

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Ústav pro životní prostředí

Studijní program: Ochrana životního prostředí (N0521A030006)

Studijní obor: N-OZP (0521TA030006)



Bc. Zuzana Fojtová

**Hygienizace odvodněného čistírenského kalu při procesu vermikompostování
v polních podmínkách**

Hygienization of dewatered sewage sludge using vermicomposting process
under field conditions

Diplomová práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Petra Innemanová, Ph.D.

Praha, 2023

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného titulu.

V Praze 9. 12. 2023

Bc. Zuzana Fojtová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala RNDr. Petře Innemanové, Ph.D. za pomoc, ochotu, trpělivost a její čas, který mi věnovala při psaní mé diplomové práce, přípravě pokusu a měření vzorků. Dále bych ráda poděkovala také firmě DEKONTA, a.s., za poskytnutí prostoru v jejich laboratořích a za pomoc se zpracováním vzorků a firmě FLORIUM s.r.o. za poskytnutí prostorů pro polní pokus. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za podporu a zázemí při psaní mé diplomové práce.

Diplomová práce byla vytvořena v rámci řešení projektu NAZV č. QK1910095 s názvem „Využití vermikompostování k eliminaci mikropolutantů za účelem bezpečné aplikace čistírenského kalu na zemědělskou půdu.“

ABSTRAKT

Čistírenský kal je odpadní surovina, která je cenným zdrojem organické hmoty a nutrientů a v mnoha zemích světa je využíván jako hnojivo na zemědělské půdě. Aplikace čistírenského kalu však přináší rizika spojená s obsahem patogenních mikroorganismů a jiných nežádoucích látek v tomto materiálu a v mnoha zemích musí čistírenské kaly splňovat limity pro aplikaci na půdu. Vermikompostování těchto materiálů může být jedním z efektivních způsobů snížení patogenních látek v čistírenském kalu.

V této diplomové práci jsem se zabývala účinností hygienizace čistírenského kalu v procesu vermikompostování v polních podmínkách. Pokus probíhal v zemním vermikompostéru o celkovém pracovním objemu 10,5 m³ u obce Hrbov, nedaleko Lhenic v Jihočeském kraji. Měření účinnosti hygienizace probíhalo pomocí testu s vneseným mikroorganismem (*E. coli*). Test byl modifikován pro proces vermikompostování. V rámci pokusu byla směs čistírenského kalu namíchaného s březovou štěpkou v poměru 1:1,5 (kal: štěrka) po dobu šesti měsíců i) vermikompostována, ii) pouze kompostována a iii) kompostována (po dobu jednoho měsíce) a poté vermikompostována. Kromě hodnocení účinnosti hygienizace u jednotlivých variant byla porovnána stabilita a případná fytotoxicita výsledného produktu pomocí měření enzymatické aktivity a ekotoxikologického testu na semenech konopí setého.

Výsledky pokusu ukazují, že hygienizace čistírenského kalu, tak, aby splňovala podmínky aplikace na zemědělskou půdu v ČR, lze dosáhnout pomocí vermikompostování a to již za 6 měsíců procesu. Vermikompostování poskytlo po šesti měsících procesu stabilnější produkt, než ostatní varianty pokusu.

Klíčová slova: čistírenský kal, vermikompostování, úprava kalů, hygienizace

ABSTRACT

Sewage sludge is a waste material that is a valuable source of organic matter and nutrients and is used as a fertiliser on agricultural land in many countries around the world. However, the application of sewage sludge carries risks associated with the presence of pathogenic microorganisms and other undesirable substances in this material and in many countries sewage sludge must meet limits for land application. Vermicomposting of these materials can be one effective way of reducing pathogens in sewage sludge.

In this thesis, I investigated the effectiveness of sanitizing sewage sludge in the vermicomposting process under field conditions. The experiment was conducted in an earthen vermicomposter with a total working volume of 10.5 m³ near the village of Hrbov, near Lhenice in the South Bohemia region. Hygienization efficiency was measured using a test with an introduced microorganism (*E. coli*). The test was modified for the vermicomposting process. In the experiment, a mixture of sewage sludge mixed with birch chips in a ratio of 1:1.5 (sludge: chips) was (i) vermicomposted for six months, (ii) composted only, and (iii) composted for one month and then vermicomposted. In addition to the evaluation of the hygienisation efficiency of the different options, the stability and possible phytotoxicity of the final product was compared by measuring the enzymatic activity and the ecotoxicological test on the seeds of hemp.

