyjna
Cladophora glomerata				
5	300	1	196	208
4	300	1	313	333
3	300	1	141	172
5	200	1	345	345
5	100	1	244	250
4	300	0,5	309	319
4	300	2	210	232
Enteromorpha sp.				
5	300	1	71,1	64,0
4	300	1	34,3	36,3
3	300	1	13,8	27,8
5	200	1	47,6	51,1
5	100	1	35,7	46,4
5	300	0,5	81,1	42,8
5	300	2	84,4	87,3
Sargassum sp.				
5	300	1	82,0	81,3
4	300	1	31,9	31,0
3	300	1	21,9	32,4
5	200	1	50,8	91,7
5	100	1	40,7	57,8
5	300	0,5	70,5	69,4
5	300	2	59,8	58,3
Fucus vesiculosus				
5	300	1	133	137
4,5	300	1	54,9	63,3
4	300	1	47,8	43,1
5	200	1	63,3	91,7
5	100	1	48,1	52,4
5	300	0,5	78,1	75,8
5	300	2	51,0	58,1
Porphyra sp.				
5	300	1	74,8	21,9
4,5	300	1	24,9	13,7
4	300	1	18,0	10,2
5	200	1	30,3	23,5
5	100	1	31,6	20,7
5	300	0,5	74,6	38,9
5	300	2	26,0	16,3
Palmaria palmata				
5	300	1	40,7	26,2
4,5	300	1	16,8	19,6
4	300	1	14,4	16,2
5	200	1	23,0	26,0
5	100	1	22,9	25,9
5	300	0,5	39,4	28,7
5	300	2	19,9	20,1

Przykładowy wykres zależności pojemności biosorpcyjnej od czasu dla algi *C. glomerata* (C₀=300 mg/L, C_s=1g/L) dla różnych pH przedstawiono na Rysunku 41.



Rysunek 41. Wykres zależności pojemności biosorpcyjnej od czasu na przykładzie makroalg *Cladophora glomerata* ($C_0=300$ mg/L, $C_S=1$ g/L)

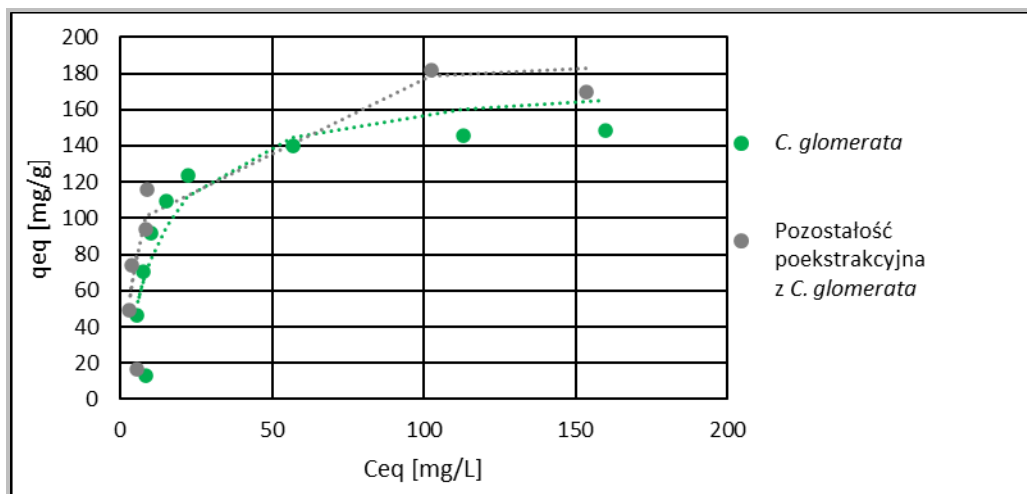
Analizując wyniki zebrane w Tabeli 53 można zauważyć, że dla różnych gatunków makroalg różne warunki doświadczalne (pH, stężenie początkowe jonów Cr(III) w roztworze, stężenie sorbentu) pozwoliły na uzyskanie najwyższej wartości równowagowej pojemności biosorpcyjnej. Zazwyczaj najkorzystniejszy wynik otrzymywano dla pH 5, $C_0=300$ mg/L i $C_S=1$ g/L. Szczegółowe porównanie wpływu badanych czynników na proces biosorpcji opisano w Rozdziałach 5.5.1-5.5.4.

Dla wszystkich biosorbentów (sześciu makroalg i pozostałości poekstrakcyjnych) wykonano także statykę procesu biosorpcji. Statykę wykonano dla najlepszych dla danego biosorbentu parametrów, wybranych na podstawie analizy danych przedstawionych w Tabeli 53. Do przeprowadzenia procesu statyki przygotowano roztwory jonów Cr(III) o stężeniach początkowych 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250 i 300 mg/L. Zestawienie maksymalnych wartości pojemności biosorpcyjnej (wyznaczonych z izotermy Langmuira – równanie 4) uzyskanych dla poszczególnych makroalg i pozostałości poekstrakcyjnych przedstawiono w Tabeli 54.

Tabela 54. Maksymalna pojemność biosorpcyjna makroalg oraz pozostałości po ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami związków biologicznie aktywnych z makroalg w stosunku do jonów Cr(III)

Alga	pH	C_S [g/L]	q_{max} [mg/g]	
			alga	pozostałość poekstrakcyjna
<i>C. glomerata</i>	4	1	169	192
<i>Enteromorpha</i> sp.	5	1	50,5	48,1
<i>Sargassum</i> sp.	5	1	59,9	66,7
<i>F. vesiculosus</i>	5	1	70,4	73,8
<i>Porphyra</i> sp.	5	1	46,5	29,6
<i>Palmaria palmata</i>	5	1	29,7	23,4

Przykładowe izotermie Langmuira dla algi *C. glomerata* i pozostałości poekstrakcyjnej z tej algi (pH 4, $C_S=1\text{ g/L}$) przedstawiono na Rysunku 42.



Rysunek 42. Izotermie Langmuira dla makroalgi *Cladophora glomerata* i pozostałości poekstrakcyjnej z *Cladophora glomerata*

Analizując wyniki przedstawione w Tabeli 54 można stwierdzić, iż najwyższe wartości maksymalnej pojemności biosorpcyjnej uzyskano dla tych samych biosorbentów, dla których uzyskano najwyższe wartości równowagowej pojemności biosorpcyjnej (Tabela 53). W przypadku trzech makroalg (*Cladophora glomerata*, *Sargassum* sp. i *Fucus vesiculosus*) wyższą maksymalną pojemność biosorpcyjną uzyskano dla pozostałości poekstrakcyjnej niż dla samej makroalgi.

5.5.1. Wpływ pH

Wraz ze wzrostem wartości pH do 5 pojemność biosorpcyjna dla większości badanych biosorbentów (z wyjątkiem *C. glomerata* i pozostałości poekstrakcyjnej z *C. glomerata*) wzrastała, ponieważ zmniejszało się odpychania elektrostatycznego między powierzchnią sorbentu a kationami chromu. Powodowało to zmniejszenie się współzawodnictwa między kationami chromu i protonami jonów wodorowych a grupami funkcyjnymi sorbentów [233]. Badania prowadzono dla pH nie większych niż 5, gdyż wyższe wartości pH powodowały zmętnienie roztworu i wytrącanie się wodorotlenku chromu (III) [434]. Analiza literaturowa potwierdza, iż pH 5 jest zazwyczaj najkorzystniejsze do biosorpcji jonów Cr(III) z zastosowaniem makroalg, ale pojawiły się także badania w których niższe pH (4 lub 4,5) okazało się korzystniejsze (Załącznik 1).

5.5.2. Wpływ stężenia początkowego jonów chromu

Dla większości z przebadanych makroalg (z wyjątkiem *C. glomerata* i *Porphyra* sp.) oraz pozostałości poekstrakcyjnych (z wyjątkiem pozostałości z *C. glomerata*) pojemność biosorpcyjna rosła wraz ze wzrostem stężenia początkowego jonów Cr(III) w roztworze. Dane literaturowe (Załącznik 1 i Załącznik 2) potwierdzają wpływ stężenia początkowego jonów metalu na proces biosorpcji z wykorzystaniem makroalg lub pozostałości poekstrakcyjnej z makroalg, nie wskazują jednak najodpowiedniejszego stężenia, gdyż może się ono różnić w zależności od rodzaju biosorbentu oraz pozostałych parametrów procesu. Według danych literaturowych wyższe stężenie początkowe metalu w roztworze pozwala przezwyciężyć opór występujący pomiędzy fazą wodną a stałą. Oznacza to, że ilość związanego jonu metalu ciężkiego na jednostkę masy biosorbentu ulega zwiększeniu wraz ze wzrostem stężenia początkowego metalu [435].

5.5.3. Wpływ stężenia biosorbentu

Dla przebadanych biosorbentów nie da się jednoznacznie wskazać najlepszego stężenia biosorbentu, gdyż wyniki różniły się w zależności od zastosowanej makroalgi. Powodem większej adsorpcji jonów metali ciężkich przy zastosowaniu większej dawki biosorbentu jest dostępność większej liczby miejsc wiążących na powierzchni biosorbentów. Jednak wybierając odpowiednie stężenie sorbentu należy kierować się również kosztem procesu, który wzrasta przy konieczności użycia dużych stężeń. Z tego powodu przy obliczaniu wartości pojemności biosorpcyjnej w mianowniku uwzględniane jest stężenie sorbentu [233]. Ponadto zbyt duże stężenie sorbentu może doprowadzić do jego agregacji w roztworze. Dochodzi wtedy do zmniejszenia całkowitej dostępnej powierzchni sorbentu [436].

5.5.4. Wpływ rodzaju makroalgi

Ilość zaadsorbowanych jonów metalu ciężkiego przez dany biosorbent może się różnić w zależności od gatunku zastosowanej makroalgi. Dzieje się tak, ponieważ ściany komórkowe niektórych alg mogą posiadać w swoim składzie więcej polisacharydów, które są źródłem grup funkcyjnych uczestniczących w wiązaniu jonów metali z roztworu [233]. Analiza literaturowa (Załącznik 1) wskazuje, iż lepszymi biosorbentami są brunatnice i krasnorosty, a zielenice słabszymi. Najwyższą równowagową pojemność biosorpcyjną względem jonów Cr(III) uzyskano do tej pory dla krasnorostu *Galaxaura oblongata* (105 mg/g) [437] i brunatnicy *Durvillaea antarctica* (103 mg/g) [438]. Pośród zielenic najwyższą wartość uzyskano dla *Enteromorpha prolifera* (71,9 mg/g) [72]. Z kolei w badaniach przedstawionych w niniejszej pracy doktorskiej, największą wartość równowagowej pojemności biosorpcyjnej uzyskano dla

zielenicy *C. glomerata* (345 mg/g). Kolejne miejsce zajęły *F. vesiculosus* (133 mg/g), *Enteromorpha* sp. (84,4 mg/g), *Sargassum* sp. (82,0 mg/g), *Porphyra* sp. (74,8 mg/g) i *P. palmata* (40,7 mg/g). Porównując otrzymane wyniki z danymi literaturowymi należy wziąć pod uwagę warunki, w których prowadzony był proces biosorpcji.

Do tej pory w literaturze opisano jedno badanie z wykorzystaniem pozostałości poekstrakcyjnej z makroalgi do biosorpcji jonów Cr(III) z roztworu wodnego. Była to pozostałość po ekstrakcji alginianu z *Sargassum filipendula*. Wartość uzyskanej równowagowej pojemności biosorpcyjnej była znacznie niższa (5,72 mg/g) [254] niż przytoczone wcześniej wartości dla samych makroalg. Może to wynikać z innych warunków badania (pH 3,5, $C_0=52$ mg/L, $C_s=2$ g/L, $T=25$ °C, $t=24$ h). Podobne zależności można zaobserwować dla jonów innych metali (Załącznik 1 i Załącznik 2). Jednak wyniki badań opisanych w niniejszej pracy doktorskiej wskazują, iż pozostałość po ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganiej ultradźwiękami może być równie dobrym biosorbentem co sama makroalga, co widać na przykładzie alg *C. glomerata*, *F. vesiculosus* i *Sargassum* sp., dla których wyniki uzyskane dla pozostałości poekstrakcyjnych są zbliżone do wyników uzyskanych dla makroalg, a dla niektórych warunków nawet wyższe.

Zagospodarowanie odpadu, jakim jest pozostałość powstająca po ekstrakcji związków aktywnych z biomasy alg, jest kluczowe z punktu widzenia gospodarki o obiegu zamkniętym. Zaproponowane w niniejszym rozdziale rozwiązanie zakłada zastosowanie pozostałości poekstrakcyjnej jako biosorbentu jonów metali ciężkich. Opisane wyniki udowodniły, że pozostałość poekstrakcyjna z wybranych makroalg (w szczególności *C. glomerata* i *F. vesiculosus*) może być skutecznym biosorbentem jonów Cr(III) z roztworów wodnych. Przeprowadzona analiza literaturowa (Załącznik 1 i Załącznik 2) pozwala przypuszczać, iż mogłaby ona stanowić także skuteczny biosorbent jonów innych metali ciężkich, gdyż w wielu przypadkach algi będące skutecznymi biosorbentami jonów jednego metalu ciężkiego były także skutecznymi biosorbentami dla jonów pozostałych metali ciężkich. Jednak w celu sprawdzenia skuteczności badanych biosorbentów konieczne są dalsze badania z wykorzystaniem roztworów innych metali ciężkich.

6. Podsumowanie

Celem głównym pracy doktorskiej było opracowanie bezpiecznych dla środowiska metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin, poprzez zastosowanie niechemicznych metod przedsiewnej stymulacji nasion (czynniki fizycznych) oraz bioproduktów na bazie biomasy makroalg takich jak ekstrakty algowe otrzymane na drodze ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami i biosyntezy z nich nanocząstki tlenków metali (aplikowane zarówno przedsiewnie, jak i w trakcie wzrostu roślin). Nowością w niniejszej pracy doktorskiej było jednoczesne zastosowanie czynników fizycznych i bioproduktów na bazie makroalg. Do przedsiewnej stymulacji nasion wykorzystano stałe i zmienne pole magnetyczne oraz ultradźwięki. Przeprowadzone badania dotyczące potencjału aplikacyjnego wytworzonych ekstraktów algowych i biosyntezy z nich nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi poprzedzone były charakterystyką fizykochemiczną tych produktów. Dodatkowo w pracy została zaproponowana technologia zagospodarowania biomasy odpadowej, powstającej w procesie ekstrakcji związków aktywnych z makroalg. W opisanych badaniach wykorzystano podstawowe narzędzia inżynierii chemicznej takie jak: przygotowanie surowca do badań, w celu otrzymania homogenicznej próbki – rozdrabnianie, mielenie, przesiewanie; ekstrakcja oraz biosorpcja. Praca ma charakter interdyscyplinarny – obejmuje trzy dyscypliny: inżynierię chemiczną, inżynierię mechaniczną oraz rolnictwo i ogrodnictwo.

Doświadczenia prowadzone były na roślinach z rodziny kapustowatych (rzodkiew zwyczajna, marchew zwyczajna oraz gorczyca biała) oraz bobowatych (soja warzywna, łubin wąskolistny). W ramach przeprowadzonych badań dobrano odpowiednie parametry przedsiewnej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi dla danej rośliny. Analizowano takie parametry jak: czas stymulacji (dla wszystkich czynników), indukcja magnetyczna (dla stałego i zmiennego pola magnetycznego) oraz częstotliwość (tylko dla zmiennego pola magnetycznego). Wybrano także najlepsze stężenia stosowanych ekstraktów algowych oraz roztworów nanocząstek tlenków metali i najkorzystniejszą metodę aplikacji (donasienną, doglebową lub dolistną) dla danej rośliny pod kątem wybranych parametrów biometrycznych. Badania na roślinach prowadzone było od testów kiełkowania (testy szalkowe, testy TP (*top paper*), testy PP (*pleated paper*), testy BP (*between paper*) i testy w zestawach Phytotoxkit) po testy doniczkowe. W przypadku najbardziej obiecujących badań, dotyczących wpływu stałego pola magnetycznego i ekstraktu z *C. glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej

przeprowadzono także 2-letnie testy polowe. Badania na roślinach prowadzono we współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu oraz Instytutem Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie. Realizowane w ramach niniejszej pracy doktorskiej badania były częścią projektów OPUS pt. „Przyjazne dla środowiska technologie zagospodarowania biomasy wodorostów morskich na produkty użyteczne dla zrównoważonego rolnictwa oraz biosorbenty stosowane do usuwania jonów metali ciężkich ze środowiska” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki oraz NAWA-Canaletto pt. „Waloryzacja biomasy odpadowej makroalg na bioprodukty przydatne dla zrównoważonego rolnictwa i środowiska” finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej, których kierownikiem jest dr hab. inż. Izabela Michalak, prof. uczelni.

Przeprowadzone badania wykazały pozytywny wpływ stałego i zmiennego pola magnetycznego oraz ultradźwięków na wybrane parametry kiełkowania i wzrostu roślin.

Pole magnetyczne, zarówno stałe jak i zmienne, umożliwia przerwanie spoczynku nasion, zwiększa stężenie przeciwutleniaczy, zmniejsza stres oksydacyjny u roślin i moduluje szlaki sygnałowe wapnia oraz prolin i poliamin, przez co obniża wskaźnik chorób roślin [15]. Z kolei ultradźwięki umożliwiają zwiększenie wchłaniania wody przez nasiona [22], [38], również te które były w stanie spoczynku [39]. Ultradźwięki mogą również wpłynąć na strukturę ścian komórkowych i sprzyjać uwalnianiu z nich enzymów, co poprawia metabolizm nasion oraz zwiększa zawartość substancji bioaktywnych i aktywność przeciwutleniającą w nasionach [39]. Dodatkowo ultradźwięki wykazują właściwości przeciwgrzybicze, co potwierdza zarówno analiza literaturowa [42], [43], jak i wyniki przedstawione w Rozdziale 5.4.10. Jedną z najważniejszych zalet czynników fizycznych jako metod stymulacji nasion jest fakt, iż nie stanowią one zagrożenia dla środowiska, pomimo iż zwiększają efektywność procesów fizjologicznych roślin [18]. Spośród wszystkich badanych czynników fizycznych, najbardziej obiecujące wyniki (pozytywny wpływ na znaczną ilość parametrów biometrycznych roślin) uzyskano dla stałego pola magnetycznego stosowanego do przedświecnej stymulacji rzodkwi zwyczajnej.

Badania opisane w niniejszej pracy doktorskiej wykazały także pozytywny wpływ ekstraktów z sześciu badanych makroalg należących do trzech gromad (zielenic *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp., bruntanic *Sargassum* sp. i *Fucus vesiculosus* oraz krasnorostów *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata*) na kiełkowanie nasion i wzrost wybranych roślin. Pozytywne działanie ekstraktu na długość korzenia i części nadziemnej rośliny może wynikać z obecności związków aktywnych, takich jak fitohormony i polifenole

(Tabela 24) oraz ich aktywności przeciwutleniającej (Tabela 25) [92], [430]. Mocny system korzeniowy jest bardzo istotny, ponieważ może zwiększyć wchłanianie wody i składników odżywczych przez korzenie roślin z gleby [92]. Poprawę biosyntezy chlorofilu przez ekstrakty algowe można przypisać wysokiej zawartości fitohormonów, takich jak cytokiny [92], a także wysokiemu stężeniu azotu i magnezu (składników strukturalnych chlorofilu) w tych ekstraktach [430]. Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy wskazują, iż największy wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost roślin z rodziny kapustowatych miały ekstrakty z *C. glomerata* i *P. palmata* (Rozdziały 5.4.3, 5.4.6 i 5.4.9). W przypadku roślin z rodziny bobowatych nie jest możliwe wskazanie najlepszego ekstraktu, gdyż wyniki różniły się w zależności od badanej odmiany rośliny oraz analizowanych parametrów wzrostu roślin (Rozdział 5.4.1).

Nanocząstki tlenków metali wykorzystano w niniejszej pracy nie tylko do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin, ale także do ochrony nasion przed rozwojem grzybów znajdujących się na ich powierzchni. Pozytywny wpływ nanocząstek na rośliny wynika głównie z ich niewielkiego rozmiaru, dzięki któremu są w stanie wnikać do nasion. Dzięki temu, nawet małe dawki nanocząstek mogą wpływać pozytywnie na kiełkowanie nasion i wzrost roślin [342], [343]. Są one także w stanie m.in. zwiększyć absorpcję wody przez nasiona [359], a także odgrywają ważną rolę w produkcji wielu hormonów roślinnych – zwłaszcza auksyn, które są odpowiedzialne za wzrost roślin i plon [162]. Działanie przeciwwgrzybiczne nanocząstek tlenku cynku potwierdzają zarówno badania literaturowe [345], [346], jak i wyniki badań własnych przedstawionych w Rozdziale 5.4.10.

Badania opisane w Rozdziałach 5.4.6, 5.4.7, 5.4.8 i 5.4.9 wykazały pozytywny wpływ jednoczesnej stymulacji nasion czynnikiem fizycznym oraz ekstraktem algowym na kiełkowanie nasion oraz wybrane parametry wzrostu roślin. Wyniki badań wskazują na pozytywny wpływ stymulacji obydwoma czynnikami nie tylko w porównaniu do grupy kontrolnej, ale także w porównaniu do zastosowania tych czynników pojedynczo. Najbardziej obiecujące wyniki uzyskano w przypadku jednoczesnego zastosowania stałego pola magnetycznego i ekstraktu z *C. glomerata* (Rozdziały 5.4.6 i 5.4.7). Z kolei jednoczesna aplikacja ultradźwięków i 20% ekstraktu z *P. palmata* pozwoliła na uzyskanie zbliżonych wyników dla kiełkowania nasion i parametrów wzrostu rzodkwi zwyczajnej, co przy zastosowaniu samego ekstraktu algowego o stężeniu 60%. Oznacza to, że połączenie tych dwóch metod stymulacji może umożliwić zmniejszenie zużycia ekstraktu stosowanego jako biostymulator wzrostu roślin aż 3-krotnie. **Wyniki badań opisanych w Rozdziale 5.4.10**

wykazały pozytywny wpływ jednoczesnej przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej ultradźwiękami i roztworem nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* na zmniejszenie ilości grzybów znajdujących się na powierzchni nasion.

Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane w niniejszej rozprawie doktorskiej można stwierdzić, iż cel pracy został zrealizowany, a postawione hipotezy badawcze zostały zweryfikowane:

1. Zaproponowane technologie waloryzacji biomasy odpadowej makroalg umożliwią wytworzenie skutecznych preparatów dla rolnictwa stymulujących kiełkowanie nasion i wzrost roślin.

Ekstrakty algowe wytworzone metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami (Rozdział 4.4.) oraz biosyntezyzowane z nich nanocząstki tlenku cynku i tlenku miedzi (Rozdział 4.5.) zostały scharakteryzowane pod kątem fizykochemicznym (Rozdziały 5.2 i 5.3) i wykorzystane do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Skuteczność tych preparatów do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin potwierdzają wyniki badań przedstawione w Rozdziale 5.4.

2. Produkty na bazie makroalg (np. ekstrakty algowe, nanocząstki metali/ tlenków metali) oraz czynniki fizyczne (np. pole magnetyczne, ultradźwięki) wpływają pozytywnie na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.

Wyniki przedstawione w Rozdziałach 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3, 5.4.6, 5.4.7, 5.4.8 i 5.4.9 dowodzą pozytywnego wpływu ekstraktów algowych wytworzonych na drodze ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami (z sześciu badanych makroalg – zielenic *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp., bruntanic *Sargassum* sp. i *Fucus vesiculosus* oraz krasnorostów *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata*) na kiełkowanie nasion oraz wzrost roślin z rodziny kapustowatych i bobowatych. Z kolei w badaniach opisanych w Rozdziałach 5.4.3, 5.4.4. i 5.4.5. udowodniono pozytywny wpływ nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata*, *Enteromorpha* sp. i *F. vesiculosus* oraz nanocząstek tlenku miedzi biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z *C. glomerata* i *Enteromorpha* sp. na kiełkowanie nasion i wybrane parametry wzrostu roślin z rodziny kapustowatych. Natomiast pozytywnego wpływu czynników fizycznych na kiełkowanie nasion i wzrost roślin (przy zastosowaniu odpowiednio dobranych dla tych czynników parametrów, np. czasu stymulacji) dowodzą badania opisane w Rozdziałach 5.4.6, 5.4.7, 5.4.8 i 5.4.9.

3. Jednoczesna stymulacja nasion czynnikami fizycznymi oraz produktami na bazie makroalg pozwoli osiągnąć lepsze efekty dla parametrów takich jak: procent kiełkowania nasion, masa części nadziemnej, długość części nadziemnej, długość korzenia, zawartość chlorofilu w liścieniach lub liściach.

Badania opisane w Rozdziale 5.4.6 wykazały pozytywny wpływ jednoczesnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *C. glomerata* na wybrane parametry (procent kiełkowania nasion, długość korzenia, długość części nadziemnej (w tym długość hipokotylu i długość epikotyłu), masa części nadziemnej, zawartość chlorofilu w liścieniach) w porównaniu do grupy kontrolnej oraz grup stymulowanych każdym z tych czynników osobno. W przypadku jednoczesnej stymulacji nasion soi warzywnej tymi samymi czynnikami (stałym polem magnetycznym i ekstraktem z *C. glomerata*), opisanej w Rozdziale 5.4.7, wykazano jej pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i długość części nadziemnej (w tym długość hipokotyłu) w porównaniu do grupy kontrolnej oraz grup stymulowanych każdym z tych czynników osobno. Z kolei jednoczesna stymulacja nasion marchwi zwyczajnej zmiennym polem magnetycznym i ekstraktem z *Sargassum* sp. (Rozdział 5.4.8) pozwoliła na zwiększenie takich parametrów jak: długość części nadziemnej (w tym długość epikotyłu) i masa części nadziemnej w porównaniu do grup stymulowanych każdym z tych czynników osobno oraz do grupy kontrolnej. Stymulacja nasion rzodkwi zwyczajnej jednocześnie ultradźwiękami i ekstraktem z *P. palmata* (Rozdział 5.4.9) wpłynęła pozytywnie na procent kiełkowania, długość korzenia i zawartość chlorofilu w liścieniach siewek w porównaniu do zastosowania każdego z tych czynników osobno oraz do grupy kontrolnej.

4. Makroalgi oraz pozostałość poekstrakcyjna stanowią skuteczne biosorbenty do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych (np. ze ścieków).

Skuteczność makroalg oraz pozostałości poekstrakcyjnych jako biosorbentów do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych wykazano na przykładzie jonów Cr(III). Wyniki tych badań przedstawiono w Rozdziale 5.5. Najskuteczniejszymi biosorbentami jonów Cr(III) były makroalga *C. glomerata* oraz pozostałość poekstrakcyjna z tej makroalgi (równowagowa pojemność biosorpcyjna dla tych biosorbentów wynosiła 345 mg/g dla pH 5, $C_0=200$ mg/L i $C_s=1$ g/L).

Spis tabel

Tabela 1. Zestawienie różnych metod biologicznych wykorzystywanych do wytworzenia nanocząstek tlenku cynku.....	20
Tabela 2. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.....	35
Tabela 3. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion zmiennym polem magnetycznym na kiełkowanie nasion i wzrost roślin	40
Tabela 4. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion ultradźwiękami na kiełkowanie nasion i wzrost roślin	43
Tabela 5. Zastosowanie makroalgi <i>Cladophora glomerata</i> do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin	45
Tabela 6. Zastosowanie makroalgi <i>Enteromorpha</i> sp. (<i>Ulva</i> sp.) do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin.....	47
Tabela 7. Zastosowanie makroalgi <i>Sargassum</i> sp. do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin	50
Tabela 8. Zastosowanie makroalgi <i>Fucus vesiculosus</i> do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin	52
Tabela 9. Wpływ nanocząstek (a) cynku i (b) miedzi na rośliny	54
Tabela 10. Zestawienie czynników fizycznych wykorzystywanych do przedsiewnej stymulacji nasion w połączeniu ze stymulacją ekstraktem algowym z <i>Cladophora glomerata</i>	59
Tabela 11. Zestawienie odczynników chemicznych użytych do badań	64
Tabela 12. Zestawienie sprzętu wykorzystanego do badań.....	66
Tabela 13. Zestawienie makroalg wykorzystanych do badań	67
Tabela 14. Zestawienie nasion wykorzystanych w badaniach	67
Tabela 15. Modyfikacje stosowane przy wytwarzaniu ekstraktów algowych	70
Tabela 16. Zestawienie przeprowadzonych biosyntez nanocząstek ZnO i CuO.....	71
Tabela 17. Zestawienie wykonanych kinetyk procesu biosorpcji dla makroalg i pozostałości poekstrakcyjnych	73
Tabela 18. Zestawienie wykonanych testów szalkowych/ <i>top paper</i>	88
Tabela 19. Zawartość popiołu w poszczególnych makroalgach	109
Tabela 20. Zawartość cukrów, tłuszczów i białka w poszczególnych makroalgach.....	110
Tabela 21. Zawartość aminokwasów w poszczególnych makroalgach	111
Tabela 22. pH oraz przewodność elektryczna ekstraktów z poszczególnych makroalg	115

Tabela 23. Wyniki analizy wielopierwiastkowej – zawartość pierwiastków w makroaldze [mg/kg s.m.], stężenie pierwiastków w ekstrakcie algowym [mg/L] i zawartość pierwiastków w pozostałości poekstrakcyjnej [mg/kg s.m.] dla poszczególnych makroalg: (a) <i>Cladophora glomerata</i> ; (b) <i>Enteromorpha</i> sp.; (c) <i>Sargassum</i> sp.; (d) <i>Fucus vesiculosus</i> ; (e) <i>Porphyra</i> sp.; (f) <i>Palmaria palmata</i>	117
Tabela 24. Całkowita zawartość polifenoli w ekstraktach algowych otrzymanych z poszczególnych makroalg.....	125
Tabela 25. Aktywność przeciwutleniająca oraz procent inhibicji dla ekstraktów algowych z poszczególnych makroalg.....	127
Tabela 26. Masa nanocząstek tlenku cynku otrzymana w procesie biosyntezy z użyciem ekstraktów algowych	131
Tabela 27. Masa nanocząstek tlenku miedzi otrzymana w procesie biosyntezy z użyciem ekstraktów algowych	136
Tabela 28. Długości fali, dla której otrzymano pik świadczący o powstaniu nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi w badanych próbkach	138
Tabela 29. Analiza wielopierwiastkowa wybranych nanocząstek tlenku cynku – zawartość pierwiastków w nanocząstkach [mg/kg s.m.]	140
Tabela 30. Analiza wielopierwiastkowa wybranych nanocząstek tlenku miedzi – zawartość pierwiastków w nanocząstkach [mg/kg s.m.]	141
Rysunek 37. Dyfraktogramy (a) nanocząstek tlenku cynku nr 3; (b) nanocząstek tlenku miedzi nr 33	147
Tabela 31. Wyniki wstępnych badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi	149
Tabela 32. Wyniki badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku (minimalne stężenie danych nanocząstek [mg/mL] zdolne do całkowitego zahamowania wzrostu danych bakterii/grzybów)	152
Tabela 33. Wyniki badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku miedzi (minimalne stężenie danych nanocząstek [mg/mL] zdolne do całkowitego zahamowania wzrostu danych bakterii/grzybów)	153
Tabela 34. Wpływ 20% ekstraktów algowych z zielenic <i>Cladophora glomerata</i> i <i>Enteromorpha</i> sp. oraz brunatnicy <i>Fucus vesiculosus</i> na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej	156
Tabela 35. Wpływ 10 i 20% ekstraktów algowych z zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost łubinu wąskolistnego dla nasion z lat: (a) 2015; (b) 2016; (c) 2017; (d) 2018; (e) 2019.	160

Tabela 36. Wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkiewki: (a) ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> ; (b) nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> ; (c) nanocząstek tlenku miedzi biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i>	166
Tabela 37. Wpływ nanocząstek tlenku cynku biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z <i>Fucus vesiculosus</i> na kiełkowanie nasion i wzrost siewek gorczycy białej: (a) testy kiełkowania; (b) testy doniczkowe.	174
Tabela 38. Wpływ nanocząstek biosyntezyzowanych z użyciem ekstraktu z <i>Enteromorpha</i> sp. na kiełkowanie nasion i wzrost siewek gorczycy białej: (a) nanocząstki tlenku cynku; (b) nanocząstki tlenku miedzi.	179
Tabela 39. Wyniki analizy wielopierwiastkowej dotyczącej zawartości cynku oraz miedzi w części nadziemnej gorczycy białej oraz w glebie przed i po testach doniczkowych.....	182
Tabela 40. Wpływ ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej: (a) aplikacja do podłoża; (b) aplikacja donasienna; (c) aplikacja dolistna.....	184
Tabela 41. Wpływ jednoczesnej stymulacji stałym polem magnetycznym i ekstraktem z <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost roślin rzodkwi zwyczajnej: (a) testy kiełkowania; (b) testy doniczkowe	188
Tabela 42. Wpływ ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany <i>Abelina</i>	195
Tabela 43. Wpływ przedsiewnej stymulacji stałym polem magnetycznym na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany <i>Abelina</i>	195
Tabela 44. Wpływ przedsiewnej stymulacji stałym polem magnetycznym i ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost soi warzywnej odmiany <i>Abelina</i> : (a) testy kiełkowania; (b) testy polowe – 2021; (c) testy polowe – 2022	201
Tabela 45. Wpływ ekstraktu z <i>Sargassum</i> sp. na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi zwyczajnej odmiany <i>Amsterdam 3</i>	208
Tabela 46. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion marchwi zwyczajnej odmiany <i>Amsterdam 3</i> zmiennym polem magnetycznym o różnych częstotliwościach (16, 50 i 100 Hz), indukcji magnetycznej (10, 17 i 21 mT) i czasie stymulacji na kiełkowanie nasion i wzrost roślin: (a) czas stymulacji – 1 min; (b) czas stymulacji – 10 min; (c) czas stymulacji – 30 min.....	208
Tabela 47. Wpływ przedsiewnej stymulacji zmiennym polem magnetycznym i ekstraktu z <i>Sargassum</i> sp. na kiełkowanie nasion i wzrost marchwi zwyczajnej odmiany <i>Amsterdam 3</i> w testach doniczkowych.....	214

Tabela 48. Wpływ ekstraktów z krasnorostów na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej odmiany <i>Faraon</i> : (a) ekstrakt z <i>Porphyra</i> sp.; (b) ekstrakt z <i>Palmaria palmata</i> ..	217
Tabela 49. Wpływ przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej odmiany <i>Faraon</i> ultradźwiękami na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.....	218
Tabela 50. Wpływ jednoczesnej stymulacji ultradźwiękami i ekstraktem z <i>Palmaria palmata</i> na kiełkowanie nasion i wzrost siewek rzodkwi zwyczajnej odmiany <i>Faraon</i>	222
Tabela 51. Wpływ jednoczesnej stymulacji ultradźwiękami i nanocząstkami tlenku cynku biosyntezowanymi z użyciem ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej odmiany <i>Saxa 2</i>	226
Tabela 52. Procent nasion zainfekowanych poszczególnymi gatunkami grzybów po poddaniu przedsiewnej stymulacji ultradźwiękami i roztworami nanocząstek nr 12, 14 i 23 według Tabeli 16	228
Tabela 53. Pojemność biosorpcyjna makroalg oraz pozostałości po ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami związków biologicznie aktywnych z makroalg w stosunku do jonów Cr(III).....	232
Tabela 54. Maksymalna pojemność biosorpcyjna makroalg oraz pozostałości po ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami związków biologicznie aktywnych z makroalg w stosunku do jonów Cr(III).....	233

Spis rysunków

Rysunek 1. Liczba opublikowanych artykułów dotyczących stymulacji nasion poszczególnymi czynnikami fizycznymi. Dane zebrano za pomocą bazy Web of Science (18.03.2023).....	7
Rysunek 2. Liczba opublikowanych artykułów dotyczących poszczególnych alg. Dane zebrano za pomocą bazy Web of Science (18.03.2023)	10
Rysunek 3. Przykładowe zdjęcie zielenicy <i>Cladophora glomerata</i> [50]	11
Rysunek 4. Przykładowe zdjęcia zielenic z rodzaju <i>Enteromorpha</i> sp.: a) <i>E. compressa</i> [80]; b,c) <i>E. linza</i> [81]; d) <i>E. flexuosa</i> [82]	12
Rysunek 5. Przykładowe zdjęcia brunatnic z rodzaju <i>Sargassum</i> sp.: a) <i>S. muticum</i> [107]; b) <i>S. trichocarpum</i> [108]; c) <i>S. vulgare</i> [109]; d) <i>S. polyceratium</i> [110]	13
Rysunek 6. Przykładowe zdjęcie brunatnicy <i>Fucus vesiculosus</i> [118]	14
Rysunek 7. Przykładowe zdjęcia krasnorostów z rodzaju <i>Porphyra</i> sp.: a) <i>P. laciniata</i> [123]; b) <i>P. lucasii</i> [124]; c) <i>P. saldanhae</i> [125]; d) <i>P. leucosticta</i> [126]	15
Rysunek 8. Przykładowe zdjęcie krasnorostu <i>Palmaria palmata</i> [129]	15
Rysunek 9. Ogólny schemat badań przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej (źródło: K. Dziergowska).....	62
Rysunek 10. Schemat przeprowadzonych badań (źródło: K. Dziergowska)	63
Rysunek 11. Schemat przygotowywania ekstraktu algowego (źródło: K. Dziergowska).....	70
Rysunek 12. Metody stymulacji zastosowane dla poszczególnych nasion (źródło: K. Dziergowska).....	83
Rysunek 13. Przedsiewna stymulacja nasion soi warzywnej stałym polem magnetycznym o indukcji: a) 500 mT; b) 250 mT (źródło: K. Dziergowska)	84
Rysunek 14. Przedsiewna stymulacja nasion marchewki zmiennym polem magnetycznym: a) generator pola magnetycznego; b) wzmacniacz mocy; c) cewki indukcyjne (z próbkami typu Eppendorf wypełnionymi nasionami); d) czujnik pola magnetycznego (źródło: K. Dziergowska).....	85
Rysunek 15. Przebieg testów szalkowych z wykorzystaniem przedsiewnej stymulacji nasion marchwi zwyczajnej zmiennym polem magnetycznym (źródło: K. Dziergowska).....	90
Rysunek 16. Przebieg testów szalkowych z wykorzystaniem aplikacji do podłoża ekstraktu z <i>Sargassum</i> sp. otrzymanego w wyniku ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami i komercyjnie dostępnego ekstraktu z <i>Ascophyllum nodosum</i> (źródło: K. Dziergowska)	90

Rysunek 17. Przebieg testów szalkowych z wykorzystaniem przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej ekstraktem z <i>Palmaria palmata</i> i ultradźwiękami (źródło: K. Dziergowska).....	91
Rysunek 18. Przebieg testów <i>top paper</i> przeprowadzonych w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie dla jednoczesnej przedsiewnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej nanocząstkami ZnO biosyntezywanymi z ekstraktu z makroalgi <i>Cladophora glomerata</i> i ultradźwiękami (źródło: K. Dziergowska).....	91
Rysunek 19. Etapy pomiarów procentu kiełkowania nasion rzodkwi zwyczajnej poddanych przedsiewnej stymulacji nanocząstkami ZnO biosyntezywanymi z ekstraktu z makroalgi <i>Cladophora glomerata</i> i ultradźwiękami (po 3 i 7 dniach) (źródło: K. Dziergowska)	92
Rysunek 20. Testy na bibule pofałdowanej (harmonijki) dla stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu łubinu wąskolistnego ekstraktem z <i>Cladophora glomerata</i> (źródło: S. Lewandowska)	93
Rysunek 21. Schemat badań dotyczących przedsiewnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu siewek soi stałym polem magnetycznym i ekstraktem z <i>Cladophora glomerata</i> (źródło: K. Dziergowska)	94
Rysunek 22. Schemat badań w zestawach Phytotoxkit na przykładzie nanocząstek ZnO syntezowanych z ekstraktu z <i>F. vesiculosus</i> i nasion gorczycy białej (źródło: K. Dziergowska)	95
Rysunek 23. Testy doniczkowe wykonane dla poszczególnych nasion (źródło: K. Dziergowska)	96
Rysunek 24. Schemat badań dotyczących wpływu jednoczesnej stymulacji nasion rzodkiewki ekstraktem algowym z <i>Cladophora glomerata</i> (do podłoża/ doglebowo) i stałym polem magnetycznym (przedsiewnie) (źródło: K. Dziergowska)	97
Rysunek 25. Schemat badań dotyczących wpływu jednoczesnej stymulacji nasion rzodkwi zwyczajnej ekstraktem algowym z <i>Porphyra</i> sp. i <i>P. palmata</i> i przedsiewnej stymulacji ultradźwiękami (źródło: K. Dziergowska)	98
Rysunek 26. Schemat badań dotyczących wpływu jednoczesnej stymulacji nasion marchwi zwyczajnej ekstraktem algowym z <i>Sargassum</i> sp. i komercyjnie dostępnym ekstraktem z <i>A. nodosum</i> (aplikacja do podłoża/ doglebowa) oraz przedsiewnej stymulacji zmiennym polem magnetycznym.....	99
Rysunek 27. Schemat badań doniczkowych z wykorzystaniem jednoczesnej stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu marchwi zwyczajnej ekstraktem z <i>Sargassum</i> sp., komercyjnie	

dostępnym ekstraktem z <i>A. nodosum</i> i zmiennym polem magnetycznym (źródło: K. Dziergowska).....	100
Rysunek 28. Schemat badań dotyczących wpływu stymulacji nasion gorczycy białej nanocząstkami tlenku cynku biosyntezywanymi z użyciem ekstraktu z <i>Fucus vesiculosus</i> (źródło: K. Dziergowska)	101
Rysunek 29. Schemat badań doniczkowych dotyczących wpływu nanocząstek ZnO i CuO biosyntezywanych z <i>Enteromorpha</i> sp. na kiełkowanie i wzrost siewek gorczycy (źródło: K. Dziergowska).....	102
Rysunek 30. Schemat badań polowych dotyczących wpływu przedsiewnej stymulacji nasion stałym polem magnetycznym i ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i> aplikowanego dolistnie i na wzrost soi warzywnej (źródło: S. Lewandowska, K. Dziergowska)	104
Rysunek 31. Schemat badań analizy właściwości przeciwwgrzybiczych nanocząstek ZnO użytych do stymulacji przedsiewnej nasion rzodkwi zwyczajnej (źródło: K. Dziergowska) ..	106
Rysunek 32. Ekstrakty syntezowane metodą ekstrakcji rozpuszczalnikowej wspomaganej ultradźwiękami z makroalg: a) <i>C. glomerata</i> (2016); b) <i>C. glomerata</i> (2021); c) <i>Enteromorpha</i> sp.; d) <i>Sargassum</i> sp.; e) <i>F. vesiculosus</i> ; f) <i>Porphyra</i> sp.; g) <i>P. palmata</i>	113
Rysunek 33. Badania jakościowe na obecność związków biologicznie aktywnych w ekstrakcie z <i>C. glomerata</i> : a) olei i tłuszczów; b) aminokwasów; c) steroidów; d) kwasów karboksylowych; e) białka; f) alkaloidów	114
Rysunek 34. Przykładowe widmo UV-Vis dla nanocząstek tlenku cynku biosyntezywanych z użyciem ekstraktu z <i>Cladophora glomerata</i>	139
Rysunek 35. Widma FTIR nanocząstek tlenku cynku: (a) nr 3; (b) nr 4; (c) nr 5; (d) nr 25; (e) nr 12; (f) nr 14; (g) nr 23	144
Rysunek 36. Zdjęcia SEM nanocząstek tlenku cynku: (a) nr 12; (b) nr 14; (c) nr 23; (d) nr 25 i nanocząstek tlenku miedzi: (e) nr 33	146
Rysunek 38. Zdjęcia z badań przeciwbakteryjnych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi na przykładzie bakterii <i>Streptococcus pyogenes</i> dla gęstości optycznej hodowli mikroorganizmów 0,1	150
Rysunek 39. Zdjęcia z badań przeciwbakteryjnych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi na przykładzie bakterii <i>Streptococcus pyogenes</i> dla gęstości optycznej hodowli mikroorganizmów 0,5	151
Rysunek 40. Zdjęcie z systemu do analizy powierzchni liści WinFOLIA wykonane podczas analizy wyników testów doniczkowych wpływu ekstraktu z <i>C. glomerata</i> i stałego pola magnetycznego na kiełkowanie i wzrost rzodkwi zwyczajnej (źródło: K. Dziergowska)	193

Rysunek 41. Wykres zależności pojemności biosorpcyjnej od czasu na przykładzie makroalgi <i>Cladophora glomerata</i> ($C_0=300$ mg/L, $C_s=1$ g/L).....	233
Rysunek 42. Izotermy Langmuira dla makroalgi <i>Cladophora glomerata</i> i pozostałości poekstrakcyjnej z <i>Cladophora glomerata</i>	234

Bibliografia

- [1] K. Pawlak and M. Kołodziejczak, “The role of agriculture in ensuring food security in developing countries: Considerations in the context of the problem of sustainable food production,” *Sustainability*, vol. 12, no. 13, p. 5488, 2020, doi: 10.3390/su12135488.
- [2] K. Godlewska, “Wpływ ekstraktów z roślin wyższych na wzrost, plonowanie i skład chemiczny wybranych gatunków warzyw,” Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 2021.
- [3] D. A. John and G. R. Babu, “Lessons from the aftermaths of Green Revolution on food system and health,” *Front. Sustain. Food Syst.*, vol. 5, p. 644559, 2021, doi: 10.3389/fsufs.2021.644559.
- [4] R. E. Evenson and D. Gollin, “Assessing the impact of the green revolution, 1960 to 2000,” *Science* (80-.), vol. 300, no. 5620, pp. 758–762, 2003, doi: 10.1126/science.1078710.
- [5] E. V. Ramos Campos, P. L. de Freitas Proença, J. Oliveira, M. Bakshi, P. C. Abhilash, and L. Fraceto, “Use of botanical insecticides for sustainable agriculture,” *Ecol. Indic.*, vol. 105, 2018, doi: 10.1016/j.ecolind.2018.04.038.
- [6] I. Michalak, Ł. Tuhy, and K. Chojnacka, “Seaweed extract by microwave assisted extraction as plant growth biostimulant,” *Open Chem.*, vol. 13, no. 1, pp. 1183–1195, 2015, doi: 10.1515/chem-2015-0132.
- [7] K. Godlewska, I. Michalak, Ł. Tuhy, and K. Chojnacka, “Plant growth biostimulants based on different methods of seaweed extraction with water,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/5973760.
- [8] P. Calvo, L. Nelson, and J. W. Kloepper, “Agricultural uses of plant biostimulants,” *Plant Soil*, vol. 383, pp. 3–41, 2014, doi: 10.1007/s11104-014-2131-8.
- [9] K. Kornarzyński, A. Dziwulska-Hunek, A. Kornarzyńska-Gregorowicz, and A. Sujak, “Effect of electromagnetic stimulation of amaranth seeds of different initial moisture on the germination parameters and photosynthetic pigments content,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 14023, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-32305-5.
- [10] L. Baghel, S. Kataria, and K. N. Guruprasad, “Effect of static magnetic field pretreatment on growth, photosynthetic performance and yield of soybean under water stress,” *Photosynthetica*, vol. 56, no. 2, pp. 718–730, Jun. 2018, doi: 10.1007/s11099-017-0722-3.
- [11] V. O. Abramov, A. V. Abramova, V. M. Bayazitov, R. V. Nikonov, and A. S.

- Sidorenko, "Presowing treatment of seeds using ultrasound: development of technology and industrial equipment," *J. Environ. Prot. Ecol.*, vol. 20, pp. 414–423, 2019.
- [12] I. Michalak, S. Lewandowska, J. Detyna, S. Olsztyńska-Janus, H. Bujak, and P. Pacholska, "The effect of macroalgal extracts and near infrared radiation on germination of soybean seedlings: preliminary research results," *Open Chem.*, vol. 16, no. 1, pp. 1066–1076, 2018, doi: 10.1515/chem-2018-0115.
- [13] I. Michalak *et al.*, "Germination of soybean seeds exposed to the static/alternating magnetic field and algal extract," *Eng. Life Sci.*, vol. 19, no. 12, pp. 986–999, 2019, doi: 10.1002/elsc.201900039.
- [14] S. Pietruszewski and E. Martínez, "Magnetic field as a method of improving the quality of sowing material: A review," *Int. Agrophysics*, vol. 29, no. 3, pp. 377–389, 2015, doi: 10.1515/intag-2015-0044.
- [15] M. Sarraf *et al.*, "Magnetic field (MF) applications in plants: An overview," *Plants*, vol. 9, no. 9, pp. 1–17, 2020, doi: 10.3390/plants9091139.
- [16] I. Michalak *et al.*, "Cladophora glomerata extract and static magnetic field influences the germination of seeds and multielemental composition of carrot," *Ecol. Chem. Eng. S*, vol. 27, no. 4, 2020, doi: 10.2478/eces-2020-0040.
- [17] S. Lewandowska, I. Michalak, K. Niemczyk, J. Detyna, H. Bujak, and P. Arik, "Influence of the static magnetic field and algal extract on the germination of soybean seeds," *Open Chem.*, vol. 17, no. 1, pp. 516–525, Jul. 2019, doi: 10.1515/chem-2019-0039.
- [18] S. Kataria, L. Baghel, M. Jain, and K. N. Guruprasad, "Magnetopriming regulates antioxidant defense system in soybean against salt stress," *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 18, p. 101090, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.bcab.2019.101090.
- [19] S. Kataria, L. Baghel, and K. N. Guruprasad, "Pre-treatment of seeds with static magnetic field improves germination and early growth characteristics under salt stress in maize and soybean," *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 10, no. November, pp. 83–90, 2017, doi: 10.1016/j.bcab.2017.02.010.
- [20] Q. Xia *et al.*, "Characterizing physicochemical, nutritional and quality attributes of wholegrain *Oryza sativa* L. subjected to high intensity ultrasound-stimulated pre-germination," *Food Control*, vol. 108, p. 106827, 2020, doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106827.
- [21] A. Babaei-Ghaghelestany, M. T. Alebrahim, D. R. MacGregor, S. A. Khatami, and R. H. N. Farzaneh, "Evaluation of ultrasound technology to break seed dormancy of common

- lambsquarters (*Chenopodium album*),” *Food Sci. Nutr.*, vol. 8, pp. 2662–2669, 2020, doi: 10.1002/fsn3.1547.
- [22] M. Yaldagard, S. A. Mortazavi, and F. Tabatabaie, “Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barley seed: optimization of method by the taguchi approach,” *J. Inst. Brew.*, vol. 114, pp. 14–21, 2008, doi: 10.1002/j.2050-0416.2008.tb00300.x.
- [23] S. J. Goussous, N. H. Samarah, A. M. Alqudah, and M. O. Othman, “Enhancing seed germination of four crop species using an ultrasonic technique,” *Exp. Agric.*, vol. 46, pp. 231–242, 2010, doi: 10.1017/S0014479709991062.
- [24] L. Ragha, S. Mishra, V. Ramachandran, and M. S. Bhatia, “Effects of low-power microwave fields on seed germination and growth rate,” *J. Electromagn. Anal. Appl.*, vol. 3, no. 5, pp. 165–171, 2011, doi: 10.4236/jemaa.2011.35027.
- [25] T. Jakubowski, “Evaluation of the impact of pre-sowing microwave stimulation of bean seeds on the germination process,” *Agric. Eng.*, vol. 2, no. 154, pp. 45–56, 2015, doi: 10.14654/ir.2015.154.120.
- [26] K. M. Deamici *et al.*, “Microalgae cultivated under magnetic field action: insights of an environmentally sustainable approach,” *Sustainability*, vol. 14, no. 20, p. 13291, 2022, doi: 10.3390/su142013291.
- [27] J. Reinke, “Untersuchungen der Wachsthum,” *Botan.Ztg.*, vol. 34, no. 129, 1876.
- [28] G. Tolomei, “Anzione del magnetismo sullagerminazione,” *Malpighia*, vol. 7, no. 470, 1893.
- [29] A. Sujak, A. Dziwulska-Hunek, and K. Kornarzyński, “Compositional and nutritional values of amaranth seeds after pre-sowing He-Ne laser light and alternating magnetic field treatment,” *Int. Agrophysics*, vol. 23, no. 1, pp. 81–86, 2009.
- [30] A. Dziwulska-Hunek, K. Konarzyński, A. Matwijczuk, S. Pietruszewski, and B. Szot, “Effect of laser and variable magnetic field stimulation on amaranth seeds germination,” *Int. Agrophysics*, vol. 23, pp. 215–227, 2009.
- [31] A. Sujak and A. Dziwulska-Hunek, “Minerals and fatty acids of amaranth seeds subjected to pre-sowing electromagnetic stimulation,” *Int. Agrophysics*, vol. 24, pp. 375–379, 2010.
- [32] M. S. Davis, “Effect of 60 Hz electromagnetic field on early growth in three plant species and a replication of previous results,” *Bioelectromagnetics*, vol. 17, pp. 154–161, 1996.
- [33] E. I. Alemán, R. O. Moreira, A. A. Lima, S. C. Silva, J. L. González-Olmedo, and A.

- Chalfun-Junior, “Effect of 60 Hz sinusoidal magnetic field on in vitro establishment multiplication and acclimatization phases of coffee Arabica seedling,” *Bioelectromagnetics*, vol. 35, pp. 414–425, 2014, doi: 10.1002/bem.21859.
- [34] C. H. Aguilar *et al.*, “Alternating magnetic field irradiation effects on three genotype maize seed field performance,” *Acta Agrophysica*, vol. 14, no. 1, pp. 7–17, 2009.
- [35] M. Rochalska, K. Grabowska-Topczewska, and A. Mackiewicz, “Influence of alternating low frequency magnetic field on improvement of seed quality,” *Int. Agrophysics*, vol. 25, pp. 265–269, 2011.
- [36] G. Fischer, M. Tausz, M. Köck, and D. Grill, “Effects of weak 16 3/2 Hz magnetic fields on growth parameters of young sunflower and wheat seedlings,” *Bioelectromagnetics*, vol. 25, no. 8, pp. 638–641, 2004, doi: 10.1002/bem.20058.
- [37] T. Yusaf and R. A. Al-Juboori, “Alternative methods of microorganism disruption for agricultural applications,” *Appl. Energy*, vol. 114, pp. 909–923, 2014, doi: 10.1016/j.apenergy.2013.08.085.
- [38] C. Lo Porto *et al.*, “Plasma activated water and airborne ultrasound treatments for enhanced germination and growth of soybean,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 49, pp. 13–19, 2018, doi: 10.1016/j.ifset.2018.07.013.
- [39] J. Wang, H. Ma, and S. Wang, “Application of ultrasound, microwaves, and magnetic fields techniques in the germination of cereals,” *Food Sci. Technol. Res.*, vol. 25, pp. 489–497, 2019, doi: 10.3136/fstr.25.489.
- [40] K. Y. Chiu and J. M. Sung, “Use of ultrasonication to enhance pea seed germination and microbial quality of pea sprouts,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 49, pp. 1699–1706, 2014, doi: 10.1111/ijfs.12476.
- [41] Y. P. Chen, Q. Liu, X. Z. Yue, Z. W. Meng, and J. Liang, “Ultrasonic vibration seeds showed improved resistance to cadmium and lead in wheat seedling,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 20, pp. 4807–4816, 2013, doi: 10.1007/s11356-012-1411-1.
- [42] E. Mihaylova, M. Marcheva, and N. Peruhov, “Ultrasound seed treatment for organic farming,” *Bulg. J. Agric. Sci.*, vol. 27, pp. 78–84, 2021.
- [43] M. Schmidt, E. Zannini, and E. Arendt, “Recent advances in physical post-harvest treatments for shelf-life extension of cereal crops,” *Foods*, vol. 45, 2018, doi: 10.3390/foods7040045.
- [44] B. Messyas, M. Pikosz, G. Schroeder, B. Łęska, and J. Fabrowska, “Identification and ecology of macroalgae species existing in Poland,” in *Marine Algae Extracts Processes, Products, and Applications, Volume 1*, S.-K. Kim and K. Chojnacka, Eds., Weinheim:

Wiley-VCH, 2015, pp. 17–39. doi: 978-3-527-33708-8.

- [45] L. Pereira, “Macroalgae,” *Encyclopedia*, vol. 1, no. 1, pp. 177–188, 2021, doi: 10.3390/encyclopedia1010017.
- [46] I. Michalak and B. Messyas, “Concise review of *Cladophora* spp.: macroalgae of commercial interest,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 33, no. 1, pp. 133–166, Feb. 2021, doi: 10.1007/s10811-020-02211-3.
- [47] L. Bourebaba, I. Michalak, M. Röcken, and K. Marycz, “*Cladophora glomerata* methanolic extract decreases oxidative stress and improves viability and mitochondrial potential in equine adipose derived mesenchymal stem cells (ASCs),” *Biomed. Pharmacother.*, vol. 111, pp. 6–18, 2019.
- [48] I. Michalak, R. Wilk, and K. Chojnacka, “Bioconversion of Baltic seaweeds into organic compost,” *Waste Biomass Valor.*, no. 8, pp. 1885–1895, 2017.
- [49] A. A. Al-Homaidan, H. S. Al-Qahtani, A. A. Al-Ghanayem, F. Ameen, and I. B. M. Ibraheem, “Potential use of green algae as a biosorbent for hexavalent chromium removal from aqueous solutions,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 25, pp. 1733–1738, 2018.
- [50] “AlgaeBase - *Cladophora glomerata*.” https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1393 (accessed Jan. 20, 2022).
- [51] R. Zhong *et al.*, “Polysaccharides from marine *Enteromorpha*: structure and function,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 99, pp. 11–20, 2020.
- [52] S. Gaikwad, “Effect of lower concentration aqueous extracts of *Enteromorpha flexusa* on germination and seedling growth of test plant raphanus sativus var. Japoni,” *Int. J. Res. Biosci. Sgriculture Technol.*, vol. 17, pp. 614–616, 2021.
- [53] C. Mathur, S. Rai, N. Sase, S. Krish, and M. A. Jayasri, “*Enteromorpha intestinalis* derived seaweed liquid fertilizers as prospective biostimulant for Glycine max,” *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, vol. 58, no. 6, pp. 813–820, 2015, doi: 10.1590/S1516-89132015060304.
- [54] L. G. Castellanos-Barriga, F. Santacruz-Ruvalcaba, G. Hernández-Carmona, E. Ramírez-Briones, and R. M. Hernández-Herrera, “Effect of seaweed liquid extracts from *Ulva lactuca* on seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*),” *J. Appl. Phycol.*, vol. 29, pp. 2479–2488, 2017, doi: 10.1007/s10811-017-1082-x.
- [55] M. H. Hussein, A. F. Al Bakry, N. Elsafty, and M. M. Elshamy, “Seaweed extracts as prospective plant growth bio-stimulant and salinity stress alleviator for *Vigna sinensis* and *Zea mays*,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 33, pp. 1273–1291, 2021, doi: 10.1007/s10811-

- [56] M. S. Arokia Rajan, R. Thirunavukkarasu, J. Joseph, and W. Aruni, “Effect of seaweed on seed germination and biochemical constituents of *Capsicum annuum*,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 29, p. 101761, 2020, doi: 10.1016/j.bcab.2020.101761.
- [57] R. M. Hernández-Herrera, F. Santacruz-Ruvalcaba, J. Zañudo-Hernández, and G. Hernández-Carmona, “Activity of seaweed extracts and polysaccharide-enriched extracts from *Ulva lactuca* and *Padina gymnospora* as growth promoters of tomato and mung bean plants,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 28, pp. 2549–2560, 2016, doi: 10.1007/s10811-015-0781-4.
- [58] M. E. M. El Boukhari, M. Barakate, N. Choumani, Y. Bouhia, and K. Lyamlouli, “*Ulva lactuca* extract and fractions as seed priming agents mitigate salinity stress in tomato seedlings,” *Plants*, vol. 10, no. 6, p. 1104, 2021, doi: 10.3390/plants10061104.
- [59] C. O. Dimkpa *et al.*, “Effects of manganese nanoparticle exposure on nutrient acquisition in wheat (*Triticum aestivum* L.),” *Agronomy*, vol. 8, no. 158, 2018, doi: 10.3390/agronomy8090158.
- [60] S. Latique *et al.*, “Foliar application of *Ulva rigida* water extracts improves salinity tolerance in wheat (*Triticum durum* L.),” *Agronomy*, vol. 11, no. 2, p. 265, 2021, doi: 10.3390/agronomy11020265.
- [61] R. M. Hernández-Herrera, F. Santacruz-Ruvalcaba, M. A. Ruiz-López, J. Norrie, and G. Hernández-Carmona, “Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.),” *J. Appl. Phycol.*, vol. 25, no. 4, pp. 619–628, Feb. 2013, doi: 10.1007/s10811-013-0078-4.
- [62] E. L. Chaikina, L. A. Dega, E. A. Pislyagin, and M. M. Anisimov, “Effects of water soluble extracts from marine algae on root growth in soybean seedlings,” *Russ. Agric. Sci.*, vol. 41, no. 1, pp. 11–13, 2015.
- [63] F. Ghaderiardakani, E. Collas, D. K. Damiano, K. Tagg, N. S. Graham, and J. C. Coates, “Effects of green seaweed extract on Arabidopsis early development suggest roles for hormone signalling in plant responses to algal fertilisers,” *Sci. Rep.*, vol. 9, p. 1983, 2019, doi: 10.1038/s41598-018-38093-2.
- [64] E. Nabti *et al.*, “Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*,” *J. Plant Growth Regul.*, vol. 29, pp. 6–22, 2010, doi: 10.1007/s00344-009-9107-6.
- [65] P. X. Sheng, Y. Ting, J. P. Chen, and L. Hong, “Sorption of lead, copper, cadmium, zinc,

- and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms,” *J. Coll. Interf. Sci.*, vol. 275, pp. 131–141, 2004.
- [66] A. Sahmurova, H. Türkmenler, and E. E. Özbaş, “Biosorption kinetics and isotherm studies of Cd(II) by dried *Enteromorpha compressa* macroalgae cells from aqueous solutions,” *Clean (Weinh)*, vol. 38, no. 10, pp. 936–941, 2010.
- [67] M. El-Sheekh, S. El-Sabagh, G. A. Elsoud, and A. Elbeltagy, “Efficacy of immobilized biomass of the seaweeds *Ulva lactuca* and *Ulva fasciata* for cadmium biosorption,” *Iran J. Sci. Technol. Trans. Sci.*, vol. 44, pp. 37–49, 2020.
- [68] A. Sari and M. Tuzen, “Biosorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution using green alga (*Ulva lactuca*) biomass,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 152, pp. 302–308, 2008.
- [69] S. Zakhama, H. Dhaouadi, and F. M’Henni, “Nonlinear modelisation of heavy metal removal from aqueous solution using *Ulva lactuca* algae,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 2, pp. 786–796, 2010.
- [70] M. Lupea, L. Bulgariu, and M. Macoveanu, “Adsorption of Cobalt(II) from aqueous solution using marine green algae – *Ulva lactuca* sp.,” *Bull. I. P. Iași, s. Chem. Chem Eng.*, vol. 58, no. 1, pp. 41–47, 2012.
- [71] V. Murphy, H. Hughes, and P. McLoughlin, “Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass,” *Chemosphere*, vol. 70, pp. 1128–1134, 2008.
- [72] I. Michalak and K. Chojnacka, “The new application of biosorption properties of *Enteromorpha prolifera*,” *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 160, pp. 1540–1556, 2010.
- [73] D. Bulgariu and L. Bulgariu, “Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass,” *Bioresour. Technol.*, vol. 103, pp. 489–493, 2012.
- [74] A. El-Sikaily, A. El Nemr, A. Khaled, and O. Abdelwehab, “Removal of toxic chromium from wastewater using green alga *Ulva lactuca* and its activated carbon,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 148, pp. 216–228, 2007.
- [75] S. Karthikeyan, R. Balasubramanian, and C. S. P. Iyer, “Evaluation of the marine algae *Ulva fasciata* and *Sargassum* sp. for the biosorption of Cu(II) from aqueous solutions,” *Bioresour. Technol.*, vol. 98, pp. 452–455, 2007.
- [76] Y. Zeroual *et al.*, “Biosorption of mercury from aqueous solution by *Ulva lactuca* biomass,” *Bioresour. Technol.*, vol. 90, pp. 349–351, 2003.
- [77] L. Bulgariu, M. Lupea, C. Ciubota-Rosie, and M. Macoveanu, “Possibility of using algae biomass for removing Pb (II) ions from aqueous solutions,” *Sci. Pap. J. Agron. Ser.*, vol.

53, no. 1, pp. 79–83, 2010.

- [78] I. S. Bădescu, D. Bulgariu, and L. Bulgariu, “Alternative utilization of algal biomass (*Ulva* sp.) loaded with Zn(II) ions for improving of soil quality,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 29, no. 1069–1079, 2017.
- [79] Y. P. Kumar, P. King, and V. S. R. K. Prasad, “Adsorption of zinc from aqueous solution using marine green algae – *Ulva fasciata* sp.,” *Chem. Eng. J.*, vol. 129, pp. 161–166, 2007.
- [80] “AlgaeBase - *Enteromorpha compressa*.”
https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=18732 (accessed Jan. 20, 2022).
- [81] “AlgaeBase - *Enteromorpha linza*.”
https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=38 (accessed Jan. 20, 2022).
- [82] “AlgaeBase - *Enteromorpha flexuosa*.”
https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=217&sk=10 (accessed Jan. 20, 2022).
- [83] T. M. Thompson, B. R. Young, and S. Baroutian, “Pelagic *Sargassum* for energy and fertiliser production in the Caribbean: A case study on Barbados,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 118, no. 109564, 2020.
- [84] E. M. Aymen, L. Salma, C. Halima, H. Chérif, and E. Mimoun, “Effect of seaweed extract of *Sargassum vulgare* on germination behavior of two tomatoes cultivars (*Solanum lycopersicum* L) under salt stress,” *Octa J. Environ. Res.*, vol. 2, no. 3, pp. 203–210, 2014.
- [85] F. A. E. L. Gharib, I. M. Zeid, O. M. A.-H. Salem, and E. Z. Ahmed, “Effects of *Sargassum latifolium* extract on growth, oil content and enzymatic activities of rosemary plants under salinity stress,” *Life Sci. J.*, vol. 11, no. 10, 2014.
- [86] C. Kalaivanan and V. Venkatesalu, “Utilization of seaweed *Sargassum myriocystum* extracts as a stimulant of seedlings of *Vigna mungo* (L.) Hepper,” *Spanish J. Agric. Res.*, vol. 10, no. 2, pp. 466–470, 2012.
- [87] N. Vijayanand, S. Sivasangari Ramya, and S. Rathinavel, “Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant,” *Asian Pacific J. Reprod.*, vol. 3, no. 2, pp. 150–155, 2014.
- [88] G. Kumar and D. Sahoo, “Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 23, pp. 251–255, 2011.

- [89] H. R. Ghareib, "Effect of methanol extract of *Sargassum virgatum* AG (Mert.) – a marine brown macroalga on seed germination and seedling growth of some agricultural crops," *Thalass. An Int. J. Mar. Sci.*, vol. 26, no. 1, pp. 13–21, 2010.
- [90] R. Yusuf *et al.*, "The effect of seaweed extract (*Sargassum* sp.) on growth and yield enhancement of mustard greens (*Brassica juncea* L.)," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 828, no. 012011, 2021.
- [91] L. D. Silva, K. Bahcevandziev, and L. Pereira, "Production of bio-fertilizer from *Ascophyllum nodosum* and *Sargassum muticum* (Phaeophyceae)," *J. Oceanol. Limnol.*, vol. 37, no. 3, pp. 918–927, 2019.
- [92] S. Mahmoud, D. Salama, A. El-Tanahy, and E. Abd El-Samad, "Utilization of seaweed (*Sargassum vulgare*) extract to enhance growth, yield and nutritional quality of red radish plants," *Ann. Agric. Sci.*, vol. 64, pp. 167–175, 2019.
- [93] Fatriana, M. W. Caronge, Y. A. Djawad, N. Bourgougnon, A. T. Makkulawu, and O. Jumadi, "Effect of application of algae sargassum sp. extract to corn plants (*Zea mays* L.) and microbial response," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 484, no. 012058, 2020.
- [94] B. Bharath, M. Mahendrakumar, and K. Perinbam, "Biofertilizing efficiency of *Sargassum polycystum* extract on growth and biochemical composition of *Vigna radiata* and *Vigna mungo*," *Asian Pacific J. Reprod.*, vol. 7, no. 1, pp. 27–32, 2018.
- [95] S. Fatimah, H. Alimon, and N. Daud, "The effect of seaweed extract (*Sargassum* sp) used as fertilizer on plant growth of *Capsicum annum* (chilli) and *Lycopersicon esculentum* (tomato)," *Indones. J. Sci. Technol.*, vol. 3, no. 2, pp. 115–123, 2018.
- [96] M. Sasikala, E. Indumathi, S. Radhika, and R. Sasireka, "Effect of seaweed extract (*Sargassum tenerrimum*) on seed germination and growth of tomato plant (*Solanum lycopersicum*)," *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 9, no. 9, pp. 285–293, 2016.
- [97] A. A. H. Abdel Latef, A. K. Srivastava, H. Saber, E. A. Alwaleed, and L.-S. P. Tran, "*Sargassum muticum* and *Jania rubens* regulate amino acid metabolism to improve growth and alleviate salinity in chickpea," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 10537, 2017.
- [98] D. M. M. Freitas, R. J. E. Martins, C. M. Delerue-Matos, and R. A. R. Boaventura, "Removal of Cd(II), Zn(II) and Pb(II) from aqueous solutions by brown marine macro algae: Kinetic modelling," *J. Hazard. Mater.*, vol. 153, pp. 493–501, 2008.
- [99] N. Tamilselvan, K. Saurav, and K. Kannabiran, "Biosorption of Cr (VI), Cr (III), Pb (II) and Cd (II) from aqueous solutions by *Sargassum wightii* and *Caulerpa racemosa* algal biomass," *J. Ocean Univ. China (Oceanic Coast. Sea Res.*, vol. 11, no. 1, pp. 52–58,

2012.

- [100] M. A. Hashim and K. H. Chu, "Biosorption of cadmium by brown, green, and red seaweeds," *Chem. Eng. J.*, vol. 97, pp. 249–255, 2004.
- [101] M. M. Montazer-Rahmati, P. Rabbani, A. Abdolali, and A. R. Keshtkar, "Kinetics and equilibrium studies on biosorption of cadmium, lead, and nickel ions from aqueous solutions by intact and chemically modified brown algae," *J. Hazard. Mater.*, vol. 185, pp. 401–407, 2011.
- [102] E. S. Cossich, C. R. G. Tavares, and T. M. K. Ravagnani, "Biosorption of chromium(III) by *Sargassum* sp. biomass," *EJB Electron. J. Biotechnol.*, vol. 5, no. 2, pp. 133–140, 2002.
- [103] R. Bazzazzadeh, M. R. Soudi, T. Valinassab, and O. Moradlou, "Kinetics and equilibrium studies on biosorption of hexavalent chromium from leather tanning wastewater by *Sargassum tenerrimum* from Chabahar-Bay Iran.," *Algal Res.*, vol. 48, no. 101896, 2020.
- [104] L. Yang and J. P. Chen, "Biosorption of hexavalent chromium onto raw and chemically modified *Sargassum* sp.," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, pp. 297–307, 2008.
- [105] H. Pahlavanzadeh, A. R. Keshtkar, J. Safdari, and Z. Abadi, "Biosorption of nickel(II) from aqueous solution by brown algae: Equilibrium, dynamic and thermodynamic studies," *J. Hazard. Mater.*, vol. 175, pp. 304–310, 2010.
- [106] S. Kalyani, P. Srinivasa Rao, and A. Krishnaiah, "Removal of nickel (II) from aqueous solutions using marine macroalgae as the sorbing biomass," *Chemosphere*, vol. 57, pp. 1225–1229, 2004.
- [107] "AlgaeBase - *Sargassum muticum*." https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=12939&sk=100 (accessed Jan. 21, 2022).
- [108] "AlgaeBase - *Sargassum trichocarpum*." https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1361 (accessed Jan. 21, 2022).
- [109] "AlgaeBase - *Sargassum vulgare*." https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1505 (accessed Jan. 21, 2022).
- [110] "AlgaeBase - *Sargassum polyceratum*." https://www.algaebase.org/search/images/detail/?img_id=30789 (accessed Jan. 21, 2022).

- [111] K. Balina, F. Romagnoli, and D. Blumberga, “Chemical composition and potential use of *Fucus vesiculosus* from Gulf of Riga,” *Energy procedia*, vol. 95, pp. 43–49, 2016.
- [112] I. Michalak and S. Baśladyńska, “Effect of *Fucus* extract and biomass enriched with Cu(II) and Zn(II) ions on the growth of garden cress (*Lepidium sativum*) under laboratory conditions,” *Ital. J. Agron.*, vol. 16, no. 1799, 2021, doi: 10.4081/ija.2021.1799.
- [113] A.-H. M. Hamoody, J. N. Abood, and B. I. Dheeb, “The synergistic effect of fungus filter *Aspergillus terreus* and aqueous extract of *Fucus vesiculosus* on some growth characteristics of the *Ocimum basilicum* and its content of active substances,” *EurAsian J. Biosci.*, vol. 14, pp. 161–166, 2020.
- [114] Y. N. Mata, M. L. Blázquez, A. Ballester, F. González, and J. A. Muñoz, “Characterization of the biosorption of cadmium, lead and copper with the brown alga *Fucus vesiculosus*,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 158, pp. 316–323, 2008.
- [115] V. R. Moreira, Y. A. R. Lebron, L. C. Lange, and L. V. S. Santos, “Simultaneous biosorption of Cd(II), Ni(II) and Pb(II) onto a brown macroalgae *Fucus vesiculosus*: Mono- and multi-component isotherms, kinetics and thermodynamics,” *J. Environ. Manag.*, vol. 251, p. 109587, 2019.
- [116] R. Herrero, B. Cordero, P. Lodeiro, C. Rey-Castro, and M. E. Sastre de Vicente, “Interactions of cadmium(II) and protons with dead biomass of marine algae *Fucus* sp.,” *Mar. Chem.*, vol. 99, pp. 106–116, 2006.
- [117] L. Castro, M. L. Blázquez, F. González, J. A. Muñoz, and A. Ballester, “Biosorption of Zn(II) from industrial effluents using sugar beet pulp and *F. vesiculosus*: From laboratory tests to a pilot approach,” *Sci. Total Environ.*, vol. 598, pp. 856–866, 2017.
- [118] “AlgaeBase - *Fucus vesiculosus*.” https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=148557&sk=0 (accessed Jan. 24, 2022).
- [119] J. Cao, J. Wang, S. Wang, and X. Xu, “Porphyra Species: A Mini-Review of Its Pharmacological and Nutritional Properties,” *J. Med. Food*, vol. 19, no. 2, pp. 111–119, 2016.
- [120] C. Liu *et al.*, “Adsorption mechanism of rare earth elements in *Laminaria ochroleuca* and *Porphyra haitanensis*,” *J. Food Biochem.*, 2017, doi: 10.1111/jfbc.12533.
- [121] C. Jia, Y. Zhang, H. Wang, G. Ou, Q. Liu, and J. Lin, “Rapid biosorption and reduction removal of Cr(VI) from aqueous solution by dried seaweeds,” *J. Cent. South Univ.*, vol. 21, pp. 2801–2809, 2014, doi: 10.1007/s11771-014-2243-6.

- [122] X. S. Wang, Z. Z. Li, and C. Sun, “A comparative study of removal of Cu(II) from aqueous solutions by locally low-cost materials: marine macroalgae and agricultural by-products,” *Desalination*, vol. 235, pp. 146–159, 2009.
- [123] “AlgaeBase - *Porphyra laciniata*.”
https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=347 (accessed Jan. 25, 2022).
- [124] “AlgaeBase - *Porphyra lucasii*.”
https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1706 (accessed Jan. 25, 2022).
- [125] “AlgaeBase - *Porphyra saldanhae*.”
https://www.algaebase.org/search/images/detail/?img_id=8416 (accessed Jan. 25, 2022).
- [126] “AlgaeBase - *Porphyra leucosticta*.”
https://www.algaebase.org/search/images/detail/?img_id=12381 (accessed Jan. 25, 2022).
- [127] P. Stévant, P. S. Schmedes, L. Le Gall, S. Wegeberg, J. Dumay, and C. Rebours, “Concise review of the red macroalga dulse, *Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr,” *J. Appl. Phycol.*, 2023, doi: 10.1007/s10811-022-02899-5.
- [128] Y. Li, B. Helmreich, and H. Horn, “Biosorption of Cu(II) ions from aqueous solution by red alga (*Palmaria palmata*) and beer draff,” *Mater. Sci. Appl.*, vol. 2, pp. 70–80, 2011, doi: 10.4236/msa.2011.22010.
- [129] “AlgaeBase - *Palmaria palmata*.”
- [130] L. Salma *et al.*, “Effect of seaweed extract of *Sargassum vulgare* on germination behavior of two bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L) under salt stress,” *IOSR J. Agric. Vet. Sci.*, vol. 7, no. 2, pp. 116–120, 2014.
- [131] L. Salma, E. M. Aymen, C. Halima, H. Chérif, and E. Mimoun, “Effect of seaweed liquid extract of *Sargassum vulgare* on growth of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L) under salt stress,” *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, vol. 7, no. 4, pp. 1430–1435, 2014.
- [132] A. K. Jha, V. Kumar, and K. Prasad, “Biosynthesis of metal and oxide nanoparticles using orange juice,” *J. Bionanoscience*, vol. 5, pp. 162–166, 2011, doi: 10.1166/jbns.2011.1053.
- [133] K. Dziergowska and I. Michalak, “The role of nanoparticles in sustainable agriculture,” in *Smart agrochemicals for sustainable agriculture*, K. Chojnacka and A. Saeid, Eds., London: Elsevier, 2022, pp. 225–277.
- [134] P. Khanna, A. Kaur, and D. Goyal, “Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis,

- characterization and applications,” *J. Microbiol. Methods*, vol. 163, 2019, doi: 10.1016/j.mimet.2019.105656.
- [135] H. Y. El-Kassas and M. A. E. A. Okbah, “Phytotoxic effects of seaweed mediated copper nanoparticles against the harmful alga: *Lyngbya majuscula*,” *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 15, pp. 41–48, 2017, doi: 10.1016/j.jgeb.2017.01.002.
- [136] I. Michalak *et al.*, “The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry,” *Vet. Q.*, vol. 42, no. 1, pp. 68–94, 2022, doi: 10.1080/01652176.2022.2073399.
- [137] A. M. Eid *et al.*, “Plant-based copper oxide nanoparticles; biosynthesis, characterization, antibacterial activity, tanning wastewater treatment, and heavy metals sorption,” *Catalysts*, vol. 13(2), no. 348, Feb. 2023, doi: 10.3390/catal13020348.
- [138] N. Sebeia, M. Jabli, and A. Ghith, “Biological synthesis of copper nanoparticles, using *Nerium oleander* leaves extract: Characterization and study of their interaction with organic dyes,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 105, pp. 36–46, 2019, doi: 10.1016/j.inoche.2019.04.023.
- [139] R. Bulgari, G. Cocetta, A. Trivellini, P. Vernieri, and A. Ferrante, “Biostimulants and crop responses: a review,” *Biol. Agric. Hortic.*, vol. 31, no. 1, pp. 1–17, 2015, doi: 10.1080/01448765.2014.964649.
- [140] B. Buszewski and M. Szultka, “Past, present, and future of solid phase extraction: a review,” *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 42, pp. 198–213, 2012, doi: 10.1080/07373937.2011.645413.
- [141] I. Michalak and K. Chojnacka, “Algal extracts: Technology and advances,” *Eng. Life Sci.*, vol. 14, no. 6, pp. 581–591, 2014, doi: 10.1002/elsc.201400139.
- [142] T. Hahn, S. Lang, R. Ulber, and K. Muffler, “Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae,” *Process Biochem.*, vol. 47, pp. 1691–1698, 2012.
- [143] Z. Ying, X. Han, and J. Li, “Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves,” *Food Chem.*, vol. 127, pp. 1273–1279, 2011.
- [144] S. U. Kadam, B. K. Tiwari, and C. P. O’Donnell, “Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, pp. 4667–4675, 2013, doi: 10.1021/jf400819p.
- [145] E. Ibañez, M. Herrero, J. A. Mendiola, and M. Castro-Puyana, “Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: Macro and micro algae, cyanobacteria, and invertebrates,” in *Marine Bioactive Compounds: Sources, Characterization and Applications*, M. Hayes, Ed., New York:

Springer Science+Business Media, 2012, pp. 55–98.

- [146] S. Huang, L. Wang, L. Liu, Y. Hou, and L. Li, *Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. A review*, vol. 35. 2015. doi: 10.1007/s13593-014-0274-x.
- [147] P. Rajiv and P. Vanathi, “Effect of Parthenium based vermicompost and zinc oxide nanoparticles on growth and yield of *Arachis hypogaea* L. in zinc deficient soil,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 13, pp. 251–257, 2018, doi: 10.1016/j.bcab.2018.01.006.
- [148] F. Zulfiqar, M. Navarro, M. Ashraf, N. A. Akram, and S. Munné-Bosch, “Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations,” *Plant Sci.*, vol. 289, no. 110270, 2019.
- [149] L. Pourakbar, S. Siavash Moghaddam, and J. Popović-Djordjević, “Synthesis of metal/metal oxide nanoparticles by green methods and their applications,” in *Sustainable Agriculture Reviews 41. Nanotechnology for Plant Growth and Development.*, S. Hayat, J. Pichtel, M. Faizan, and Q. Fariduddin, Eds., Switzerland AG: Springer Nature, 2020, pp. 63–81.
- [150] M. Runowski, “Nanotechnologia – nanomateriały, nanocząstki i wielofunkcyjne nanostruktury typu rdzeń/powłoka,” *Chemik*, vol. 68, no. 9, pp. 766–775, 2014.
- [151] F. N. Spagnoletti, C. Spedalieri, F. Kronberg, and R. Giacometti, “Extracellular biosynthesis of bactericidal Ag/AgCl nanoparticles for crop protection using the fungus *Macrophomina phaseolina*,” *J. Environ. Manag.*, vol. 231, pp. 457–466, 2019.
- [152] C. Zhang *et al.*, “Biosynthesis of zinc nanoparticles using *Allium saralicum* R.M. Fritsch leaf extract; Chemical characterization and analysis of their cytotoxicity, antioxidant, antibacterial, antifungal, and cutaneous wound healing properties,” *Appl. Organomet. Chem.*, pp. 1–18, 2020, doi: 10.1002/aoc.5564.
- [153] S. J. L. R.S. Roopa Bai, H. S. C.T. Ramachandra, and S. N. Shivanagouda R. Doddagoudar, “Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles from spinach (*Spinacia oleracea*) leaves and its effect on seed quality parameters of greengram (*Vigna radiata*),” *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 6, no. 9, pp. 3376–3384, 2017, doi: 10.20546/ijcmas.2017.609.416.
- [154] S. K. Chaudhuri and L. Malodia, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Calotropis gigantea*: Characterization and its evaluation on tree seedling growth in nursery stage,” *Appl. Nanosci.*, vol. 7, pp. 501–512, 2017, doi: 10.1007/s13204-017-0586-7.
- [155] W. Salem *et al.*, “Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio*

- cholerae* and enterotoxic *Escherichia coli*,” *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 305, pp. 85–95, 2015, doi: 10.1016/j.ijmm.2014.11.005.
- [156] T. Bhuyan, K. Mishra, M. Khanuja, R. Prasad, and A. Varma, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from *Azadirachta indica* for antibacterial and photocatalytic applications,” *Mater. Sci. Semicond. Process.*, vol. 32, pp. 55–61, 2015, doi: 10.1016/j.mssp.2014.12.053.
- [157] M. Stan, A. Popa, D. Toloman, A. Dehelean, I. Lung, and G. Katona, “Enhanced photocatalytic degradation properties of zinc oxide nanoparticles synthesized by using plant extracts,” *Mater. Sci. Semicond. Process.*, vol. 39, pp. 23–29, 2015, doi: 10.1016/j.mssp.2015.04.038.
- [158] G. Sathishkumar, C. Rajkuberan, K. Manikandan, S. Prabukumar, J. DanielJohn, and S. Sivaramakrishnan, “Facile biosynthesis of antimicrobial zinc oxide (ZnO) nanoflakes using leaf extract of *Couroupita guianensis*, Aubl.,” *Mater. Lett.*, vol. 188, pp. 383–386, 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2016.11.100.
- [159] N. J. Sushma, B. Mahitha, K. Mallikarjuna, and B. D. P. Raju, “Bio-inspired ZnO nanoparticles from *Ocimum tenuiflorum* and their in vitro antioxidant activity,” *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.*, vol. 122, no. 5, pp. 1–10, 2016, doi: 10.1007/s00339-016-0069-9.
- [160] T. C. Taranath, B. N. Patil, T. U. Santosh, and B. S. Sharath, “Cytotoxicity of zinc nanoparticles fabricated by *Justicia adhatoda* L. on root tips of *Allium cepa* L.—a model approach,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 22, no. 11, pp. 8611–8617, 2015, doi: 10.1007/s11356-014-4043-9.
- [161] T. C. Taranath and B. N. Patil, “*Limonia acidissima* L. leaf mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles: A potent tool against *Mycobacterium tuberculosis*,” *Int. J. Mycobacteriology*, vol. 5, no. 2, pp. 197–204, 2016, doi: 10.1016/j.ijmyco.2016.03.004.
- [162] Sohail *et al.*, “In vitro germination and biochemical profiling of *Brassica napus* in response to biosynthesised zinc nanoparticles,” *IET Nanobiotechnology*, vol. 13, no. 1, pp. 46–51, 2019, doi: 10.1049/iet-nbt.2018.5012.
- [163] M. Akbarian, S. Mahjoub, S. M. Elahi, E. Zabihi, and H. Tashakkorian, “*Urtica dioica* L. extracts as a green catalyst for the biosynthesis of zinc oxide nanoparticles: Characterization and cytotoxic effects on fibroblast and MCF-7 cell lines,” *New J. Chem.*, vol. 42, no. 8, pp. 5822–5833, 2018, doi: 10.1039/c8nj00496j.
- [164] S. Rajeshkumar, S. V. Kumar, A. Ramaiah, H. Agarwal, T. Lakshmi, and S. M. Roopan, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Mangifera indica* leaves and evaluation

- of their antioxidant and cytotoxic properties in lung cancer (A549) cells,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 117, pp. 91–95, 2018, doi: 10.1016/j.enzmictec.2018.06.009.
- [165] G. Sharmila *et al.*, “Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles derived from *Bauhinia tomentosa* leaf extract,” *J. Nanostructure Chem.*, vol. 8, pp. 293–299, 2018, doi: 10.1007/s40097-018-0271-8.
- [166] S. Vijayakumar, C. Krishnakumar, P. Arulmozhi, S. Mahadevan, and N. Parameswari, “Biosynthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from leaf extract of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) DC,” *Microb. Pathog.*, vol. 116, pp. 44–48, 2018, doi: 10.1016/j.micpath.2018.01.003.
- [167] V. Sai Saraswathi, J. Tatsugi, P. K. Shin, and K. Santhakumar, “Facile biosynthesis, characterization, and solar assisted photocatalytic effect of ZnO nanoparticles mediated by leaves of *L. speciosa*,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 167, pp. 89–98, 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.12.032.
- [168] H. R. Rajabi, R. Naghiha, M. Kheirizadeh, H. Sadatfaraji, A. Mirzaei, and Z. M. Alvand, “Microwave assisted extraction as an efficient approach for biosynthesis of zinc oxide nanoparticles: Synthesis, characterization, and biological properties,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 78, pp. 1109–1118, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.03.090.
- [169] M. Murali *et al.*, “Antibacterial and antioxidant properties of biosynthesized zinc oxide nanoparticles from *Ceropegia candelabrum* L. – An endemic species,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 179, pp. 104–109, 2017, doi: 10.1016/j.saa.2017.02.027.
- [170] N. Matinise, X. G. Fuku, K. Kaviyarasu, N. Mayedwa, and M. Maaza, “ZnO nanoparticles via *Moringa oleifera* green synthesis: Physical properties & mechanism of formation,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 406, pp. 339–347, 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2017.01.219.
- [171] A. Sadatzadeh, F. R. Charati, R. Akbari, and H. H. Moghaddam, “Green biosynthesis of zinc oxide nanoparticles via aqueous extract of cottonseed,” *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 9, no. 10, pp. 2849–2853, 2018.
- [172] E. Zare, S. Pourseyedi, M. Khatami, and E. Darezereshki, “Simple biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using nature’s source, and it’s in vitro bio-activity,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1146, 2017, doi: 10.1016/j.molstruc.2017.05.118.
- [173] S. Azizi, F. Namvar, R. Mohamad, P. Md Tahir, and M. Mahdavi, “Facile biosynthesis and characterization of palm pollen stabilized ZnO nanoparticles,” *Mater. Lett.*, vol. 148, pp. 106–109, 2015, doi: 10.1016/j.matlet.2015.02.080.

- [174] N. Gandhi, D. Sirisha, and S. Asthana, "Microwave mediated green synthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of *Piper nigrum* seeds and particles characterisation," *IAETSD J. Advanced Res. Appl. Sci.*, vol. 5, no. 2, pp. 859–870, 2018.
- [175] S. Singh, N. Kumar, M. Kumar, Jyoti, A. Agarwal, and B. Mizaikoff, "Electrochemical sensing and remediation of 4-nitrophenol using bio-synthesized copper oxide nanoparticles," *Chem. Eng. J.*, vol. 313, pp. 283–292, 2017, doi: 10.1016/j.cej.2016.12.049.
- [176] D. Nagonkar, S. Shende, and M. Rai, "Biosynthesis of copper nanoparticles and its effect on actively dividing cells of mitosis in *Allium cepa*," *Biotechnol. Prog.*, vol. 31, no. 2, pp. 557–565, 2015, doi: 10.1002/btpr.
- [177] M. Sorbiun, E. Shayegan Mehr, A. Ramazani, and S. Taghavi Fardood, "Biosynthesis of Ag, ZnO and bimetallic Ag/ZnO alloy nanoparticles by aqueous extract of oak fruit hull (Jaft) and investigation of photocatalytic activity of ZnO and bimetallic Ag/ZnO for degradation of basic violet 3 dye," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 29, no. 4, pp. 2806–2814, 2018, doi: 10.1007/s10854-017-8209-3.
- [178] A. C. Nwanya *et al.*, "Maize (*Zea mays* L.) fresh husk mediated biosynthesis of copper oxides: Potentials for pseudo capacitive energy storage," *Electrochim. Acta*, vol. 301, pp. 436–448, 2019, doi: 10.1016/j.electacta.2019.01.186.
- [179] T. Karnan and S. A. S. Selvakumar, "Biosynthesis of ZnO nanoparticles using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract and their photocatalytic activity on methyl orange dye," *J. Mol. Struct.*, vol. 1125, pp. 358–365, 2016, doi: 10.1016/j.molstruc.2016.07.029.
- [180] O. J. Nava *et al.*, "Fruit peel extract mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles," *J. Mol. Struct.*, vol. 1147, 2017, doi: 10.1016/j.molstruc.2017.06.078.
- [181] P. Kaur, R. Thakur, and A. Chaudhury, "Biogenesis of copper nanoparticles using peel extract of *Punica granatum* and their antimicrobial activity against opportunistic pathogens," *Green Chem. Lett. Rev.*, vol. 9, no. 1, pp. 33–38, 2016, doi: 10.1080/17518253.2016.1141238.
- [182] A. Y. Ghidan, T. M. Al-Antary, and A. M. Awwad, "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach Aphid," *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.*, vol. 6, pp. 95–98, 2016, doi: 10.1016/j.enmm.2016.08.002.
- [183] P. Jamdagni, J. S. Rana, and P. Khatri, "Comparative account of antifungal activity of green and chemically synthesized Zinc Oxide nanoparticles in combination with

- agricultural fungicides,” *Int. J. Nano Dimens.*, vol. 9, no. 2, pp. 198–208, 2018, doi: 10.1049/iet-nbt.2018.5087.
- [184] D. Sharma *et al.*, “Biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Jacaranda mimosifolia* flowers extract: Synergistic antibacterial activity and molecular simulated facet specific adsorption studies,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 162, pp. 199–207, 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.06.043.
- [185] R. Dobrucka and J. Długaszewska, “Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 23, pp. 517–523, 2016, doi: 10.1016/j.sjbs.2015.05.016.
- [186] K. Roy, C. K. Ghosh, and C. K. Sarkar, “Rapid detection of hazardous H₂O₂ by biogenic copper nanoparticles synthesized using *Eichhornia crassipes* extract,” *Microsyst. Technol.*, vol. 25, pp. 1699–1703, 2019, doi: 10.1007/s00542-017-3480-z.
- [187] R. V. Kurkure, S. Jaybhaye, and A. Sangle, “Synthesis of Copper / Copper Oxide nanoparticles in eco-friendly and non-toxic manner from floral extract of *Caesalpinia pulcherrima*,” *Int. J. Recent Innov. Trends Comput. Commun.*, vol. 4, no. 4, pp. 363–367, 2016.
- [188] K. M. Rajesh, B. Ajitha, Y. A. K. Reddy, Y. Suneetha, and P. S. Reddy, “Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties,” *Optik (Stuttg.)*, vol. 154, pp. 593–600, 2018, doi: 10.1016/j.ijleo.2017.10.074.
- [189] W. J. Aziz and H. A. Jassim, “A new paradigm shift to prepare copper nanoparticles using biological synthesis and evaluation of antimicrobial activity,” *Plant Arch.*, vol. 18, no. 2, pp. 2020–2024, 2018.
- [190] A. Miri and M. Sarani, “Biosynthesis and cytotoxic study of synthesized zinc oxide nanoparticles using *Salvadora persica*,” *Bionanoscience*, vol. 9, pp. 164–171, 2019, doi: 10.1007/s12668-018-0579-3.
- [191] H. Umar, D. Kavaz, and N. Rizaner, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *albizia lebbeck* stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 14, pp. 87–100, 2019, doi: 10.2147/IJN.S186888.
- [192] N. Supraja, T. N. V. K. V. Prasad, T. G. Krishna, and E. David, “Synthesis, characterization, and evaluation of the antimicrobial efficacy of *Boswellia ovalifoliolata* stem bark-extract-mediated zinc oxide nanoparticles,” *Appl. Nanosci.*, vol. 6, no. 4, pp. 581–590, 2016, doi: 10.1007/s13204-015-0472-0.

- [193] S. Yallappa, J. Manjanna, M. A. Sindhe, N. D. Satyanarayan, S. N. Pramod, and K. Nagaraja, "Microwave assisted rapid synthesis and biological evaluation of stable copper nanoparticles using *T. arjuna* bark extract," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 110, pp. 108–115, 2013, doi: 10.1016/j.saa.2013.03.005.
- [194] M. N. Owaid, T. A. Zaidan, R. F. Muslim, and M. A. Hammood, "Biosynthesis, characterization and cytotoxicity of zinc nanoparticles using panax ginseng roots, araliaceae," *Acta Pharm. Sci.*, vol. 57, no. 1, pp. 19–32, 2019, doi: 10.23893/1307-2080.APS.05702.
- [195] L. F. A. Anand Raj and E. Jayalakshmy, "Biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using root extract of *Zingiber officinale*," *Orient. J. Chem.*, vol. 31, no. 1, pp. 51–56, 2015, doi: 10.13005/ojc/310105.
- [196] T. Khalafi, F. Buazar, and K. Ghanemi, "Phycosynthesis and enhanced photocatalytic activity of zinc oxide nanoparticles toward organosulfur pollutants," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 6866, 2019, doi: 10.1038/s41598-019-43368-3.
- [197] P. Venkatachalam *et al.*, "Enhanced plant growth promoting role of phycomolecules coated zinc oxide nanoparticles with P supplementation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)," *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 110, pp. 118–127, 2017, doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.004.
- [198] S. Nagarajan and K. Arumugam Kuppusamy, "Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticle using seaweeds of gulf of Mannar, India," *J. Nanobiotechnology*, vol. 11, no. 39, 2013, doi: 10.1186/1477-3155-11-39.
- [199] S. Azizi, M. B. Ahmad, F. Namvar, and R. Mohamad, "Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga *Sargassum muticum* aqueous extract," *Mater. Lett.*, vol. 116, pp. 275–277, 2014, doi: 10.1016/j.matlet.2013.11.038.
- [200] F. Namvar *et al.*, "Cytotoxic effects of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on murine cell lines," *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, 2015, doi: 10.1155/2015/593014.
- [201] R. Ishwarya *et al.*, "*Sargassum wightii*-synthesized ZnO nanoparticles – from antibacterial and insecticidal activity to immunostimulatory effects on the green tiger shrimp *Penaeus semisulcatus*," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 183, pp. 318–330, 2018, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.04.049.
- [202] R. I. Priyadharshini, G. Prasannaraj, N. Geetha, and P. Venkatachalam, "Microwave-mediated extracellular synthesis of metallic silver and zinc oxide nanoparticles using

- macro-algae (*Gracilaria edulis*) extracts and its anticancer activity against human PC3 cell lines,” *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 174, pp. 2777–2790, 2014, doi: 10.1007/s12010-014-1225-3.
- [203] J. Vaishnav, V. Subha, S. Kirubanandan, M. Arulmozhi, and S. Renganathan, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Celosia argentea* and its characterization,” *J. Optoelectron. Biomed. Mater.*, vol. 9, no. 1, pp. 59–71, 2017, [Online]. Available: http://www.chalcogen.ro/59_VaishnavJ.pdf
- [204] T. Ameh and C. M. Sayes, “The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review,” *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 71, no. July, p. 103220, 2019, doi: 10.1016/j.etap.2019.103220.
- [205] Y. Anzabi, “Biosynthesis of ZnO nanoparticles using barberry (*Berberis vulgaris*) extract and assessment of their physico-chemical properties and antibacterial activities,” *Green Process. Synth.*, vol. 7, no. 2, pp. 114–121, 2018, doi: 10.1515/gps-2017-0014.
- [206] A. A. Hassan, M. K. Hanan, H. Taha, E.-A. S. M. H. Rasha, and H. H. Mahmoud, “Herbal biosynthesis of zinc nanoparticles and evaluation of their antifungal and antibacterial effect for buffaloes skin affection,” *Int. J. Curr. Res.*, vol. 7, no. 12, pp. 24338–24349, 2015.
- [207] J. Suresh, G. Pradheesh, V. Alexramani, M. Sundrarajan, and S. I. Hong, “Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticle using insulin plant (*Costus pictus* D. Don) and investigation of its antimicrobial as well as anticancer activities,” *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 9, no. 1, 2018, doi: 10.1088/2043-6254/aaa6f1.
- [208] M. Norazwan, M. Nor, and M. Shamsuddin, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ficus Auriculata* (elephant ear fig) leaf extract and their photocatalytic activity,” vol. 2, pp. 79–83, 2016.
- [209] S. Yedurkar, C. Maurya, and P. Mahanwar, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ixora coccinea* leaf extract—A Green Approach,” *Open J. Synth. Theory Appl.*, vol. 05, pp. 1–14, 2016, doi: 10.4236/ojsta.2016.51001.
- [210] A. Salimi, H. R. Rahimi, H. Forootanfar, E. Jafari, A. Ameri, and M. Shakibaie, “Toxicity of microwave-assisted biosynthesized zinc nanoparticles in mice: a preliminary study,” *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 47, no. 1, pp. 1846–1858, 2019, doi: 10.1080/21691401.2019.1611592.
- [211] K. Kanagamani, P. Muthukrishnan, K. Saravanakumar, K. Shankar, and A. Kathiresan, “Photocatalytic degradation of environmental perilous gentian violet dye using leucaena-

- mediated zinc oxide nanoparticle and its anticancer activity,” *Rare Met.*, vol. 38, pp. 277–286, 2019, doi: 10.1007/s12598-018-1189-5.
- [212] U. K. Sur and B. Ankamwar, “Optical, dielectric, electronic and morphological study of biologically synthesized zinc sulphide nanoparticles using: *Moringa oleifera* leaf extract and quantitative analysis of chemical components present in the leaf extract,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 98, pp. 95611–95619, 2016, doi: 10.1039/c6ra18308e.
- [213] R. Yuvakkumar, J. Suresh, and S. I. Hong, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles,” *Adv. Mater. Res.*, vol. 952, pp. 137–140, 2014, doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.952.137.
- [214] A. Datta, C. Patra, H. Bharadwaj, S. Kaur, N. Dimri, and R. Khajuria, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Parthenium hysterophorus* leaf extract and evaluation of their antibacterial properties,” *J. Biotechnol. Biomater.*, vol. 7, no. 3, 2017, doi: 10.4172/2155-952x.1000271.
- [215] F. Sharifi, F. Sharififar, I. Sharifi, H. Q. Alijani, and M. Khatami, “Cytotoxicity, leishmanicidal, and antioxidant activity of biosynthesised zinc sulphide nanoparticles using *Phoenix dactylifera*,” *IET Nanobiotechnology*, vol. 12, no. 3, pp. 264–269, 2018, doi: 10.1049/iet-nbt.2017.0204.
- [216] M. Sathishkumar, M. Saroja, M. Venkatachalam, and A. T. Rajamanickam, “Biosynthesis of zinc sulphide nanoparticles using *Phyllanthus emblica* and their antimicrobial activities,” *Electr. Eng.*, vol. 102, no. January, pp. 44411–44415, 2017.
- [217] H. Chen, M. Gao, and H. Huang, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles and their catalytic and disinfection evaluation,” *Mater. Res. Express*, vol. 6, no. 8, 2019, doi: 10.1016/j.snb.2007.07.003.
- [218] L. Fu and Z. Fu, “*Plectranthus amboinicus* leaf extract-assisted biosynthesis of ZnO nanoparticles and their photocatalytic activity,” *Ceram. Int.*, vol. 41, no. 2, pp. 2492–2496, 2015, doi: 10.1016/j.ceramint.2014.10.069.
- [219] V. Mishra and R. Sharma, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using fresh peels of *Punica granatum* and its antimicrobial activities,” *Int. J. Pharma Res. Heal. Sci.*, vol. 3, no. 3, pp. 694–699, 2015.
- [220] M. Sathishkumar, M. Saroja, M. Venkatachalam, G. Parthasarathy, and A. T. Rajamanickam, “Biosynthesis and characterization of zinc sulphide nanoparticles using leaf extracts of *tridaxprocumbens*,” *Orient. J. Chem.*, vol. 33, no. 2, pp. 903–909, 2017, doi: 10.13005/ojc/330240.
- [221] V. Kulkarni and P. Kulkarni, “Synthesis of copper nanoparticles with aegle marmelos

- leaf extract,” *Nano Sci. Nano Technol.*, vol. 8, no. 10, pp. 401–404, 2014.
- [222] A. M. Awwad and M. W. Amer, “Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Ailanthus altissima* leaf extract and antibacterial activity,” *Chem. Int.*, vol. 6, no. 4, pp. 210–217, 2020.
- [223] A. A. Olajire, N. F. Ifediora, M. D. Bello, and N. U. Benson, “Green synthesis of copper nanoparticles using *Alchornea laxiflora* leaf extract and their catalytic application for oxidative desulphurization of model oil,” *Iran. J. Sci. Technol. Trans. A Sci.*, vol. 42, pp. 1935–1946, 2018, doi: 10.1007/s40995-017-0404-9.
- [224] A. T. Joseph, P. Prakash, and S. S. Narvi, “Phytofabrication and characterization of copper nanoparticles using *Allium sativum* and its antibacterial activity,” vol. 4, no. 2, pp. 463–472, 2016.
- [225] J. Karimi and S. Mohsenzadeh, “Rapid, green, and eco-friendly biosynthesis of copper nanoparticles using flower extract of *Aloe vera*,” *Synth. React. Inorganic, Met. Nano-Metal Chem.*, vol. 45, no. 6, pp. 895–898, 2015, doi: 10.1080/15533174.2013.862644.
- [226] E. A. Sharon, K. Velayutham, and R. Ramanibai, “Biosynthesis of copper nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* against Dengue Vector *Aedes aegypti*,” *Int. J. Life-Sciences Sci. Res.*, vol. 4, no. 4, pp. 1872–1879, 2018, doi: 10.21276/ijlssr.2018.4.4.4.
- [227] S. Thakur, R. Rai, and S. Sharma, “Study the antibacterial activity of copper nanoparticles synthesized using herbal plants leaf extracts,” *Int. J. Bio-Technology Res.*, vol. 4, no. 5, pp. 21–34, 2014.
- [228] S. Harne, A. Sharma, M. Dhaygude, S. Joglekar, K. Kodam, and M. Hudlikar, “Novel route for rapid biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of *Calotropis procera* L. latex and their cytotoxicity on tumor cells,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 95, pp. 284–288, 2012, doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.03.005.
- [229] K. Saranyaadevi, V. Subha, R. S. Ernest Ravindran, and S. Renganathan, “Synthesis and characterization of copper nanoparticle using cappariz zeylanicaleaf extract,” *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 6, no. 10, pp. 4533–4541, 2014.
- [230] M. Gondwal and G. Joshi Nee Pant, “Synthesis and catalytic and biological activities of silver and copper nanoparticles using *Cassia occidentalis*,” *Int. J. Biomater.*, 2018, doi: 10.1155/2018/6735426.
- [231] M. Nasrollahzadeh, M. Sajjadi, and S. Mohammad Sajadi, “Biosynthesis of copper nanoparticles supported on manganese dioxide nanoparticles using *Centella asiatica* L. leaf extract for the efficient catalytic reduction of organic dyes and nitroarenes,” *Chinese J. Catal.*, vol. 39, pp. 109–117, 2018, doi: 10.1016/S1872-2067(17)62915-2.

- [232] S. Rajeshkumar *et al.*, “Antibacterial and antioxidant potential of biosynthesized copper nanoparticles mediated through *Cissus arnotiana* plant extract,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 197, 2019, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111531.
- [233] A. E. D. Mahmoud, K. M. Al-Qahtani, S. O. Alflaij, S. F. Al-Qahtani, and F. A. Alsamhan, “Green copper oxide nanoparticles for lead, nickel, and cadmium removal from contaminated water,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 12547, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-91093-7.
- [234] P. Kuppusamy *et al.*, “Treating of palm oil mill effluent using *Commelina nudiflora* mediated copper nanoparticles as a novel bio-control agent,” *J. Clean. Prod.*, vol. 141, 2017, doi: 10.1016/j.jclepro.2016.09.176.
- [235] A. D. Brumbaugh, K. A. Cohen, and S. K. St. Angelo, “Ultrasmall copper nanoparticles synthesized with a plant tea reducing agent,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 8, pp. 1933–1939, 2014, doi: 10.1021/sc500393t.
- [236] S. C. G. Kiruba Daniel, G. Vinothini, N. Subramanian, K. Nehru, and M. Sivakumar, “Biosynthesis of Cu, ZVI, and Ag nanoparticles using *Dodonaea viscosa* extract for antibacterial activity against human pathogens,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 15, no. 1319, 2013, doi: 10.1007/s11051-012-1319-1.
- [237] P. Narasaiah, B. K. Mandal, and N. C. Sarada, “Biosynthesis of copper oxide nanoparticles from *Drypetes sepiaria* Leaf extract and their catalytic activity to dye degradation,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 263, 2017, doi: 10.1088/1757-899X/263/2/022012.
- [238] I. Chung *et al.*, “Green synthesis of copper nanoparticles using eclipta prostrata leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities,” *Exp. Ther. Med.*, vol. 14, pp. 18–24, 2017, doi: 10.3892/etm.2017.4466.
- [239] P. Padma, S. Banu, and S. Kumari, “Studies on green synthesis of copper nanoparticles using *Punica granatum*,” *Annu. Res. Rev. Biol.*, vol. 23, no. 1, pp. 1–10, 2018, doi: 10.9734/arrb/2018/38894.
- [240] M. Nasrollahzadeh, S. M. Sajadi, and M. Khalaj, “Green synthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of the leaves of *Euphorbia esula* L and their catalytic activity for ligand-free Ullmann-coupling reaction and reduction of 4-nitrophenol,” *RSC Adv.*, vol. 4, pp. 47313–47318, 2014, doi: 10.1039/c4ra08863h.
- [241] M. M. Zangeneh *et al.*, “Novel synthesis of *Falcaria vulgaris* leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under in vitro and in vivo condition,” *J. Photochem.*

Photobiol. B Biol., vol. 197, 2019, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111556.

- [242] Y. T. Prabhu, K. Venkateswara Rao, V. Sesha Sai, and T. Pavani, "A facile biosynthesis of copper nanoparticles: A micro-structural and antibacterial activity investigation," *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 21, pp. 180–185, 2017, doi: 10.1016/j.jscs.2015.04.002.
- [243] P. Heera, S. Shanmugam, and J. Ramachandran, "Green synthesis of copper nanoparticle using *Gymnema sylvestre* by different solvent extract," *Int. J. Curr. Res. Acad. Rev.*, vol. 3, no. 10, pp. 268–275, 2015.
- [244] K. Roy, C. K. Sarkar, and C. K. Ghosh, "Antibacterial mechanism of biogenic copper nanoparticles synthesized using *Heliconia psittacorum* leaf extract," *Nanotechnol. Rev.*, vol. 5, no. 6, pp. 529–536, 2016, doi: 10.1515/ntrev-2016-0040.
- [245] A. M. Awwad, B. A. Albiss, and N. M. Salem, "Antibacterial activity of synthesized copper oxide nanoparticles using *Malva sylvestris* leaf extract," *SMU Med. J.*, vol. 2, no. 1, pp. 91–101, 2015.
- [246] S. A. David, S. I. Rajadurai, and S. V. Kumar, "Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Momordica charantia* leaf extract and their characterization," vol. 6, no. 3, pp. 313–320, 2017.
- [247] N. Raja Nordin and M. Shamsuddin, "Biosynthesis of copper(II) oxide nanoparticles using *Murayya koeniggi* aqueous leaf extract and its catalytic activity in 4-nitrophenol reduction," *Malaysian J. Fundam. Appl. Sci.*, vol. 15, no. 2, pp. 218–224, 2019, doi: 10.11113/mjfas.v15n2.1390.
- [248] M. Altikatoglu, A. Attar, F. Erci, C. M. Cristache, and I. Isildak, "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Ocimum basilicum* extract and their antibacterial activity," *Fresenius Environ. Bull.*, vol. 25, no. 12, pp. 7832–7837, 2017.
- [249] B. H. Patel, M. Z. Channiwalla, S. B. Chaudhari, and A. A. Mandot, "Biosynthesis of copper nanoparticles; Its characterization and efficacy against human pathogenic bacterium," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 4, no. 2, pp. 2163–2169, 2016, doi: 10.1016/j.jece.2016.03.046.
- [250] S. Usha, K. T. Ramappa, S. Hiregoudar, G. D. Vasanthkumar, and D. S. Aswathanarayana, "Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles from tulasi (*Ocimum sanctum* L.) leaves," *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 6, no. 11, pp. 2219–2228, 2017, doi: 10.20546/ijcmas.2017.611.263.
- [251] S. S. Shende, N. D. Gaikwad, and S. D. Bansod, "Synthesis and evaluation of antimicrobial potential of copper nanoparticle against agriculturally important phytopathogens," *Int. J. Biol. Res.*, vol. 1, no. 4, pp. 41–47, 2016, [Online]. Available:

- [252] V. Gnanavel, V. Palanichamy, and S. M. Roopan, "Biosynthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its anticancer activity on human colon cancer cell lines (HCT-116)," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 171, pp. 133–138, 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.05.001.
- [253] V. N. Kalpana, P. Chakraborty, V. Palanichamy, and V. Devi Rajeswari, "Synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Tridax procumbens* and its application in degradation of bismarck brown," *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 9, no. 9, pp. 498–507, 2016.
- [254] S. L. Cardoso, C. S. D. Costa, E. Nishikawa, M. G. C. Silva, and M. G. A. Vieira, "Biosorption of toxic metals using the alginate extraction residue from the brown algae *Sargassum filipendula* as a natural ion-exchanger," *J. Clean. Prod.*, vol. 165, pp. 491–499, 2017.
- [255] R. Li, T. Zhang, H. Zhong, W. Song, Y. Zhou, and X. Yin, "Bioadsorbents from algae residues for heavy metal ions adsorption: chemical modification, adsorption behaviour and mechanism," *Environ. Technol.*, 2020, doi: 10.1080/09593330.2020.1723711.
- [256] V. J. P. Vilar, C. M. S. Botelho, and R. A. R. Boaventura, "Kinetics and equilibrium modelling of lead uptake by algae *Gelidium* and algal waste from agar extraction industry," *J. Hazard. Mater.*, vol. 143, pp. 396–408, 2007.
- [257] J. B. Dulla, M. R. Tamana, S. Boddu, K. Pulipati, and K. Srirama, "Biosorption of copper(II) onto spent biomass of *Gelidiella acerosa* (brown marine algae): optimization and kinetic studies," *Appl. Water Sci.*, vol. 10, no. 56, 2020.
- [258] V. J. P. Vilar, C. M. S. Botelho, and R. A. R. Boaventura, "Equilibrium and kinetic modelling of Cd(II) biosorption by algae *Gelidium* and agar extraction algal waste," *Water Res.*, vol. 40, pp. 291–302, 2006.
- [259] G. R. Freitas, M. G. A. Vieira, and M. G. C. Silva, "Batch and fixed bed biosorption of copper by acidified algae waste biomass," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 57, pp. 11767–11777, 2018.
- [260] S. M. H. Nasab, A. Naji, and M. Yousefzadi, "Kinetic and equilibrium studies on biosorption of cadmium(II) from aqueous solution by *Gracilaria corticata* and agar extraction algal waste," *J. Appl. Phycol.*, vol. 29, pp. 2107–2116, 2017.
- [261] J. Yang *et al.*, "Nanomaterials for the removal of heavy metals from wastewater," *Nanomaterials*, vol. 9, no. 424, 2019, doi: 10.3390/nano9030424.
- [262] Y. Ho, "Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions,"

Scientometrics, vol. 59, pp. 171–177, 2004.

- [263] A. O. Dada, A. P. Olalekan, A. M. Olatunya, and O. J. Dada, “Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin–Radushkevich isotherms studies of equilibrium sorption of Zn^{2+} unto phosphoric acid modified rice husk,” *IOSR J. Appl. Chem.*, vol. 3, pp. 38–45, 2012.
- [264] K. Chojnacka, “Zastosowanie metody biosorpcji w wytwarzaniu żywności biofortyfikowanej w mikroelementy,” *Przem. Chem.*, vol. 90, pp. 707–710, 2011.
- [265] A. Abdolali *et al.*, “A breakthrough biosorbent in removing heavy metals: equilibrium, kinetic, thermodynamic and mechanism analyses in a lab-scale study,” *Sci. Total Environ.*, vol. 542, pp. 603–611, 2016.
- [266] A. R. A. Syukor, S. Sulaiman, M. N. I. Siddique, A. W. Zularisam, and M. I. M. Said, “Integration of phytogreen for heavy metal removal from wastewater,” *J. Clean. Prod.*, vol. 112, pp. 3124–3131, 2016.
- [267] M. Bilal, T. Rasheed, J. E. Sosa-Hernández, A. Raza, F. Nabeel, and H. M. N. Iqbal, “Biosorption: an interplay between marine algae and potentially toxic elements—a review,” *Mar. Drugs*, vol. 16, no. 65, 2018.
- [268] J. Wase and C. Forster, *Biosorbents for Metal Ions*. Taylor & Franis, 1997.
- [269] E. Romera, F. González, A. Ballester, M. L. Blázquez, and J. A. Muñoz, “Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae,” *Bioresour. Technol.*, vol. 98, pp. 3344–3353, 2007.
- [270] K. Chojnacka, “Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications,” *Environ. Int.*, vol. 36, pp. 299–307, 2010.
- [271] L. P. Mazur, M. A. P. Cechinel, G. U., S. M. A. de Souza, R. A. R. Boaventura, and V. J. P. Vilar, “Brown marine macroalgae as natural cation exchangers for toxic metal removal from industrial wastewaters: A review,” *J. Environ. Manag.*, vol. 223, pp. 215–253, 2018.
- [272] R. Apiratikul and P. Pavasant, “Batch and column studies of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera*,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, pp. 2766–2777, 2008.
- [273] Z. Aksu, “Equilibrium and kinetic modelling of cadmium(II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature,” *Sep. Purif. Technol.*, vol. 21, pp. 285–294, 2001.
- [274] I. S. Bădescu, D. Bulgariu, I. Ahmad, and L. Bulgariu, “Valorisation possibilities of exhausted biosorbents loaded with metal ions – A review,” *J. Environ. Manag.*, vol. 224, pp. 288–297, 2018.
- [275] K. Inoue *et al.*, “Biosorbents for removing hazardous metals and metalloids,” *Materials*

- (*Basel*)., vol. 10, no. 8, p. 857, 2017.
- [276] I. Michalak *et al.*, “Effect of macroalgae enriched with microelements on egg quality parameters and mineral content of eggs, eggshell, blood, feathers and droppings,” *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, vol. 95, pp. 374–387, 2011.
 - [277] L. Bulgariu, “Efficient use of algae biomass loaded with essential metal ions in the manufacture of feed additives,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 32, pp. 1779–1788, 2020.
 - [278] A. Vashisth and S. Nagarajan, “Exposure of seeds to static magnetic field enhances germination and early growth characteristics in chickpea (*Cicer arietinum* L.),” *Bioelectromagnetics*, vol. 29, no. 7, pp. 571–578, Oct. 2008, doi: 10.1002/bem.20426.
 - [279] S. Thomas, A. Anand, V. Chinnusamy, A. Dahuja, and S. Basu, “Magnetopriming circumvents the effect of salinity stress on germination in chickpea seeds,” *Acta Physiol. Plant.*, vol. 35, pp. 3401–3411, 2013, doi: 10.1007/s11738-013-1375-x.
 - [280] T. S. Mahajan and O. P. Pandey, “Reformulation of Malthus-Verhulst equation for black gram seeds pretreated with magnetic field,” *Int. Agrophysics*, vol. 25, pp. 355–359, 2011.
 - [281] A. Vashisth and D. K. Joshi, “Growth characteristics of maize seeds exposed to magnetic field,” *Bioelectromagnetics*, vol. 38, pp. 151–157, 2017, doi: 10.1002/bem.22023.
 - [282] P. W. Sawostin, “Magnetic growth reaction in plants,” *Planta*, vol. 12, pp. 327–333, 1930.
 - [283] P. S. Phirke, M. N. Patil, S. P. Umbarkar, and Y. H. Dudhe, “The application of magnetic treatment to seeds: Methods and responses,” *Seed Sci. Technol.*, vol. 24, no. 2, pp. 365–373, 1996.
 - [284] Ç. Atak, Ö. Emiroğlu, S. Alikamenglu, and A. Razkoulieva, “Stimulation of regeneration by magnetic field in soybean (*Glycine max* L. Merrill) tissue cultures,” *J. Cell Mol. Biol.*, vol. 2, pp. 113–119, Jan. 2003.
 - [285] M. B. Shine, K. N. Guruprasad, and A. Anand, “Enhancement of germination, growth, and photosynthesis in soybean by pre-treatment of seeds with magnetic field,” *Bioelectromagnetics*, vol. 32, no. 6, pp. 474–484, 2011, doi: 10.1002/bem.20656.
 - [286] T. S. Mahajan and O. P. Pandey, “Magnetic-time model at off-season germination,” *Int. Agrophysics*, vol. 28, pp. 57–62, 2014, doi: 10.2478/intag-2013-0027.
 - [287] Y.-P. Chen, R. Li, and J.-M. He, “Magnetic field can alleviate toxicological effect induced by cadmium in mungbean seedlings,” *Ecotoxicology*, vol. 20, pp. 760–769, 2011, doi: 10.1007/s10646-011-0620-6.

- [288] C. Atak, O. Çelik, A. Olgun, S. Alikamanoğlu, and A. Rzakoulieva, “Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture,” *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, vol. 21, no. 2, pp. 166–171, 2007, doi: 10.1080/13102818.2007.10817438.
- [289] T. Cakmak, R. Dumlupinar, and S. Erdal, “Acceleration of germination and early growth of wheat and bean seedlings grown under various magnetic field and osmotic conditions,” *Bioelectromagnetics*, vol. 37, pp. 455–470, 2016, doi: 10.1002/bem.20537.
- [290] U. J. Pitman, J. M. Carefood, and D. P. Ormrod, “Effect of magnetic seed treatment on amylolytic activity of quiescent and germinating barley and wheat,” *Can. J. Plant Sci.*, vol. 59, pp. 1007–1011, 1979, doi: 10.4141/cjps79-158.
- [291] N. M. Hirota, J. Nakagawa, and K. Kitazawa, “Effect of magnetic field on the germination of plant,” *J. Appl. Phys.*, vol. 85, no. 8, pp. 5717–5719, 1999.
- [292] L. Baghel, S. Kataria, and M. Jain, “Mitigation of adverse effects of salt stress on germination, growth, photosynthetic efficiency and yield in maize (*Zea mays* L.) through magnetopriming,” *Acta Agrobot.*, vol. 72, pp. 1–16, 2019, doi: 10.5586/aa.1757.
- [293] M. Hozayn, A. El-Mahdy, and M. Zalama, “Magneto-priming for improving germination, seedling attributes and field performance of barley (*Hordeum vulgare* L.) under salinity stress,” *Middle East J. Agric. Res.*, vol. 7, pp. 1006–1022, 2018.
- [294] S. Kataria, L. Baghel, and K. N. Guruprasad, “Alleviation of adverse effects of ambient UV stress on growth and some potential physiological attributes in soybean (*Glycine max*) by seed pre-treatment with static magnetic field,” *J. Plant Growth Regul.*, vol. 36, no. 3, pp. 550–565, Sep. 2017, doi: 10.1007/s00344-016-9657-3.
- [295] L. Chao and D. R. Walker, “Effect of magnetic field on germination on apple, apricot and peach seed,” *Hortic. Sci.*, vol. 2, pp. 152–153, 1967.
- [296] U. J. Pitman and D. P. Ormrod, “Biomagnetic responses in germinating barley,” *Can. J. Plant Sci.*, vol. 51, pp. 64–65, 1971, doi: 10.4141/cjps71-012.
- [297] E. Martinez, M. V. Carbonell, and J. M. Amaya, “A static magnetic field of 125 mT stimulates the initial growth stages of barley (*Hordeum vulgare* L.),” *Electro- and Magnetobiology*, vol. 19, no. 3, pp. 271–277, 2000, doi: 10.1081/JBC-100102118.
- [298] R. D. Menegatti, L. O. de Oliveira, Á. V. L. da Costa, E. J. B. Braga, and V. J. Bianchi, “Magnetic field and gibberelic acid as pre-germination treatments of passion fruit seeds,” *iência Agrícola Rio Largo*, vol. 17, pp. 15–22, 2019, doi: 10.28998/rca.v17i1.6522.
- [299] M. Florez, E. Martínez, and M. V. Carbonell, “Effect of magnetic field treatment on germination of medicinal plants *Salvia officinalis* L. and *Calendula officinalis* L.,”

Polish J. Environ. Stud., vol. 21, no. 1, pp. 57–63, 2012.

- [300] J. Bhardwaj, A. Anand, and S. Nagarajan, “Biochemical and biophysical changes associated with magnetopriming in germinating cucumber seeds,” *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 57, pp. 67–73, 2012, doi: 10.1016/j.plaphy.2012.05.008.
- [301] M. Ahamed, A. Elzaawely, and Y. Bayoumi, “Effect of magnetic field on seed germination, growth and yield of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.),” *Asian J. Crop Sci.*, vol. 5, pp. 286–294, 2013, doi: 10.3923/ajcs.2013.286.294.
- [302] E. Martínez, M. V. Carbonell, M. Flórez, J. M. Amaya, and R. Maqueda, “Germination of tomato seeds (*Lycopersicon esculentum* L.) under magnetic field,” *Int. Agrophysics*, vol. 23, pp. 45–49, 2009.
- [303] D. Poinapen, D. C. W. Brown, and G. K. Beeharry, “Seed orientation and magnetic field strength have more influence on tomato seed performance than relative humidity and duration of exposure to non-uniform static magnetic fields,” *J. Plant Physiol.*, vol. 170, no. 14, 2013, doi: 10.1016/j.jplph.2013.04.016.
- [304] A. Anand, A. Kumari, M. Thakur, and A. Koul, “Hydrogen peroxide signaling integrates with phytohormones during the germination of magnetoprimed tomato seeds,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 8814, pp. 1–11, 2019, doi: 10.1038/s41598-019-45102-5.
- [305] U. J. Pitman, “Biomagnetic responses in Kharkov 22 MC winter wheat,” *Can. J. Plant Sci.*, vol. 47, pp. 389–393, 1967.
- [306] U. J. Pitman and D. P. Ormrod, “Physiological and chemical features of magnetically treated winter wheat seed and resultant seedling,” *Can. J. Plant Sci.*, vol. 50, pp. 211–217, 1970, doi: 10.4141/cjps70-044.
- [307] S. Pietruszewski, K. Konarzyński, and R. Łacek, “Germination of wheat seeds in static magnetic field (in Polish),” *Inżynieria Rol.*, vol. 2, pp. 303–307, 2002.
- [308] M. V. Carbonell Padrino, E. Martinez, and J. Amaya, “Stimulation of germination in rice (*Oryza sativa* L.) by a static magnetic field,” *Electromagn. Biol. Med.*, vol. 19, no. 1, pp. 121–128, 2000, doi: 10.1081/JBC-100100303.
- [309] M. Konefał-Janocha *et al.*, “The effect of stationary and variable electromagnetic fields on the germination and early growth of radish,” *Polish J. Environ. Stud.*, vol. 28, pp. 709–715, 2019, doi: 10.15244/pjoes/84920.
- [310] A. Vashisth and S. Nagarajan, “Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field,” *J. Plant Physiol.*, vol. 167, no. 2, pp. 149–156, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.jplph.2009.08.011.
- [311] A. Aladjadjiyan, “Influence of stationary magnetic field on lentil seeds,” *Int.*

- Agrophysics*, vol. 24, pp. 321–324, 2010.
- [312] M. B. Shine, K. N. Guruprasad, and A. Anand, “Effect of stationary magnetic field strengths of 150 and 200mT on reactive oxygen species production in soybean,” *Bioelectromagnetics*, vol. 33, no. 5, pp. 428–437, 2012, doi: 10.1002/bem.21702.
 - [313] A. S. García, F. G. Reina, Y. P. Franco, and D. D. Páez, “Stimulation of germination and growth in soybean seeds by stationary magnetic field treatment,” *Asian J. Agric. Biol.*, vol. 1, no. 2, pp. 85–90, 2013.
 - [314] L. Baghel, S. Kataria, and K. N. Guruprasad, “Static magnetic field treatment of seeds improves carbon and nitrogen metabolism under salinity stress in soybean,” *Bioelectromagnetics*, vol. 37, no. 7, pp. 455–470, Oct. 2016, doi: 10.1002/bem.21988.
 - [315] A. Payez and F. Ghanati, “Comparison of static and electromagnetic field effects on redox system of soybean (*Glycine max* L. Merrill) seedlings,” *J. Plant Process Funct.*, vol. 6, no. 22, pp. 1–6, 2018.
 - [316] S. Shokrollahi, F. Ghanati, R. H. Sajedi, and M. Sharifi, “Possible role of iron containing proteins in physiological responses of soybean to static magnetic field,” *J. Plant Physiol.*, vol. 226, pp. 163–171, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.jplph.2018.04.018.
 - [317] S. Kataria, A. Rastogi, A. Bele, and M. Jain, “Role of nitric oxide and reactive oxygen species in static magnetic field pre-treatment induced tolerance to ambient UV-B stress in soybean,” *Physiol. Mol. Biol. Plants*, vol. 26, no. 5, pp. 931–945, May 2020, doi: 10.1007/s12298-020-00802-5.
 - [318] S. Pietruszewski, K. Konarzyński, and R. Łacek, “Germination of wheat seeds grain in an alternating magnetic field,” *Int. Agrophysics*, vol. 15, pp. 269–271, 2001.
 - [319] S. I. Aksenov, T. I. Gruzina, and S. N. Gorichev, “Characteristic of low frequency magnetic field effect on swelling of wheat seeds at various stages,” *Biofizyka*, vol. 46, pp. 1127–1132, 2001.
 - [320] K. Bujak and M. Frant, “Influence of pre-sowing seed stimulation with magnetic field on spring wheat yielding,” *Acta Agrophysica*, vol. 14, no. 1, pp. 19–29, 2009.
 - [321] S. Muszyński, M. Gagoś, and S. Pietruszewski, “Shortterm pre-germination exposure to ELF magnetic field does not influence seedling growth in durum wheat (*Triticum durum*),” *Polish J. Environ. Stud.*, vol. 18, no. 6, pp. 1065–1072, 2009.
 - [322] S. Pietruszewski, P. S. Szecówka, and K. Kania, “Effect of pre-sowing magnetic stimulation on germination of kernels of various spring wheat varieties,” *Acta Agrophysica*, vol. 20, no. 2, pp. 415–425, 2013.
 - [323] B. Mirshekari, “Physical seed treatment techniques may influence stand establishment

- and yield of wheat in delayed cropping,” *Idesia*, vol. 33, pp. 49–54, 2015, doi: 10.4067/S0718-34292015000300008.
- [324] M. M. Shashurin, A. A. Prokopiev, G. V. Shein, G. V. Filippova, and A. N. Zhuravskaya, “Physiological responses of *Plantago media* to electromagnetic field of power-line frequency (50 Hz),” *Russ. J. Plant Physiol.*, vol. 61, no. 4, pp. 484–488, 2014.
- [325] R. Zepeda-Bautista, C. Hernandez-Aguilar, A. F. Dominguez-Pachecco, A. Cruz-Orea, J. J. Godina-Nova, and E. Martinez-Ortiz, “Electromagnetic field and seed vigour of corn hybrids,” *Int. Agrophysics*, vol. 24, no. 329–332, 2010.
- [326] R. Zepeda-Bautista *et al.*, “Electromagnetic field in corn grain production and health,” *African J. Biotechnol.*, vol. 13, no. 1, pp. 76–83, 2014.
- [327] J. Podleśny, S. Pietruszewski, and A. Podleśna, “Efficiency of magnetic biostimulation of broad bean cultivated in experimental plot conditions,” *Int. Agrophysics*, vol. 18, pp. 65–71, 2004.
- [328] S. Pietruszewski and S. Wójcik, “Effect of magnetic field on field and chemical composition of sugar beet,” *Int. Agrophysics*, vol. 14, pp. 89–92, 2000.
- [329] C. Celestino, M. L. Picazo, M. Torbio, J. A. Alvarez-Ude, and J. L. Bardasano, “Influence of 50 Hz electromagnetic fields on recurrent embryogenesis and germination of cork somatic embryos,” *Plant Cell, Tissue Organ Cult.*, vol. 54, pp. 65–69, 1998.
- [330] M. Iqbal, Z. U. Haq, Y. Jamil, and M. Ahmad, “Effect of pre-sowing magnetic treatment on properties of pea,” *Int. Agrophysics*, vol. 26, no. 1, pp. 25–31, 2012, doi: 10.2478/v10247-012-0004-z.
- [331] H. R. Balonchi and S. A. M. Moderres Sanavy, “Electromagnetic field impact on annual medick and dodder seed germination,” *Int. Agrophysics*, vol. 23, pp. 111–115, 2009.
- [332] A. D. Usanov, Y. A. Belyachenko, D. G. Verkhov, V. S. Tyrnov, and D. A. Usanov, “Effect of frequency of alternating magnetic field on stimulation of plants meristem mitotic activity,” *Biochem. Biophys.*, vol. 1, no. 4, pp. 61–65, 2013.
- [333] H. O. Guttzeit, “Biological effect of ELF-EMF enhanced stress response; new insights and new questions,” *Electro- and Magnetobiology*, vol. 20, pp. 15–26, 2001.
- [334] Y. I. Novitskii, G. V. Novitskaya, and Y. A. Serdyukov, “Lipid utilization in radish seedlings as affected by weak horizontal extremely low frequency magnetic field,” *Bioelectromagnetics*, vol. 35, pp. 91–99, 2014, doi: 10.1002/bem.21818.
- [335] A. Matwijczuk, K. Konarzyński, and S. Pietruszewski, “Effect of magnetic field on germination and seedling growth of sunflower,” *Int. Agrophysics*, vol. 26, pp. 271–278,

2012, doi: 10.2478/v10247-012-0039-1.

- [336] M. Yaldagard, S. A. Mortazavi, and F. Tabatabaie, "The effectiveness of ultrasound treatment on the germination stimulation of barley seed and its alpha-amylase activity," *African J. Biotechnol.*, vol. 7, pp. 2456–2471, 2007.
- [337] S. Lewandowska *et al.*, "Impact of freshwater macroalga (*Cladophora glomerata*) extract on the yield and morphological responses of *Glycine max* (L.) Merr.," *Agriculture*, vol. 12, no. 5, p. 685, 2022, doi: 10.3390/agriculture12050685.
- [338] S. Fakhari, M. Jamzad, and H. K. Fard, "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison," *Green Chem. Lett. Rev.*, vol. 12, no. 11, pp. 19–24, 2019, doi: 10.1080/17518253.2018.1547925.
- [339] N. Zuverza-Mena, I. A. Medina-Velo, A. C. Barrios, W. Tan, J. R. Peralta-Videa, and J. L. Gardea-Torresdey, "Copper nanoparticles/compounds impact agronomic and physiological parameters in cilantro (*Coriandrum sativum*)," *Environ. Sci. Process. Impacts*, vol. 17, no. 10, pp. 1783–1793, 2015, doi: 10.1039/c5em00329f.
- [340] R. Raliya, R. Nair, S. Chavalmame, W. N. Wang, and P. Biswas, "Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant," *Metallomics*, vol. 7, no. 12, pp. 1584–1594, 2015, doi: 10.1039/c5mt00168d.
- [341] S. V. Raskar and S. L. Laware, "Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion," *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 3, no. 2, pp. 467–473, 2014, [Online]. Available: [http://www.ijcmas.com/vol-3-2/S.V.Raskar and S.L.Laware.pdf](http://www.ijcmas.com/vol-3-2/S.V.Raskar%20and%20S.L.Laware.pdf)
- [342] W. Liu *et al.*, "Interactions of metal-based and metal-oxide-based nanoparticles (MBNPs and MONPs) with crop plants: a critical review of research progress and prospects.," *Environ. Rev.*, 2020, doi: 10.1139/er-2019-0085.
- [343] E. R. López-Vargas *et al.*, "Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes," *Appl. Sci.*, vol. 8, no. 1020, 2018, doi: 10.3390/app8071020.
- [344] A. H. Wani and M. A. Shah, "A unique and profound effect of MgO and ZnO nanoparticles on some plant pathogenic fungi," *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 2, no. 3, pp. 40–44, 2012, doi: 10.7324/JAPS.2012.2307.
- [345] A. M. Pillai *et al.*, "Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with antibacterial and antifungal activity," *J. Mol. Struct.*, vol. 1211, p. 128107, 2020, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.128107.

- [346] S. Djearmane *et al.*, “Antifungal properties of zinc oxide nanoparticles on *Candida albicans*,” *Coatings*, vol. 12, no. 12, p. 1864, 2022, doi: 10.3390/coatings12121864.
- [347] M. M. Mohamed, S. A. Fouad, H. A. Elshoky, G. M. Mohammed, and T. A. Salaheldin, “Antibacterial effect of gold nanoparticles against *Corynebacterium pseudotuberculosis*,” *Int. J. Vet. Sci. Med.*, vol. 5, pp. 23–29, 2017, doi: 10.1016/j.ijvsm.2017.02.003.
- [348] S. J. Bradfield, P. Kumar, J. C. White, and S. D. Ebbs, “Zinc, copper, or cerium accumulation from metal oxide nanoparticles or ions in sweet potato: Yield effects and projected dietary intake from consumption,” *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 110, pp. 128–137, 2017, doi: 10.1016/j.plaphy.2016.04.008.
- [349] G. Medina-Pérez, F. Fernández-Luqueño, L. I. Trejo-Téllez, F. López-Valdez, and L. Pampillón-González, “Growth and development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) var. pinto saltillo exposed to iron, titanium, and zinc oxide nanoparticles in an agricultural soil,” *Appl. Ecol. Environ. Res.*, vol. 16, no. 2, pp. 1883–1897, 2018, doi: 10.15666/aeer/1602_18831897.
- [350] L. Rossi, L. N. Fedenia, H. Sharifan, X. Ma, and L. Lombardini, “Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants,” *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 135, pp. 160–166, 2019, doi: 10.1016/j.plaphy.2018.12.005.
- [351] M. Taheri, H. A. Qarache, A. A. Qarache, and M. Yoosefi, “The effects of zinc-oxide nanoparticles on growth parameters of corn (SC704),” *STEM Fellowsh. J.*, vol. 1, no. 2, pp. 17–20, 2015, doi: 10.17975/sfj-2015-011.
- [352] L. Zhao *et al.*, “Influence of CeO₂ and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: A Life Cycle Study,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, no. 49, pp. 11945–11951, 2013, doi: 10.1021/jf404328e.
- [353] S. M. Afrayeem and A. K. Chaurasia, “Effect of zinc oxide nanoparticles on seed germination and seed vigour in chilli (*Capsicum annuum* L.),” *J. Pharmacogn. Phytochem.*, vol. 6, no. 5, pp. 1564–1566, 2017.
- [354] M. Rizwan *et al.*, “Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat,” *Chemosphere*, vol. 214, pp. 269–277, 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.120.
- [355] D. Singh and A. Kumar, “Assessment of toxic interaction of nano zinc oxide and nano copper oxide on germination of *Raphanus sativus* seeds,” *Environ. Monit. Assess.*, vol. 191, no. 703, 2019, doi: 10.1007/s10661-019-7902-5.

- [356] R. Liu, H. Zhang, and R. Lal, "Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: nanotoxicants or nanonutrients?," *Water. Air. Soil Pollut.*, vol. 227, no. 42, 2016, doi: 10.1007/s11270-015-2738-2.
- [357] S. Torabian, M. Zahedi, and A. Khoshgoftarmanesh, "Effect of foliar spray of zinc oxide on some antioxidant enzymes activity of sunflower under salt stress," *J. Agric. Sci. Technol.*, vol. 18, pp. 1013–1025, 2016.
- [358] R. Nayan, M. Rawat, B. Negi, A. Pande, and S. Arora, "Zinc sulfide nanoparticle mediated alterations in growth and anti-oxidant status of *Brassica juncea*," *Biologia (Bratisl.)*, vol. 71, no. 8, pp. 896–902, 2016, doi: 10.1515/biolog-2016-0107.
- [359] A. Shebl, A. A. Hassan, D. M. Salama, M. E. Abd El-Aziz, and M. S. A. Abd Elwahed, "Template-free microwave-assisted hydrothermal synthesis of manganese zinc ferrite as a nanofertilizer for squash plant (*Cucurbita pepo* L.)," *Heliyon*, vol. 6, 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03596.
- [360] J. Olchowik, R. M. Bzdyk, M. Studnicki, M. Bederska-Błaszczuk, A. Urban, and M. Aleksandrowicz-Trzcińska, "The effect of silver and copper nanoparticles on the condition of English oak (*Quercus robur* L.) seedlings in a container nursery experiment," *Forests*, vol. 8, p. 310, 2017, doi: 10.3390/f8090310.
- [361] J. Rajak *et al.*, "Interaction of copper nanoparticles and an endophytic growth promoter Piriformospora indica with *Cajanus cajan*," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 97, no. 13, pp. 4562–4570, 2007, doi: 10.1002/j.
- [362] S. Shende, D. Rathod, A. Gade, and M. Rai, "Biogenic copper nanoparticles promote the growth of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.)," *IET Nanobiotechnology*, vol. 11, no. 7, pp. 773–781, 2017, doi: 10.1049/iet-nbt.2016.0179.
- [363] F. Yasmeen, A. Razzaq, M. N. Iqbal, and H. M. Jhazab, "Effect of silver, copper and iron nanoparticles on wheat germination," *Int. J. Biosci.*, vol. 6, no. 4, pp. 112–117, 2015, doi: 10.12692/ijb/6.4.112-117.
- [364] Q. B. Ngo *et al.*, "Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51)," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 5, 2014, doi: 10.1088/2043-6262/5/1/015016.
- [365] T. Xiong *et al.*, "Copper oxide nanoparticle foliar uptake, phytotoxicity, and consequences for sustainable urban agriculture," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 51, no. 9, pp. 5242–5251, 2017, doi: 10.1021/acs.est.6b05546.

- [366] W. Zhang, S. D. Ebbs, C. Musante, J. C. White, C. Gao, and X. Ma, "Uptake and accumulation of bulk and nanosized cerium oxide particles and ionic cerium by radish (*Raphanus sativus* L.)," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 63, pp. 382–390, 2015, doi: 10.1021/jf5052442.
- [367] J. Zhang *et al.*, "Estimating nutrient uptake requirements for radish in China based on QUEFTS model," *Sci. Rep.*, vol. 9, p. 11663, 2019.
- [368] M. Grzesik and R. Janas, "Wpływ hydrokondycjonowania na aktywność metaboliczną oraz kiełkowanie nasion i wschody siewek marchwi," *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, vol. 56, no. 3, pp. 127–132, 2011.
- [369] B. Yilmaz, H. Cakmak, and S. Tayman, "Ultrasonic pretreatment of carrot slices: Effects of sonication source on drying kinetics and product quality," *An. Acad. Bras. Cienc.*, vol. 91, no. 3, p. e20180447, 2019, doi: 10.1590/0001-3765201920180447.
- [370] E. Sogut and H. Cakmak, "Utilization of carrot (*Daucus carota* L.) fiber as a filler for chitosan based films," *Food Hydrocoll.*, vol. 289, pp. 453–460, 2019, doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.105861.
- [371] K. Panasiewicz, A. Faligowska, G. Szymańska, J. Szukała, K. Ratajczak, and H. Sulewska, "The effect of various tillage systems on productivity of narrow-leaved lupin-winter wheat-winter triticale-winter barley rotation," *Agronomy*, vol. 10, no. 304, pp. 1–11, 2020, doi: 10.3390/agronomy10020304.
- [372] A. Zaworska, A. Frankiewicz, and M. Kasproicz-Potocka, "The influence of narrow-leaved lupin seed fermentation on their chemical composition and ileal digestibility and microbiota in growing pigs," *Arch. Anim. Nutr.*, vol. 71, no. 4, pp. 285–296, 2017, doi: 10.1080/1745039X.2017.1329130.
- [373] M. Bykowski, "Algi morskie jako biosorbent w oczyszczaniu ścieków," Politechnika Wrocławska, 2021.
- [374] N. Niedzbała, "Usuwanie jonów metali ciężkich z roztworu wodnego za pomocą nanocząstek wytworzonych z użyciem ekstraktów algowych," Politechnika Wrocławska, 2021.
- [375] M. Kurczyńska, "Potencjał aplikacyjny nanocząstek metali w ochronie środowiska," Politechnika Wrocławska, 2023.
- [376] N. Niedzbała *et al.*, "Brown seaweed *Sargassum*-based sorbents for the removal of Cr(III) ions from aqueous solutions," *Processes*, vol. 11(2), no. 393, 2023, doi: 10.3390/pr11020393.
- [377] H. S. Mohamed, N. K. Soliman, D. A. Abdelrheem, A. A. Ramadan, A. H. Elghandour,

- and S. A. Ahmed, “Adsorption of Cd²⁺ and Cr³⁺ ions from aqueous solutions by using residue of *Padina gymnospora* waste as promising low-cost adsorbent,” *Heliyon*, vol. 5, p. e01287, 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01287.
- [378] K. Ignatowicz, “Zastosowanie modeli matematycznych procesu sorpcji do opisu usuwania HCH na wermikompoście,” *Środkowo-Pomorskie Tow. Nauk. Ochr. Środowiska. Rocz. Ochr. Środowiska*, vol. 12, no. 30, pp. 525–542, 2010.
- [379] K. Godlewska, P. Pacyga, A. Szumny, A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, and I. Michalak, “Methods for rapid screening of biologically active compounds present in plant-based extracts,” *Molecules*, vol. 27, no. 7094, pp. 1–52, 2022, doi: 10.3390/molecules27207094.
- [380] J. M. Muniyandi and K. Lakshman, “Preliminary studies of phytochemical investigation on coastal medicinal plants of Bloor, Mangalore,” *Indo Amercian J. Pharm. Sci.*, vol. 5, pp. 1309–1315, 2018.
- [381] N. Le BaoDuy, D. T. D. Trang, and N. P. M. Trang, “Preliminary phytochemical analysis of leaf extracts of *Thuja orientalis* (L.) Endl,” *Int. J. Sci. Res. Manag.*, vol. 2, pp. 21–25, 2015.
- [382] A. G. Samarawickrama, Ajantha, C. Kumari, and Anjan, “Alcoholic Extraction and Phyto-Chemical Evaluation of Chakramarda Seeds (*Cassia tora* Linn.),” *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.*, vol. 8, pp. 157–161, 2017, doi: 10.7897/2277-4343.083190.
- [383] “International Organization for Standardization. ISO 14502-1:2005 Determination of Substances Characteristic of Green and Black Tea—Part 1: Content of Total Polyphenols in Tea—Colorimetric Method Using Folin-Ciocalteu Reagent; American National Standards I”.
- [384] W. Brand-Wiliams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1998, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- [385] M. Bykowski, “Biosynteza nanocząstek metali i ich potencjalne zastosowanie w rolnictwie,” Politechnika Wrocławska, 2022.
- [386] B. Wiewióra, D. Mańkowski, and Z. Bulińska-Radomska, “Zdrowotność ziarna zbóż pochodzącego z ekologicznej produkcji nasiennej,” *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin*, vol. 251, pp. 29–39, 2009.
- [387] T. Karthik, G. Sarkar, S. Babu, L. D. Amalraj, and M. A. Jayasri, “Preparation and evaluation of liquid fertilizer from *Turbinaria ornata* and *Ulva reticulata*,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 28, p. 101712, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.bcab.2020.101712.

- [388] D. I. Arnon, “Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris,” *Plant Physiol.*, vol. 24, no. 1, pp. 1–15, Jan. 1949, doi: 10.1104/pp.24.1.1.
- [389] H. K. Lichtenthaler and A. R. Wellburn, “Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents,” *Biochem. Soc. Trans.*, vol. 11, no. 5, pp. 591–592, 1983, doi: 10.1042/bst0110591.
- [390] C. Simon, M. McHale, and R. Sulpice, “Applications of *Ulva biomass* and strategies to improve its yield and composition: a perspective for *Ulva* aquaculture,” *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 11, p. 1593, 2022, doi: 10.3390/biology11111593.
- [391] S. Carrillo-Domínguez, R. E. Rodríguez-Martínez, M. Díaz-Martínez, E. Magaña-Gallegos, and M. Cuchillo-Hilario, “Potential application of pelagic *Sargassum* spp. in animal feeding,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 35, pp. 433–444, 2022, doi: 10.1007/s10811-022-02877-x.
- [392] M. D. Catarino, A. M. S. Silva, and S. M. Cardoso, “Phycochemical constituents and biological activities of *Fucus* spp.,” *Mar. Drugs*, vol. 16, no. 8, p. 249, 2018, doi: 10.3390/md16080249.
- [393] R. E. Cian, M. A. Fajardo, M. Alaiz, J. Vioque, R. J. González, and S. R. Drago, “Chemical composition, nutritional and antioxidant properties of the red edible seaweed *Porphyra columbina*,” *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 65, no. 3, pp. 299–305, 2014, doi: 10.3109/09637486.2013.854746.
- [394] P. Stévant, P. Søndergaard Schmedes, L. Le Gall, S. Wegeberg, J. Dumay, and C. Rebours, “Concise review of the red macroalga dulse, *Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 35, pp. 523–550, 2023, doi: 10.1007/s10811-022-02899-5.
- [395] D. A. Devault, R. Pierre, H. Marfaing, F. Dolique, and P.-J. Lopez, “*Sargassum* contamination and consequences for downstream uses: a review,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 33, pp. 567–602, 2021, doi: 10.1007/s10811-020-02250-w.
- [396] H. P. S. Abdul Khalil *et al.*, “Biodegradable polymer films from seaweed polysaccharides: A review on cellulose as a reinforcement material,” *eXPRESS Polym. Lett.*, vol. 11, no. 4, pp. 244–265, 2017, doi: 10.3144/expresspolymlett.2017.26.
- [397] K. C. Morgan, J. L. C. Wright, and F. J. Simpson, “Review of chemical constituents of the red alga *Palmaria palmata* (dulse),” *Econ. Bot.*, vol. 34, no. 1, pp. 27–50, 1980.
- [398] A.-V. Galland-Irmouli *et al.*, “Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (dulse),” *J. Nutr. Biochem.*, vol. 10, no. 6, pp. 353–359, 1999, doi: 10.1016/S0955-2863(99)00014-5.
- [399] M. Machado, S. Machado, F. B. Pimentel, V. Freitas, R. C. Alves, and M. B. P. P.

- Oliveira, “Amino acid profile and protein quality assessment of macroalgae produced in an integrated multi-trophic aquaculture system,” *Foods*, vol. 9, no. 10, p. 1382, 2020, doi: 10.3390/foods9101382.
- [400] E. Moghimipour and S. Handali, “Saponin: properties, methods of evaluation and applications,” *Annu. Res. Rev. Biol.*, vol. 5, pp. 207–220, 2015, doi: 10.9734/ARRB/2015/11674.
- [401] V. Kumar, A. Sharma, R. Kaur, A. K. Thukral, R. Bhardwaj, and P. Ahmad, “Differential distribution of amino acids in plants,” *Amino Acids*, vol. 49, pp. 821–869, 2017, doi: 10.1007/s00726-017-2401-x.
- [402] G. Jayapriya and F. Gricilda Shoba, “Screening for phytochemical activity of *Urechites lutea* plant,” *Asian J. Plant Sci. Res.*, vol. 4, pp. 20–24, 2014.
- [403] C. Vriet, E. Russinova, and C. Reuzeau, “Boosting crop yields with plant steroids,” *Plant Cell*, vol. 24, pp. 842–857, 2012, doi: 10.1105/tpc.111.094912.
- [404] A. Vollaro *et al.*, “Steroid derivatives as potential antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* planktonic cells,” *Microorganisms*, vol. 8, no. 468, pp. 1–14, 2020, doi: 10.3390/microorganisms8040468.
- [405] Y. Yu, A. V. Navarro, À. Sahuquillo, G. Zhou, and J. F. López-Sánchez, “Arsenosugar standards extracted from algae: Isolation, characterization and use for identification and quantification purposes,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1609, p. 460459, 2020, doi: 10.1016/j.chroma.2019.460459.
- [406] *Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiające przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych UE, zmieniające rozporządzenia (WE) nr 1069/2009 i (WE) nr 1107/2009 oraz uchylające rozpor.*
- [407] C. Soares *et al.*, “Mineral composition of subcritical water extracts of *Saccorhiza polyschides*, a brown seaweed used as fertilizer in the North of Portugal,” *J. Mar. Sci. Eng.*, vol. 8, no. 244, pp. 1–11, 2020, doi: 10.3390/jmse8040244.
- [408] R. Kumar, U. K. Varshney, N. Rathee, and S. Kala, “Effect of chloride and sulphate dominated salinity on early plant growth phase of two promising tree species: *Albizzia lebbek* (Linn.) Benth and *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit,” *Ann. Agri Bio Res.*, vol. 23, no. 1, pp. 94–98, 2018.
- [409] S. A. O. Santos, R. Félix, A. C. S. Pais, S. M. Rocha, and A. J. D. Silvestre, “The quest for phenolic compounds from macroalgae: a review of extraction and identification methodologies,” *Biomolecules*, vol. 9, no. 847, pp. 1–56, 2019, doi:

10.3390/biom9120847.

- [410] Y. Kumar, S. Singhal, A. Tarafdar, A. Pharande, M. Ganesan, and P. C. Badgujar, “Ultrasound assisted extraction of selected edible macroalgae: Effect on antioxidant activity and quantitative assessment of polyphenols by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS),” *Algal Res.*, vol. 52, p. 102114, 2020, doi: 10.1016/j.algal.2020.102114.
- [411] A. Castillo *et al.*, “Bioprospecting of targeted phenolic compounds of *Dictyota dichotoma*, *Gongolaria barbata*, *Ericaria amentacea*, *Sargassum hornschurchii* and *Ellisolandia elongata* from the Adriatic Sea extracted by two green methods,” *Mar. Drugs*, vol. 2, no. 97, pp. 1–14, 2023, doi: 10.3390/md21020097.
- [412] S. Yarnpaakdee, S. Benjakul, and T. Senphan, “Antioxidant activity of the extracts from freshwater macroalgae (*Cladophora glomerata*) grown in northern Thailand and its preventive effect against lipid oxidation of refrigerated eastern little tuna slice,” *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.*, vol. 19, no. 3, pp. 209–219, 2018, doi: 10.4194/1303-2712-v19_3_04.
- [413] I. B. García, A. K. Dueñas Ledezma, E. Martínez Montaña, J. A. Salaazar Leyva, E. Carrera, and O. Ruiz, “Identification and quantification of plant growth regulators and antioxidant compounds in aqueous extracts of *Padina durvillaei* and *Ulva lactuca*,” *Agronomy*, vol. 10, no. 866, pp. 1–13, 2020, doi: 10.3390/agronomy10060866.
- [414] Saraswati, P. E. Giriwono, D. Iskaandriati, C. P. Tan, and N. Andaarwulaan, “In-vitro anti-inflammatory activity, free radical (DPPH) scavenging, and ferric reducing ability (FRAP) of *Sargassum cristaefolium* lipid-soluble fraction and putative identification of bioactive compounds using UHPLC-ESI-ORBITRAP-MS/MS,” *Food Res. Int.*, vol. 137, p. 109702, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109702.
- [415] R. Agregán, P. E. S. Munekata, D. Franco, J. Carballo, F. J. Barba, and J. M. Lorenzo, “Antioxidant potential of extracts obtained from macro- (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*) and micro-algae (*Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*) assisted by ultrasound,” *Medicines*, vol. 5, no. 33, pp. 1–9, 2018, doi: 10.3390/medicines5020033.
- [416] D. Lopes *et al.*, “Valuing bioactive lipids from green, red and brown macroalgae from aquaculture, to foster functionality and biotechnological applications,” *Molecules*, vol. 25, no. 3883, pp. 1–18, 2020, doi: 10.3390/molecules25173883.
- [417] S. M. Amini, “Preparation of antimicrobial metallic nanoparticles with bioactive compounds,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 103, no. 109809, 2019, doi:

10.1016/j.msec.2019.109809.

- [418] B. R. Maricle *et al.*, “Effect of ethanol toxicity on enzyme activity in anaerobic respiration in plants,” *Trans. Kansas Acad. Sci.*, vol. 117, no. 3–4, pp. 237–244, 2014, doi: 10.1660/062.117.0309.
- [419] F. M. Mohammadi and N. Ghasemi, “Influence of temperature and concentration on biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using cherry extract,” *J. Nanostructure Chem.*, vol. 8, pp. 93–102, 2018, doi: 10.1007/s40097-018-0257-6.
- [420] T. M. Salem Attia and N. I. Elsheery, “Nanomaterials: scope, applications, and challenges in agriculture and soil reclamation,” in *Sustainable Agriculture Reviews 41. Nanotechnology for Plant Growth and Development*, S. Hayat, J. Pichtel, M. Faizan, and Q. Fariduddin, Eds., Springer Nature, 2020, pp. 1–39.
- [421] S. O. Ogunyemi *et al.*, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using different plant extracts and their antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*,” *Artificial Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, vol. 47, no. 1, pp. 341–352, 2018, doi: 0.1080/21691401.2018.1557671.
- [422] A. Anter, A. M. Ismail, and A. Samy, “Novel green synthesis of zinc oxide nanoparticles using orange waste and its thermal and antibacterial activity,” *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, vol. 31, no. 11, pp. 1–10, 2021, doi: 10.1007/s10904-021-02074-2.
- [423] N. Jayarambabu, B. S. Kumari, K. V. Rao, and Y. T. Prabhu, “Germination and growth characteristics of mungbean seeds (*Vigna radiata* L.) affected by synthesized zinc oxide nanoparticles,” *Int. J. Curr. Eng. Technol.*, vol. 4, no. 5, pp. 3411–3416, 2014.
- [424] R. Ishwarya *et al.*, “Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ulva lactuca* seaweed extract and evaluation of their photocatalytic, antibiofilm and insecticidal activity,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 178, pp. 249–258, 2018, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.006.
- [425] K. Elumalai and S. Velmurugan, “Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (L.),” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 345, pp. 329–336, 2015, doi: 10.1016/j.apsusc.2015.03.176.
- [426] G. Ren, D. Hu, E. W. C. Cheng, M. A. Vargaas-Reus, P. Reip, and R. P. Allaker, “Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 33, no. 6, pp. 587–590, 2009, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004.
- [427] R. B. Asamoah *et al.*, “Synthesis and characterization of zinc and copper oxide nanoparticles and their antibacterial activity,” *Results Mater.*, vol. 7, p. 100099, 2020,

doi: 10.1016/j.rinma.2020.100099.

- [428] S. K. Karuppannan, R. Ramalingam, S. B. M. Khalith, M. J. H. Dowlath, G. I. D. Raiyaan, and K. D. Arunachalam, "Characterization, antibacterial and photocatalytic evaluation of green synthesized copper oxide nanoparticles," *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 31, p. 101904, 2021, doi: 10.1016/j.bcab.2020.101904.
- [429] B. Malaikozhundan, V. N. Lakshmi, and R. Krishnamoorthi, "Copper oxide nanoparticles using *Mentha spicata* leaves as antibacterial, antibiofilm, free radical scavenging agent and efficient photocatalyst to degrade methylene blue dyes," *Mater. Today Commun.*, vol. 33, p. 104348, 2022, doi: 10.1016/j.mtcomm.2022.104348.
- [430] W. A. E.-A. Kasim, K. M. Saad-Allah, and M. Hamouda, "Seed priming with extracts of two seaweeds alleviates the physiological and molecular impacts of salinity stress on radish (*Raphanus sativus*)," *Int. J. Agric. Biol.*, vol. 18, no. 3, pp. 653–660, 2016, doi: 10.17957/IJAB/15.0152.
- [431] D. A. E.-A. Ahmed, S. F. Gheda, and G. A. Ismail, "Efficacy of two seaweeds dry mass in bioremediation of heavy metal polluted soil and growth of radish (*Raphanus sativus* L.) plant," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 28, pp. 12831–12846, 2021, doi: 10.1007/s11356-020-11289-8.
- [432] A. W. M. Mahmoud, S. M. Abdelaziz, M. M. El-Mogy, and E. A. Abdeldaym, "Effect of foliar ZnO and FeO nanoparticles application on growth and nutritional quality of red radish and assessment of their accumulation on human health," *Agric.*, vol. 65, no. 1, pp. 16–29, 2019, doi: 10.2478/agri-2019-0002.
- [433] T. A. S. Aveling, H. G. Snyman, and S. P. Naude, "Evaluation of seed treatments for reducing *Alternaria porri* and *Stemphylium vesicarium* on onion seed," *Plant Dis.*, vol. 77, no. 10, pp. 1009–1011, 1993, doi: 10.1094/PD-77-1009.
- [434] D. Rai, D. A. Moore, N. J. Hess, L. Rao, and S. B. Clark, "Chromium(III) hydroxide solubility in the aqueous $\text{Na}^+\text{-OH}^-\text{-H}_2\text{PO}_4^- \text{-HPO}_2^- \text{-PO}_3^- \text{-H}_2\text{O}$ system: a thermodynamic model," *J. Solution Chem.*, vol. 33, no. 10, pp. 1213–1242, 2004.
- [435] W. Sławomir and A. Latała, "Zastosowanie biomasy drożdży *Saccharomyces cerevisiae* do usuwania metali ciężkich z roztworów wodnych. Część II biosorpcja Pb(II), Ni(II) i Cr(VI) przez biomasę drożdży *S. cerevisiae*," *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, vol. 564, pp. 321–332, 2011.
- [436] P. Somu and S. Paul, "Casein based biogenic-synthesized zinc oxide nanoparticles simultaneously decontaminate heavy metals, dyes, and pathogenic microbes: a rational strategy for wastewater treatment," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 93, pp. 2962–

2976, 2018, doi: 10.1002/jctb.5655.

- [437] W. M. Ibrahim, “Biosorption of heavy metal ions from aqueous solution by red macroalgae,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 192, pp. 1827–1835, 2011.
- [438] J. R. Guarín-Romero, P. Rodríguez-Estupiñán, L. Giraldo, and J. C. Moreno-Piraján, “Simple and competitive adsorption study of nickel(II) and chromium(III) on the surface of the brown algae *Durvillaea antarctica* biomass,” *ACTS Omega*, vol. 4, pp. 18147–18158, 2019.
- [439] M. Abtahi, A. Mesdaghinia, R. Saeedi, and S. Nazmara, “Biosorption of As(III) and As(V) from aqueous solutions by brown macroalga *Colpomenia sinuosa* biomass: kinetic and equilibrium studies,” *Desalin. Water. Treat.*, vol. 51, pp. 3224–3232, 2013.
- [440] A. Sari, Ö. D. Uluzölü, and M. Tüzen, “Equilibrium, thermodynamic and kinetic investigations on biosorption of arsenic from aqueous solution by algae (*Maugeotia genuflexa*) biomass,” *Chem. Eng. J.*, vol. 167, pp. 155–161, 2011.
- [441] M. Tuzen, A. Sari, D. Mendil, O. D. Uluzolu, M. Soylak, and M. Dogan, “Characterization of biosorption process of As(III) on green algae *Ulothrix cylindricum*,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 165, pp. 566–572, 2009.
- [442] H. K. Hansen, A. Rojo, C. Oyarzun, L. M. Ottosen, A. Ribeiro, and E. Mateus, “Biosorption of arsenic by *Lessonia nigrescens* in wastewater from copper smelting,” *Miner. Eng.*, vol. 19, no. 5, pp. 486–490, 2006.
- [443] P. Lodeiro, B. Cordero Pérez, J. L. Barriada, R. Herrero, and M. Sastre de Vicente, “Biosorption of cadmium by biomass of brown marine macroalgae,” *Bioresour. Technol.*, vol. 96, pp. 1796–1803, 2005.
- [444] M. Khajavian, D. A. Wood, A. Hallajani, and N. Majidian, “Simultaneous biosorption of nickel and cadmium by the brown algae *Cystoseria indica* characterized by isotherm and kinetic models,” *Appl. Biol. Chem.*, vol. 62, no. 69, 2019.
- [445] Y. Hannachi, A. Rezgui, A. B. Dekhil, and T. Boubaker, “Removal of cadmium(II) from aqueous solutions by biosorption onto the brown macroalga (*Dictyota dichotoma*),” *Desalin. Water Treat.*, vol. 54, no. 6, pp. 1663–1673, 2014.
- [446] C. Gutiérrez, H. K. Hansen, P. Hernández, and C. Pinilla, “Biosorption of cadmium with brown macroalgae,” *Chemosphere*, vol. 138, pp. 164–169, 2015.
- [447] S. Ahmady-Asbchin, Y. Andres, C. Gerente, and L. C. P., “Natural seaweed waste as sorbent for heavy metal removal from solution,” *Environ. Technol.*, vol. 30, no. 5, pp. 755–762, 2009.
- [448] B. Jha, S. Basha, S. Jaiswar, B. Mishra, and M. C. Thakur, “Biosorption of Cd(II) and

- Pb(II) onto brown seaweed, *Lobophora variegata* (Lamouroux): kinetic and equilibrium studiesNo Title,” *Biodegradation*, vol. 20, pp. 1–13, 2009.
- [449] J. Plaza Cazón, C. Bernardelli, M. Viera, E. Donati, and E. Guibal, “Zinc and cadmium biosorption by untreated and calcium-treated *Macrocystis pyrifera* in a batch system,” *Bioresour. Technol.*, vol. 116, pp. 195–203, 2012.
- [450] B. Sarada, M. Krishna Prasad, K. Kishore Kumar, and C. V. Ramachandra Murthy, “Cadmium removal by macro algae *Caulerpa fastigiata*: Characterization, kinetic, isotherm and thermodynamic studies,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 2, pp. 1533–1542, 2014.
- [451] A. Sari and M. Tuzen, “Biosorption of cadmium(II) from aqueous solution by red algae (*Ceramium virgatum*): Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 157, pp. 448–454, 2008.
- [452] A. Rathinam, B. Maharshi, S. K. Janardhanan, R. R. Jonnalagadda, and B. U. Nair, “Biosorption of cadmium metal ion from simulated wastewaters using *Hypnea valentiae* biomass: A kinetic and thermodynamic study,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 5, pp. 1466–1470, 2010.
- [453] A. R. Keshtkar, M. A. Moosavian, H. Sohbatzadeh, and M. Mofras, “La(III) and Ce(III) biosorption on sulfur functionalized marine brown algae *Cystoseira indica* by xanthation method: Response surface methodology, isotherm and kinetic study,” *Groundw. Sustain. Dev.*, vol. 8, pp. 144–155, 2019.
- [454] M. Khajavian, A. Hallajisani, and P. Ghelichi, “Optimizing binary biosorption of cobalt and nickel ions on brown algae using a central composite design,” *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, vol. 17, pp. 4759–4774, 2020.
- [455] L. Vafajoo, R. Cheraghi, R. Dabbagh, and G. McKay, “Removal of cobalt (II) ions from aqueous solutions utilizing the pre-treated 2-*Hypnea Valentiae* algae: Equilibrium, thermodynamic, and dynamic studies,” *Chem. Eng. J.*, vol. 331, pp. 39–47, 2018.
- [456] I. Michalak, A. Zielińska, K. Chojnacka, and J. Matuła, “Biosorption of Cr(III) by Microalgae and Macroalgae: Equilibrium of the Process,” *Am. J. Agric. Biol. Sci.*, vol. 2, no. 4, pp. 284–290, 2007.
- [457] N. R. Bishnoi, R. Kumar, S. Kumar, and S. Rani, “Biosorption of Cr(III) from aqueous solution using algal biomass *Spirogyra* spp.,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 145, pp. 142–147, 2007.
- [458] S. Rangabhashiyam, E. Suganya, A. V. Lity, and N. Selvaraju, “Equilibrium and kinetics studies of hexavalent chromium biosorption on a novel green macroalgae *Enteromorpha*

- sp.,” *Res. Chem. Intermed.*, vol. 42, pp. 1275–1294, 2016.
- [459] A. Sari and M. Tuzen, “Biosorption of total chromium from aqueous solution by red algae (*Ceramium virgatum*): Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 160, pp. 349–355, 2008.
- [460] S. Ahmady-Asbchin, Y. Andrès, C. Gérente, and P. Le Cloirec, “Biosorption of Cu(II) from aqueous solution by *Fucus serratus*: Surface characterization and sorption mechanisms,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, pp. 6150–6155, 2008.
- [461] L. C. Ajjabi and L. Chouba, “Biosorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ from aqueous solutions by dried marine green macroalga *Chaetomorpha linum*,” *J. Environ. Manag.*, vol. 90, pp. 3485–3489, 2009.
- [462] Y. Lee and S. Chang, “The biosorption of heavy metals from aqueous solution by *Spirogyra* and *Cladophora filamentous* macroalgae,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, pp. 5297–5304, 2011.
- [463] L. Deng, Y. Su, H. Su, X. Wang, and X. Zhu, “Biosorption of copper (II) and lead (II) from aqueous solutions by nonliving green algae *Cladophora fascicularis*: Equilibrium, kinetics and environmental effects,” *Adsorption*, vol. 12, pp. 267–277, 2006.
- [464] M. A. Fawzy, “Biosorption of copper ions from aqueous solution by *Codium vermilara*: Optimization, kinetic, isotherm and thermodynamic studies,” *Adv. Powder Technol.*, vol. 31, pp. 3724–3735, 2020.
- [465] M. R. Pouya and S. Behnam, “Adsorption behavior of copper ions on alga *Jania adhaerens* through SEM and FTIR analyses,” *Sep. Sci. Technol.*, vol. 52, no. 13, pp. 2062–2068, 2017.
- [466] P. Lodeiro, J. L. Barriada, R. Herrero, and M. E. Sastre de Vicente, “The marine macroalga *Cystoseira baccata* as biosorbent for cadmium(II) and lead(II) removal: Kinetic and equilibrium studies,” *Environ. Pollut.*, vol. 142, pp. 264–273, 2006.
- [467] L. Deng, Y. Su, H. Su, X. Wang, and X. Zhu, “Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 143, pp. 220–225, 2007.
- [468] M. Tuzen and A. Sari, “Biosorption of selenium from aqueous solution by green algae (*Cladophora hutchinsiae*) biomass: Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies,” *Chem. Eng. J.*, vol. 158, pp. 200–206, 2010.
- [469] E. Bağda, M. Tuzen, and A. Sari, “Equilibrium, thermodynamic and kinetic investigations for biosorption of uranium with green algae (*Cladophora hutchinsiae*).,” *Environ. Radioact.*, vol. 175–176, pp. 7–14, 2017.

Dorobek naukowy

Publikacje

1. **Katarzyna Dziergowska**, Magdalena B. Łabowska, Marlena E. Gąsior-Głogowska, Barbara Kmiecik, Jerzy Detyna, "Modern noninvasive methods for monitoring glucose levels in patients: a review". *Bio-Algorithms and Med-Systems*. 2019, vol. 15, nr 4, s. 1-22. DOI: 10.1515/bams-2019-0052
2. **Katarzyna Dziergowska**, Konrad Kudłacik, Jakub J. Słowiński, "Analiza numeryczna stabilności zespolenia złamania kłykcia kości piszczelowej". *Inżynier i Fizyk Medyczny*. 2019, vol. 8, nr 6, s. 463-466.
3. **Katarzyna Dziergowska**, Sylwia Lewandowska, Rafał P. Mech, Michał Pol, Jerzy Detyna, Izabela M. Michalak, "Soybean germination response to algae extract and a static magnetic field treatment". *Applied Sciences*. 2021, vol. 11, nr 18, art. 8597, s. 1-18. DOI: 10.3390/app11188597
4. **Katarzyna Dziergowska**, Maja Wełna, Anna Szymczycha-Madeja, Jacek Chęćmanowski, Izabela M. Michalak, "Valorization of *Cladophora glomerata* biomass and obtained bioproducts into biostimulants of plant growth and as sorbents (biosorbents) of metal ions". *Molecules*. 2021, vol. 26, nr 22, art. 6917, s. 1-24. DOI: 10.3390/molecules26226917
5. Izabela M. Michalak, **Katarzyna Dziergowska**, Mahmoud Alagawany, Mayada R. Farag, Nahed A. El-Shall, Hardeep Singh. Tuli, Talha Bin. Emran, Kuldeep Dhama, "The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry". *Veterinary Quarterly*. 2022, vol. 42, nr 1, s. 68-94. DOI: 10.1080/01652176.2022.2073399
6. Kricelle Mosquera. Deamici, **Katarzyna Dziergowska**, Pedro Garcia Pereira. Silva, Izabela M. Michalak, Lucielen Oliveira. Santos, Jerzy Detyna, Sunita Kataria, Marian Brestic, Mohammad Sarraf, Monirul Islam, "Microalgae cultivated under magnetic field action: insights of an environmentally sustainable approach". *Sustainability*. 2022, vol. 14, nr 20, art. 13291, s. 1-19. DOI: 10.3390/su142013291
7. Natalia Niedzbała, **Katarzyna Dziergowska**, Maja Wełna, Anna Szymczycha-Madeja, Jacek Chęćmanowski, Nathalie Bourgougnon, Izabela M. Michalak, "Brown seaweed

Sargassum-based sorbents for the removal of Cr(III) ions from aqueous solutions". Processes. 2023, vol. 11, nr 2, art. 393, s. 1-20. DOI: 10.3390/pr11020393

Rozdziały w monografiach

1. **Katarzyna Dziergowska**, Izabela M. Michalak, "The role of nanoparticles in sustainable agriculture". Rozdział w monografii: "Smart agrochemicals for sustainable agriculture", ed. Katarzyna Chojnacka, Agnieszka Saeid. London [i in.] : Academic Press, Elsevier, cop. 2022. s. 225-277. DOI: 10.1016/B978-0-12-817036-6.00007-8
2. **Katarzyna Dziergowska**, Laura Bulgariu, Izabela M. Michalak, "Algae-based low-cost strategy for wastewater treatment". Rozdział w monografii: "Algae and aquatic macrophytes in cities: bioremediation, biomass, biofuels and bioproducts", ed. Vimal Chandra Pandey. [Amsterdam; Oxford; Cambridge]: Elsevier, cop. 2022. s. 65-102. DOI: 10.1016/B978-0-12-824270-4.00008-0

Prezentacje konferencyjne

1. **Katarzyna Dziergowska**, Izabela M. Michalak, "Synthesis of metal-oxide nanoparticles from macroalgal extract". Konferencja: Open Readings 2021: 64th International Conference for Students of Physics and Natural Sciences. 16-19.03.2021, Wilno, Litwa. (poster)
2. **Katarzyna Dziergowska**, Izabela M. Michalak, "Ocena oddziaływania nanocząstek CuO na wzrost rzodkiewki". Konferencja: Chemia i Środowisko - Spojrzenie Młodych Naukowców, II edycja. 24-25.04.2021, Kraków, Polska. (prezentacja ustna)
Wyróżnienie za aktywny udział w dyskusji.
3. **Katarzyna Dziergowska**, Izabela M. Michalak, "Sorption of Cr(III) ions by CuO nanoparticles biosynthesized from macroalgal extract". Konferencja: ChemBiotIC, Chemistry & Biotechnology International Conference. 24-25.06.2021, Wrocław, Polska. (prezentacja ustna)
4. **Katarzyna Dziergowska**, Izabela M. Michalak, "Zastosowanie nanocząstek tlenków metali biosyntezowanych z ekstraktów algowych w rolnictwie". Konferencja: 45. Międzynarodowe Seminarium Naukowo – Techniczne "Chemistry for Agriculture". 21-24.11.2021, Karpacz, Polska. (prezentacja ustna)

5. **Katarzyna Dziergowska**, Nathalie Bourgougnon, Izabela M. Michalak, "Potencjalne zastosowanie nanocząstek tlenku cynku biosyntezyowanych z ekstraktu algowego z brunatnicy *Fucus vesiculosus* w rolnictwie". Konferencja: X Kongres Technologii Chemicznej, 11–14.05.2022, Wrocław, Polska. (prezentacja ustna)
6. **Katarzyna Dziergowska**, Manon Choulot, Cécile Le Guillard, Nathalie Bourgougnon, Anna Szymczycha-Madeja, Maja Wełna, Izabela M. Michalak, "Zielone technologie w zrównoważonej biorafinerii glonów". Konferencja: X Kongres Technologii Chemicznej, 11–14.05.2022, Wrocław, Polska. (prezentacja ustna)
7. Natalia Niedzbała, **Katarzyna Dziergowska**, Maja Wełna, Anna Szymczycha-Madeja, Izabela M. Michalak, "Nanocząstki ZnO jako sorbent do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych". Konferencja: X Kongres Technologii Chemicznej, 11–14.05.2022, Wrocław, Polska. (prezentacja ustna)
8. **Katarzyna Dziergowska**, Izabela M. Michalak, "Valorization of *Porphyra* sp. biomass into biostimulant of plant growth and sorbent of metal ions". Konferencja: agroBiotechnology for Better Future : Fungi & Plants, 12.03.2022. Wrocław, Polska. (prezentacja ustna) **Wyróżnienie za najlepszą prezentację ustną**
9. **Katarzyna Dziergowska**, Elia Lio, Francesco Secundo, Izabela M. Michalak, "Wpływ cyjanobakterii *Nostoc commune* hodowanej w obecności nanocząstek ZnO na kiełkowanie i wzrost siewek rzodkiewki". Konferencja: XIX Ogólnopolskie Seminarium dla Doktorantów i Studentów "Na pograniczu chemii i biologii", 4-7.06.2023. Trzebieszowice, Polska.

Krajowe i zagraniczne staże naukowe

1. Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche „Giulio Natta”, CNR (Mediolan, Włochy) jako część projektu NAWA Canaletto, 12-22.10.2022, opiekun stażu: dr. Francesco Secundo.
2. Zakład Bioenergetyki, Analiz Jakości i Nasiennictwa, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy (Radzików, Polska), 1-31.03.2023, opiekun stażu: dr hab. inż. Barbara Wiewióra, prof. instytutu.
3. Istituto di Scienze e Tecnologie Chimiche „Giulio Natta”, CNR (Mediolan, Włochy) jako część projektu NAWA Canaletto, 1-12.05.2023, opiekun stażu: dr. Francesco Secundo

Załączniki

Załącznik 1. Zastosowanie makroalg do biosorpcji jonów (a) arsenu – As(III); (b) arsenu – As(V); (c) kadmu – Cd(II); (d) ceru – Ce(III); (e) kobaltu – Cr(II); (f) chromu – Cr(III); (g) chromu – Cr(VI); (h) miedzi – Cu(II); (i) rtęci – Hg(II); (j) lantanu – La(III); (k) niklu – Ni(II); (l) ołowiu – Pb(II); (m) seleniu – Se(IV); (n) uranu – U(VI); (o) cynku – Zn(II) (wartości parametrów dla których uzyskano najwyższą pojemność biosorpcyjną zaznaczono pogrubieniem)

(g) Arsen – As(III)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Colpomenia sinuosa</i>	2; 3; 4; 5; 6 ; 7; 8; 9	b.d.	5; 10; 15; 20; 30; 60; 120; 180; 240 ; 360	20	20; 50; 100	95,6	[439]
Zielenice							
<i>Maugeotia genuflexa</i>	2; 4; 5; 6 ; 10	0,4-16; 4	5-90; 60	20 ; 30; 40; 50	10-400; 10	57,5	[440]
<i>Ulothrix cylindricum</i>	2; 4; 5; 6 ; 8; 9	0,1-20; 4	5-90; 60	20 ; 30; 40; 50	10-400; 10	67,2	[441]

(h) Arsen – As(V)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Colpomenia sinuosa</i>	2 ; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9	b.d.	5; 10; 15; 20; 30; 60; 120; 180; 240 ; 360	20	20; 50; 100	59,9	[439]
<i>Lessonia nigrescens</i>	2,5 ; 4,5; 6,5	4	10; 20; 40; 60; 80; 100; 120; 150; 200; 250; 300 ; 420; 1200; 1580	20	50 ; 100; 200; 300; 400; 600	45,2	[442]

(i) Kadm – Cd(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Ascophyllum nodosum</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	87,7	[269]
<i>Ascophyllum nodosum</i>	1-6; 4,5	2,5	0-180	25	250	71,9	[443]
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	30,3	[98]
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	1-6; 4,5	2,5	0-180	25	250	61,0	[443]
<i>Cystoseira baccata</i>	1-5,5; 4,5	2,5	60; 17	15; 25; 35 ; 45	10-350; 270	101	[116]
<i>Cystoseria indica</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	7; 14; 28; 56	8,35	[101]
<i>Cystoseria indica</i>	2; 3; 4; 5; 6	1 ; 2; 3; 4	10; 20; 30; 40; 50; 60 ; 90; 120; 150; 180	20 ; 25 ; 30 ; 35	30; 60; 130	55,3	[444]
<i>Dictyota dichotoma</i>	2; 4; 5 ; 6; 8	1-20; 4	5; 10; 20 ; 30; 40; 60; 90	20 ; 30; 40; 50	10	75,0	[445]
<i>Durvillaea antarctica</i>	3,7; 5,2	2 ; 3; 4; 5	5 dni; 7 dni	25	50-1200	95,3	[446]
<i>Fucus ceranoides</i>	4,5	2,5	180	25	250	73,0	[116]
<i>Fucus serratus</i>	5,5	0,08	450	20	0.7-24	43,9	[447]
<i>Fucus serratus</i>	4,5	2,5	180	25	250	81,0	[116]
<i>Fucus spiralis</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	42,1	[98]
<i>Fucus spiralis</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	115	[269]
<i>Fucus vesiculosus</i>	6	5	0,5; 1; 2; 5; 10; 15; 45; 60; 120	31 ; 40; 53; 61	20	143	[115]
<i>Fucus vesiculosus</i>	4,5	2,5	180	25	250	90,0	[116]
<i>Fucus vesiculosus</i>	6	1	0; 2; 5; 10; 30; 60; 120	23	100	108	[114]
<i>Laminaria hyperborea</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	31,3	[98]
<i>Laminaria ochroleuca</i>	1-6; 4,5	2,5	0-180	25	250	69,7	[443]
<i>Lessonia nigrescens</i>	3,7; 5,2	2 ; 3; 4; 5	5 dni ; 7 dni	25	50-1200	109	[446]
<i>Lobophora variegata</i>	5	2	360; 90	25	56-616	191	[448]
<i>Macrocystis pyrifera</i>	3; 4; 5	1	120; 30	20	10-400	10,1	[449]
<i>Nizmuddinia zanardini</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	7; 14; 28; 56	4,04	[101]
<i>Padina</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	112	84,0	[65]
<i>Padina australis</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	7; 14; 28; 56	3,49	[101]
<i>Padina tetrastomatica</i>	5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	82,9	[100]
<i>Pelvetia caniculata</i>	1-6; 4,5	2,5	0-180	25	250	67,6	[443]
<i>Saccorhiza polyschides</i>	1-6; 4,5	2,5	0-180	25	250	71,8	[443]
<i>Sargassum</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	112	85,1	[65]

Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Sargassum baccularia</i>	2-5; 3-5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	81,8	[100]
<i>Sargassum glaucescens</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	7; 14; 28; 56	4,23	[101]
<i>Sargassum muticum</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	38,4	[98]
<i>Sargassum siliculosum</i>	5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	59,4	[100]
<i>Sargassum wightii</i>	5-8; 5	5; 10; 15; 25 ; 35	b.d.	b.d.	10-400	38,8	[99]
Zielenice							
<i>Caulerpa fastigiata</i>	2-8,5; 5,5	2,5 ; 5; 7.5; 10	5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45; 50; 55; 60 ; 90	25 ; 35; 45; 55	30.3 ; 59.5; 70.5; 102	8,61	[450]
<i>Caulerpa lentillifera</i>	5	1,7-26,7; 10	0-60; 10	21	11.2-134.4	0,44	[272]
<i>Caulerpa racemosa</i>	5-8; 5	5; 10; 25 ; 30; 40	b.d.	b.d.	10-400	10,4	[99]
<i>Chaetomorpha linum</i>	5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	53,8	[100]
<i>Codium vermilara</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	21,8	[269]
<i>Enteromorpha compressa</i>	2-6; 6	0.1	10; 20; 30 ; 60; 90; 150; 180	25	10; 20; 40; 80; 100; 120	9,50	[66]
<i>Spirogyra insignis</i>	3; 4; 5; 6	0,5; 1 ; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	22,9	[269]
<i>Ulva</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	112	65,0	[65]
<i>Ulva fasciata</i>	3; 4 ; 5; 6; 7; 8	0,2; 0,4; 0,8; 1,2 ; 1,6; 2	5; 15; 30 ; 60; 90; 120	20 ; 25; 30; 35; 40	30	8,35	[67]
<i>Ulva lactuca</i>	3; 4; 5; 6; 7 ; 8	0,2; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2	5; 15; 30 ; 60; 90; 120	20; 25; 30 ; 35; 40	30	8,80	[67]
<i>Ulva lactuca</i>	2; 4; 5 ; 6; 8	2; 4; 8; 12; 20 ; 40	5; 10; 20; 30; 40; 50; 60 ; 90; 120	20 ; 30; 40; 50	10-400 10	29,2	[68]
<i>Ulva lactuca</i>	1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4,5 ; 5	2	15; 30; 45; 60; 90; 120 ; 180; 240	17; 25; 30 ; 35; 40	250	127	[69]
Krasnorosty							
<i>Asparagopsis armata</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	32,3	[269]
<i>Ceramium virgatum</i>	2; 4; 4,5; 5 ; 5,5; 6; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	2,5; 5; 10; 20; 30; 40; 60 ; 90; 120	20 ; 30; 40; 50	10-400 10	39,7	[451]
<i>Chondrus crispus</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	75,2	[269]
<i>Corallina mediterranea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	64,1	[437]
<i>Galaxaura oblongata</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	82,5	[437]
<i>Gelidium</i> sp.	5.3	2	60	20	11; 28.9; 50; 91.8	18,9	[258]

Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Krasnorosty							
<i>Gracillaria</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	112	33,6	[65]
<i>Gracilaria corticata</i>	3; 4; 5; 6 ; 7	0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5	5; 10; 20; 40; 80; 160	24	10; 25; 50; 75; 100	8,65	[260]
<i>Gracilaria changii</i>	5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	25,8	[100]
<i>Gracilaria edulis</i>	5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	26,9	[100]
<i>Gracilaria salicornia</i>	5	b.d.	1440 (24 h); 30-40	25	50-400	17,9	[100]
<i>Hypnea valentiae</i>	3; 5; 6 ; 7	4 ; 5; 6; 7; 8	300	30; 40; 50; 60	25 ; 50; 150; 250; 500	27,1	[452]
<i>Jania rubens</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	30,5	[437]
<i>Pterocladia capillacea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	33,5	[437]

(j) Cer – Ce(III)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Cystoseira indica</i>	2; 3; 4 ; 5; 6	0,5 ; 1; 1,5; 2; 2,5	240	25; 32,5; 40 ; 47,5; 55	50; 100; 150 ; 200	145	[453]
<i>Fucus serratus</i>	5,5	0,08	450	20	0,7-24	71,0	[447]

(k) Kobalt – Co(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Cystoseira indica</i>	2-6; 5,9	0,6-1,0; 0,6	300; 80	25	30-150; 89.4	75,2	[454]
Zielenice							
<i>Cladophora sericea</i>	5,5	8	5-180	21	12-396	14,2	[277]
<i>Ulva lactuca</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7	4; 6; 8 ; 12; 16; 20	1440 (24 h)	23	12-360; 360	11,7	[70]
Krasnorosty							
<i>Corallina mediterranea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	76,2	[437]
<i>Galaxaura oblongata</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	74,2	[437]
<i>Hypnea valentiae</i>	3-7; 6	0,5; 1; 2 ; 4; 8	10; 15; 30; 60; 120 ; 180; 240	30	0,7	11,0	[455]
<i>Jania rubens</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	32,6	[437]
<i>Pterocladia capillacea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	52,6	[437]

(I) Chrom – Cr(III)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Durvillaea antarctica</i>	2; 3; 4; 5 ; 5,5	1	5; 10; 30; 60; 120; 240; 420	20	7,5-300 50	103	[438]
<i>Fucus vesiculosus</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5 ; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120 ; 180; 240; 300; 360	21	52	62,9	[71]
<i>Fucus spiralis</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5 ; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120 ; 180; 240; 300; 360	21	52	60,8	[71]
<i>Sargassum</i> sp.	2; 3; 4	1	360	20; 30 ; 40	92; 162	68,9	[102]
<i>Sargassum wightii</i>	5-8; 5	5; 10; 15; 25 ; 35	b.d.	b.d.	10-400	79,6	[99]
Zielenice							
<i>Caulerpa racemosa</i>	5-8; 5	5; 10; 20; 25 ; 30; 40	b.d.	b.d.	10-400	59,0	[99]
<i>Enteromorpha prolifera</i>	3; 4; 5	0,5; 1 ; 1,5	360	25 ; 40; 50; 60	50; 150; 300 ; 400	71,9	[72]
<i>Pithophora varia</i>	3; 4; 5	0,5; 1 ; 1,5	300	25 ; 40; 50; 60	b.d.	60,6	[456]
<i>Spirogyra</i> spp.	3; 4; 4,5; 5 ; 5,5; 6	1; 1,5; 2; 2,5; 3	15; 30; 45 ; 60; 90; 120; 150; 180	25	20; 30; 50 ; 75; 100; 150	28,2	[457]
<i>Ulva lactuca</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5 ; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60 ; 120; 180; 240; 300; 360	21	52	36,9	[71]
<i>Ulva compressa</i> , <i>Ulva linza</i> , <i>Ulva intestinalis</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5 ; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120 ; 180; 240; 300; 360	21	52	53,0	[71]
Krasnorosty							
<i>Corallina mediterranea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	70,3	[437]
<i>Galaxaura oblongata</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	105	[437]
<i>Jania rubens</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	28,5	[437]
<i>Palmaria palmata</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5 ; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30 ; 60; 120; 180; 240; 300; 360	21	52	29,6	[71]
<i>Polysiphonia lanosa</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5 ; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30 ; 60; 120; 180; 240; 300; 360	21	52	33,8	[71]
<i>Pterocladia capillacea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10 ; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	34,7	[437]

(m) Chrom – Cr(VI)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Fucus vesiculosus</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120; 180 ; 240; 300; 360	21	52	42,6	[71]
<i>Fucus spiralis</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120; 180 ; 240; 300; 360	21	52	35,4	[71]
<i>Laminaria japonica</i>	1; 2; 3; 4; 5; 6	1; 2; 3 ; 4; 5	5; 10; 15; 30; 45; 60 ; 75; 90; 120	20 ; 30; 40	2-20; 10	10,3	[121]
<i>Sargassum</i> sp.	1; 2 ; 3; 4; 5; 6; 7; 8	3	1440 (24h) 120	25	51	31,3	[104]
<i>Sargassum tenerrimum</i>	1-6; 2	0,2-20; 5	15; 30; 60; 90; 120; 180; 240 ; 300; 360; 420	5; 15; 25 ; 35; 45	5; 10; 25; 50 ; 100; 200	2,78	[103]
<i>Sargassum wightii</i>	5-8; 5	5; 10; 15; 25 ; 35	b.d.	b.d.	10-400	66,0	[99]
<i>Undaria pinnatifida</i>	1; 2; 3; 4; 5; 6	1; 2; 3 ; 4; 5	5; 10; 15; 30; 45; 60 ; 75; 90; 120	20 ; 30; 40	2-20; 10	11,8	[121]
Zielenice							
<i>Caulerpa racemosa</i>	5-8; 5	5; 10; 20; 30 ; 35 40	b.d.	b.d.	10-400	66,0	[99]
<i>Cladophora glomerata</i>	2; 3; 4; 5; 6	4; 7; 10 ; 14	30; 60 ; 90	25; 35; 45	10; 20 ; 30; 40; 50	3,77	[49]
<i>Enteromorpha</i> sp.	2; 3; 4; 5; 6; 7	0,2-1,0; 0,2	10; 20; 40; 60; 80; 100; 120; 140; 160 ; 180; 200	30; 40; 50; 60	20-100	4,84	[458]
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	2; 3; 4; 5; 6	4; 7; 10 ; 14	30; 60 ; 90	25; 35; 45	10; 20 ; 30; 40; 50	2,97	[49]
<i>Ulva lactuca</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120 ; 180; 240; 300; 360	21	52	27,6	[71]
<i>Ulva lactuca</i>	1-11; 1	2; 3; 4; 5; 10; 15	5; 10; 20; 30; 45; 60; 90; 120	5 ; 10; 20; 30; 50; 75; 100; 125; 150; 200; 250	25	10,6	[74]
<i>Ulva compressa</i> , <i>Ulva linza</i> , <i>Ulva intestinalis</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120 ; 180; 240; 300; 360	21	52	30,2	[71]
Krasnorosty							
<i>Ceramium virgatum</i>	1; 1,5 ; 2; 3; 4; 6; 8	0,4; 1; 2; 4; 10 ; 20; 40	10; 20; 30; 40; 60; 90 ; 120; 150	20 ; 30; 40; 50	10-400; 10	26,5	[459]
<i>Gracilaria lemaneiformis</i>	1; 2; 3; 4; 5; 6	1; 2; 3 ; 4; 5	5; 10; 15; 30; 45; 60 ; 75; 90; 120	20; 30 ; 40	2-20; 10	26,3	[121]

Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Krasnorosty							
<i>Palmaria palmata</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120 ; 180; 240; 300; 360	21	52	33,8	[71]
<i>Polysiphonia lanosa</i>	2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6	2	5; 10; 30; 60; 120; 180 ; 240; 300; 360	21	52	45,8	[71]
<i>Porphyra haitanensis</i>	1; 2; 3; 4; 5; 6	1; 2; 3 ; 4; 5	5; 10; 15; 30; 45; 60 ; 75; 90; 120	20 ; 30; 40	2-20; 10	10,2	[121]

(n) Miedź – Cu(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Ascophyllum nodosum</i>	3; 4 ; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	58,8	[269]
<i>Fucus serratus</i>	5.5	0,08	450	20	0,7-24	32,4	[460]
<i>Fucus serratus</i>	5	0,09	480	20	0,64-25,40	102	[460]
<i>Fucus spiralis</i>	3; 4 ; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	70,9	[269]
<i>Fucus vesiculosus</i>	5	1	0; 2; 5; 10; 30; 60; 120	23	100	211	[114]
<i>Laminaria japonica</i>	1; 2; 3; 4; 5 ; 6	1; 2; 3; 4; 5; 6	90; 60	20	0-200; 40	77,1	[122]
<i>Padina</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	63,5	72,4	[65]
<i>Sargassum</i> sp.	1; 2; 4; 5; 5,5 ; 6; 8	0,25-5; 1	1; 5; 10; 20; 30; 60 ; 120; 180	22	20-500	72,5	[75]
<i>Sargassum</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	63,5	62,9	[65]
Zielenice							
<i>Caulerpa lentillifera</i>	5	1,7-26,7; 17,5	0-60; 10	21	6,4-76,8	0,39	[272]
<i>Chaetomorpha linum</i>	2; 4; 5 ; 6	20	1440; 120	20	127; 317,5; 635	92,7	[461]
<i>Cladophora</i>	3; 3,5; 4; 4,5; 5 ; 5,5; 6; 6,5; 7	0,1; 0,5; 1 ; 5; 10	5; 10; 15; 20; 30 ; 40; 50; 60	25	50; 100 ; 150; 200; 250; 300	13,7	[462]
<i>Cladophora fascicularis</i>	2-6; 5	2	360; 120	25 ; 35; 45	1000	102	[463]
<i>Cladophora sericea</i>	5,5	8	5-180	21	12-396	21,2	[277]
<i>Codium vermilara</i>	3; 4; 5 ; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	16,9	[269]
<i>Codium vermilara</i>	2; 3; 4; 5 ; 6	0,1; 0,3; 0,5; 0,7 ; 0,9	30; 60; 90 ; 120	25; 35; 45	30; 50 ; 70; 90; 110	14,4	[464]
<i>Spirogyra</i> sp.	3; 3,5; 4; 4,5; 5 ; 5,5; 6; 6,5; 7	0,1; 0,5; 1 ; 5; 10	5; 10; 15; 20; 30 ; 40; 50; 60	25	50; 100 ; 150; 200; 250; 300	38,2	[462]
Zielenice							
<i>Spirogyra insignis</i>	3; 4 ; 5; 6	0,5; 1 ; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	19,3	[269]
<i>Ulva</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	63,5	47,6	[65]
<i>Ulva lactuca</i>	1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4,5; 5	2	15; 30; 45; 60; 90; 120 ; 180; 240	17; 25; 30 ; 35; 40	250	112	[69]
<i>Ulva fasciata</i>	1; 2; 4; 5; 5,5 ; 6; 8	0,25-5; 1	1; 5; 10; 20; 30; 60 ; 120; 180	22	20-500	73,5	[75]
Krasnorosty							
<i>Asparagopsis armata</i>	3; 4; 5 ; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	21,3	[269]
<i>Chondrus crispus</i>	3; 4 ; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	40,5	[269]
<i>Gracillaria</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	63,5	37,5	[65]

Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Krasnorosty							
<i>Jania adhaerens</i>	2; 2,5; 3; 3,5; 4 ; 4,5; 5	0,2; 0,6; 1 ; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6	2100 (35 h)	25	25; 50; 75; 100; 125	67,65	[465]
<i>Palmaria palmata</i>	1; 2; 3; 4,5; 6	0,1	5; 10; 20 ; 30; 50; 90; 120; 150; 180	22	5; 10; 25; 50; 100	11,49	[128]
<i>Porphyra yezoensis</i>	1; 2; 3; 4; 5; 6	1; 2; 3; 4; 5; 6	90; 60	20	0-200; 40	5,82	[122]

(o) Rtęć – Hg(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Zielenice							
<i>Ulva lactuca</i>	3,5; 5,5; 7	1	120; 40	25	b.d.	149	[76]

(p) Lantan – La(III)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Cystoseira indica</i>	2; 3; 4; 5 ; 6	0.5; 1 ; 1.5; 2; 2.5	240	25; 32,5; 40; 47,5 ; 55	50; 100; 150; 200	136	[453]

(q) Nikiel – Ni(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Ascophyllum nodosum</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	43,4	[269]
<i>Cystoseria indica</i>	4; 5; 6 ; 7	1	10; 20; 30; 40; 50; 60; 90; 120 ; 180	20; 30; 40	6-201; 200	50,0	[105]
<i>Cystoseria indica</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 ; 7	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	15; 30; 59; 118; 236	7,00	[101]
<i>Cystoseria indica</i>	2; 3; 4; 5; 6	1 ; 2; 3; 4	10; 20; 30; 40; 50; 60 ; 90; 120; 150; 180	20; 25; 30; 35	30; 60; 130	18,2	[444]
<i>Cystoseira indica</i>	2-6; 5,9	0,6-1; 0,6	300; 80	25	30-150; 91.9	70,0	[454]
<i>Durvillaea antarctica</i>	2; 3; 4; 5 ; 5.5	1	5; 10; 30; 60; 120; 240 ; 420	20	7,5-300; 50	32,8	[438]
<i>Fucus serratus</i>	5,5	0,08	450	20	0,7-24	23,1	[447]
<i>Fucus spiralis</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	50,0	[269]
<i>Fucus vesiculosus</i>	6	5	0.5; 1; 2; 5; 10; 15; 45; 60; 120	31 ; 40; 53; 61	20	70,1	[115]
<i>Nizmuddinia zanardini</i>	4; 5; 6 ; 7	1	10; 20; 30; 40; 50; 60; 90; 120 ; 180	20; 30; 40	6-201; 200	55,6	[105]
<i>Nizmuddinia zanardini</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 ; 7	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	15; 30; 59; 118; 236	6,38	[101]
<i>Padina</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	59	37,2	[65]
<i>Padina australis</i>	4; 5; 6 ; 7	1	10; 20; 30; 40; 50; 60; 90; 120 ; 180	20; 30; 40	6-201; 200	55,6	[105]
<i>Padina australis</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 ; 7	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	15; 30; 59; 118; 236	5,96	[101]
<i>Sargassum</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	59	36,0	[65]
<i>Sargassum</i> sp.	2,2-9,2; 5	1; 2; 3; 4; 5; 6; 7	30; 60; 90; 120 ; 150; 180	30	50; 100; 250; 500	181	[106]
<i>Sargassum glaucescens</i>	4; 5; 6 ; 7	1	10; 20; 30; 40; 50; 60; 90; 120 ; 180	20; 30; 40	6-201; 200	27,0	[105]
<i>Sargassum glaucescens</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 ; 7	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	15; 30; 59; 118; 236	6,35	[101]

Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Zielenice							
<i>Codium vermilara</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	13,2	[269]
<i>Spirogyra insignis</i>	3; 4; 5; 6	0,5; 1 ; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	17,5	[269]
<i>Ulva</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	59	17,1	[65]
<i>Ulva lactuca</i>	1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4,5 ; 5	2	15; 30; 45; 60; 90; 120 ; 180; 240	17; 25; 30 ; 35; 40	250	67,0	[69]
Krasnorosty							
<i>Asparagopsis armata</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	17,1	[269]
<i>Chondrus crispus</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	37,2	[269]
<i>Gracillaria</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	59	16,5	[65]

(r) Olów – Pb(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Ascophyllum nodosum</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	179	[269]
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	52,7	[98]
<i>Cystoseira baccata</i>	1-5,5; 4,5	2,5	150; 47	15 ; 25; 35; 45	10-2000; 500	186	[466]
<i>Cystoseria indica</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	13; 26; 52; 104	47,2	[101]
<i>Fucus serratus</i>	5,5	0,08	450	20	0,7-24	66,6	[447]
<i>Fucus spiralis</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	43,5	[98]
<i>Fucus spiralis</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	204	[269]
<i>Fucus vesiculosus</i>	6	5	0,5; 1; 2; 5; 10; 15; 45; 60; 120	31 ; 40; 53; 61	20	516	[115]
<i>Fucus vesiculosus</i>	5	1	0; 2; 5; 10; 30; 60; 120	23	100	106	[114]
<i>Laminaria hyperborea</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	50,3	[98]
<i>Lobophora variegata</i>	5	2	360; 90	25	103,5-1138	370	[448]
<i>Nizmuddinia zanardini</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	13; 26; 52; 104	50,4	[101]
<i>Padina</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	207	259	[65]
<i>Padina australis</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	13; 26; 52; 104	46,5	[101]
<i>Sargassum</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	207	240	[65]
<i>Sargassum glaucescens</i>	2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5	0,2 ; 2; 4; 8; 16; 32	15; 30; 60; 120; 180 ; 360; 720; 1440	25	13; 26; 52; 104	45,8	[101]
<i>Sargassum muticum</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	38,2	[98]
<i>Sargassum wightii</i>	5-8; 5	5; 10; 15; 25 ; 35	b.d.	b.d.	10-400	171	[99]
Zielenice							
<i>Caulerpa lentillifera</i>	5	1,7-26,7; 14	0-60; 10	21	20,7-248	0,55	[272]
<i>Caulerpa racemosa</i>	5-8; 5	5; 10; 20; 25 ; 30; 40	b.d.	b.d.	10-400	40,1	[99]
<i>Cladophora</i> sp.	3; 3,5; 4; 4,5; 5 ; 5,5; 6; 6,5; 7	0,1; 0,5; 1 ; 5; 10	5; 10; 15; 20; 30 ; 40; 50; 60	25	50; 100 ; 150; 200; 250; 300	45,4	[462]
<i>Cladophora fascicularis</i>	2; 3; 4; 5 ; 6	2	0-240; 30	25; 35; 45	45,0-902	228	[467]
<i>Cladophora fascicularis</i>	2-6; 5	2	360; 120	25 ; 35; 45	1000	200	[463]

Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Zielenice							
<i>Codium vermilara</i>	3; 4; 5 ; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	63,3	[269]
<i>Spirogyra</i> sp.	3; 3,5; 4; 4,5; 5 ; 5,5; 6; 6,5; 7	0,1; 0,5; 1 ; 5; 10	5; 10; 15; 20; 30 ; 40; 50; 60	25	50; 100 ; 150; 200; 250; 300	87,2	[462]
<i>Spirogyra insignis</i>	3; 4; 5 ; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	51,5	[269]
<i>Ulva</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	207	302	[65]
<i>Ulva lactuca</i>	2; 4; 5 ; 6; 8	2; 4; 8; 12; 20 ; 40	5; 10; 20; 30; 40; 50; 60 ; 90; 120	20 ; 30; 40; 50	10-400; 10	34,7	[68]
<i>Ulva lactuca</i>	2; 4; 5 ; 6	4 ; 5; 8; 12; 16; 20	1440 (24 h); 60	22	44,0-702; 175	105	[77]
<i>Ulva lactuca</i>	1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4,5 ; 5	2	15; 30; 45; 60; 90; 120 ; 180; 240	17; 25; 30 ; 35; 40	250	230	[69]
Krasnorosty							
<i>Asparagopsis armata</i>	3; 4 ; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	63,7	[269]
<i>Chondrus crispus</i>	3; 4 ; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	204	[269]
<i>Corallina mediterranea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	64,3	[437]
<i>Galaxaura oblongata</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	88,6	[437]
<i>Gelidium</i> sp.	2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,3 ; 5,5; 6	4	0-60	20	30 ; 54; 204	42,4	[256]
<i>Gracillaria</i> sp.	2-7; 5	0,1	0-360; 60	22	207	93,2	[65]
<i>Jania rubens</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	30,6	[437]
<i>Pterocladia capillacea</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8	1; 2; 5; 10; 20; 40	5; 10; 30; 60 ; 120	25	5	34,1	[437]

(s) Selen – Se(IV)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Zielenice							
<i>Cladophora hutchinsiae</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 8	1; 2; 3; 4; 8 ; 12; 16; 20	5; 10; 20; 30; 40; 50; 60 ; 120; 180	20 ; 30; 40; 50	10-400; 10	74,9	[468]

(t) Uran – U(VI)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Zielenice							
<i>Cladophora hutchinsiae</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7	2; 4; 8; 12 ; 16; 20	5; 10; 20; 30; 60 ; 90; 120	20 ; 35; 45; 60	10-400	152	[469]

(u) Cynk – Zn(II)							
Makroalga	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Brunatnice							
<i>Ascophyllum nodosum</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	42,0	[269]
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	30,3	[98]
<i>Fucus serratus</i>	5,5	0,08	450	20	0,7-24	28,7	[447]
<i>Fucus spiralis</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	34,3	[98]
<i>Fucus spiralis</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	53,2	[269]
<i>Fucus vesiculosus</i>	2-5; 5	1	15; 30; 60; 120	23	10-600	61,1	[117]
<i>Laminaria hyperborea</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	19,2	[98]
<i>Macrocystis pyrifera</i>	3; 4; 5	1	120; 30	20	10-400	15,6	[449]
<i>Padina</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	65	52,7	[65]
<i>Sargassum</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	65	32,5	[65]
<i>Sargassum muticum</i>	4; 4,5; 5	2	60	25	75-100	34,1	[98]
Zielenice							
<i>Chaetomorpha linum</i>	2; 4; 5 ; 6	20	1440 (24 h); 120	20	130; 325; 650	128	[461]
<i>Cladophora sericea</i>	5,5	8	5-180	21	12-396	33,8	[277]
<i>Codium vermilara</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	23,8	[269]
<i>Spirogyra insignis</i>	3; 4; 5; 6	0,5; 1 ; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	21,1	[269]
<i>Ulva</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	65	35,1	[65]
<i>Ulva</i> sp.	1-6; 5,5	4-40; 8	5-180; 120	22	10-220	29,6	[78]
<i>Ulva fasciata</i>	2; 3; 4; 5 ; 6; 7; 8; 9; 10	3,3; 6,6; 9,9; 13,2; 16,5	0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 10; 15; 20 ; 25; 30	30	20 ; 40; 60; 80; 100	13,5	[79]
Krasnorosty							
<i>Asparagopsis armata</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	21,6	[269]
<i>Chondrus crispus</i>	3; 4; 5; 6	0,5 ; 1; 2	120	b.d.	10; 25; 50 ; 100; 150	45,7	[269]
<i>Gracillaria</i> sp.	2-7; 5,5	0,1	0-360; 60	22	65	26,0	[65]

b.d. – brak danych

Dla jonów As(III) najwyższa otrzymana zdolność biosorpcji wyniosła 95,6 mg/g dla brunatnic [439]. Najlepsze pH dla procesu wynosiło 6 według wszystkich źródeł, a najlepsza temperatura to 20 °C. Zdolność biosorpcyjna dla jonów As(V) była niższa niż dla As(III) (maksymalnie 59,9 mg/g dla brunatnic [439]). Najodpowiedniejsze pH to 2-2,5, a najlepsza temperatura to również 20°C. Dla jonów Cd(II) najwyższa otrzymana pojemność biosorpcyjna wyniosła 191,5 mg/g dla brunatnic (pH 5, C_s 2 g/L, 25 °C) [448]. Najodpowiedniejsza wartość pH była różna w zależności od użytych makroalg. Dla brunatnic było to od 3 do 6, dla zielenic od 4 do 7, a dla krasnorostów od 5 do 7. Według większości badań najbardziej optymalna temperatura wynosiła 20-30°C. Istnieją tylko 2 wzmianki o jonach Ce(III). Według nich najlepsze pH wynosiło od 4 do 5,5. Najwyższa zdolność biosorpcji dla tego metalu wyniosła 145 mg/g dla brunatnic (pH 4, C_s 0,5 g/L, 40 °C, C_0 150 mg/L) [453]. Dla kobaltu najlepsza wartość pH wynosiła od 5 do 7. Brak jest danych o wpływie temperatury na proces (wszystkie badania przeprowadzono w temperaturze pokojowej). Najwyższa zdolność biosorpcji wyniosła 76,2 mg/g dla krasnorostów (pH 5, C_s 10 g/L, 25 °C, C_0 5 mg/L) [437]. Najlepsze pH dla jonów Cr(III) wynosiło najczęściej od 4 do 5, a dla Cr(VI) zwykle 2. Najwyższa zdolność biosorpcji wyniosła 71,9 mg/g dla zielenic (pH 5, C_s 1 g/L, 25 °C, C_0 300 mg/L) dla jonów Cr(III) [72] i 66,0 mg/g dla brunatnic (pH 5, C_s 25 g/L) i zielenic (pH 5, C_s 30 g/L) dla jonów Cr(VI) [99]. Dla jonów Cu(II) najczęściej wybieranym pH było 5, a największa pojemność biosorpcyjna wynosiła 211 mg/g dla brunatnic (pH 5, C_s 1 g/L, 23 °C, C_0 100 mg/L) [114]. Dla jonów Ni(II) najbardziej odpowiednią wartością pH było zazwyczaj 6, a najwyższa pojemność biosorpcyjna wynosiła 70,1 mg/g dla brunatnic (pH 6, C_s 5 g/L, 31 °C, C_0 50 mg/L) [115]. Dla jonów Pb(II) najczęściej stosowano pH o wartości około 5. Pojemność biosorpcyjna była zazwyczaj bardzo wysoka, najwyższa wynosiła 516 mg/g dla brunatnic (pH 6, C_s 5 g/L, 31 °C, C_0 20 mg/l) [115]. Dla jonów Zn(II) najbardziej efektywne pH mieściło się w zakresie od 5 do 6. Najwyższa pojemność biosorpcyjna wynosiła 128 mg/g dla zielenic (pH 5, C_s 20 g/L, 20 °C, C_0 650 mg/L) [461].

Załącznik 2. Zastosowanie pozostałości poekstrakcyjnej makroalg do biosorpcji różnych jonów metali ciężkich

Jon metalu	Makroalga	Rodzaj pozostałości	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Ag(I)	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	108	4,32	[254]
Cd(II)	<i>Sargassum carpophyllum</i> (B)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	85,6	[255]
	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	112	7,84	[254]
	<i>Caulerpa lentillifera</i> (Z)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	87,3	[255]
	<i>Ulva lactuca</i> (Z)	po ekstrakcji olejów	2; 3; 4; 5 ; 6	8	1440 (24 h); 180	10 ; 20; 40	67	22,4	[73]
	<i>Gelidium</i> (K)	po ekstrakcji agaru	5,3	3	60	20	11; 28,9; 50; 91,8	9,10	[258]
	<i>Gracilaria corticata</i> (K)	po ekstrakcji agaru	3; 4; 5; 6 ; 7	0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5	5; 10; 20; 40; 80; 160	24	10; 25; 50; 75; 100	10,9	[260]
Co(II)	<i>Ulva lactuca</i> (Z)	po ekstrakcji olejów	2; 3; 4; 5 ; 6	8	1440 (24 h); 180	10 ; 20; 40	37	17,4	[73]
Cr(III)	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	52	5,72	[254]
Cu(II)	<i>Gelidiella acerosa</i> (B)	po ekstrakcji agaru	2; 4,5 ; 7	0,1; 0,3 ; 0,5	40	30	20 ; 60; 100	27,0	[257]
	<i>Sargassum carpophyllum</i> (B)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	52,4	[255]
	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	5	2	1440 (24 h)	20; 30; 40	31,8-1270	227	[259]
	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	63,5	5,72	[254]
	<i>Caulerpa lentillifera</i> (Z)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	78,1	[255]
Mn(II)	<i>Sargassum carpophyllum</i> (B)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	43,5	[255]
	<i>Caulerpa lentillifera</i> (Z)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	57,8	[255]
Ni(II)	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	59	1,77	[254]

Jon metalu	Makroalga	Rodzaj pozostałości	pH	Stężenie biosorbenta [g/L]	Czas [min]	Temperatura [°C]	Początkowe stężenie jonów metalu [mg/L]	Pojemność biosorpcyjna [mg/g]	Źródło
Pb(II)	<i>Sargassum carpophyllum</i> (B)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	107	[255]
	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	207	10,3	[254]
	<i>Caulerpa lentillifera</i> (Z)	po ekstrakcji polisacharydów	2; 3; 4; 5; 6	0,8	15; 30; 60; 120 ; 240; 360; 480	25	1; 3; 5; 7; 10	109	[255]
	<i>Ulva lactuca</i> (Z)	po ekstrakcji olejów	2; 3; 4; 5 ; 6	8	1440 (24 h); 180	10 ; 20; 40	133	74,2	[73]
	<i>Gelidium</i> (K)	po ekstrakcji agaru	2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,3 ; 5,5; 6	2	0-60	20	29 ; 42; 102	25,7	[256]
Zn(II)	<i>Sargassum filipendula</i> (B)	po ekstrakcji alginianu	3,5	2	1440 (24 h)	25	65	6,31	[254]

Z – zielenica; K – krasnorost; B – brunatnica