The results of the experiment show that the hygienization of the sewage sludge to meet the conditions for application to agricultural land in the Czech Republic can be achieved by vermicomposting, and this in as little as 6 months of the process.

Key words: sewage sludge, vermicomposting, sludge treatment, hygienization

OBSAH

Obsah.....	6
Seznam zkratek	8
1 Úvod.....	9
2 Teoretická část.....	10
2.1. Čistírenský kal	10
2.1.1. Využití a likvidace čistírenských kalů.....	10
2.1.2. Odvodňování kalu.....	11
2.1.3. Způsob ověřování účinnosti hygienizace	12
2.1.4. Metody hygienizace čistírenských kalů.....	12
2.1.5. Aplikace upravených čistírenských kalů na půdu	14
2.1.6. Výhody aplikace čistírenských kalů na půdu	14
2.1.7. Nevýhody aplikace čistírenských kalů na půdu	15
2.1.8. Rizikové látky obsažené v čistírenských kalech.....	15
2.1.9. Patogenní organismy v čistírenských kalech.....	22
2.2. Vermikompostování.....	23
2.2.1. Enzymy ve vermikompostu	25
2.3. Vermikompostování čistírenských kalů.....	27
2.3.1. Aplikace vermikompostu na půdu.....	27
2.3.2. Hygienizace vermikompostováním	28
3 Cíle práce a hypotézy	30
4 Praktická část.....	31
4.1. Pomůcky a materiál.....	31
4.2. Chemikálie	32
4.3. Odběr a předúprava kalu	32
4.4. Popis polního pokusu	33
4.5. Test s vneseným organismem	35
4.5.1. Princip testu	35
4.5.2. Pracovní postup	35
4.6. Enzymatická aktivita.....	37
4.6.1. Princip testu	37
4.6.2. Pracovní postup	38
4.7. Ekotoxikologický test na semenech konopí setého (<i>Cannabis sativa</i>)	41
4.7.1. Princip testu	41

4.7.2.	Testovaný organismus	41
4.7.3.	Pracovní postup	41
5	Výsledky a diskuze.....	43
5.1.	Výsledky hygienizace kalu	43
5.2.	Další sledované parametry	45
5.3.	Výsledky stanovení enzymatické aktivity.....	48
5.4.	Výsledky testu klíčivosti a růstu kořene konopí setého	50
6	Závěr.....	52
	Použitá literatura.....	53

Seznam zkratk

AOX	Adsorbable organically bound halogens (halogenové organické sloučeniny)
ČR	Česká republika
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EU	Evropská unie
DMSO	Dimethylsulfoxid
KTJ	kolonii tvořící jednotka
PAU	polyaromatické uhlovodíky
PCB	polychlorované bifenyly
PFAS	perfluorované a polyfluorované sloučeniny
PPCPs	pharmaceuticals and personal care products (léčiva a látky denní spotřeby)
TBX	Tryptone Bile X-glucuronide
UV	ultra violet (ultra fialové)

1 Úvod

Způsob hospodaření na zemědělské půdě, který v dnešní době v ČR převažuje, je založen na nadměrné kultivaci (orba, odvodnění, zhutnění) a používání minerálních hnojiv. To vede k úbytku organické hmoty v půdě a s tím spojenému riziku půdní eroze a snížení schopnosti zadržovat živiny. V současné době dochází k hledání nových zdrojů organické hmoty, vhodné pro aplikaci na půdu, aby nedocházelo k její degradaci. K doplnění organické hmoty do půdy se využívají různá organická hnojiva, např. hnůj, kejda, močůvka, komposty či zelené hnojení a kaly (Frouz a Frouzová, 2021). Čistírenský kal, odpadní surovina vznikající čištěním odpadních vod, se v mnoha zemích světa využívá jako hnojivo s obsahem organické hmoty a dalších prospěšných látek. Čistírenské kaly obsahují vysoké koncentrace dusíku, fosforu, vápníku a hořčíku a mají potenciál nahradit minerální hnojiva a zároveň přispět k využití poměrně cenného zdroje (Bindzar a kol., 2019). V evropské unii (EU) je aplikace čistírenského kalu na půdu jednou z hojně využívaných možností recyklace a využití kalů (Eurostat, 2023). Po aplikaci čistírenského kalu do půdy dochází ke zlepšení vlastností půdy např. pórovitosti, zvýšení mikrobiální aktivity a aktivity půdních enzymů či schopnosti zadržet vodu. Aplikace čistírenského kalu na zemědělskou půdu však s sebou přináší kromě výhod i mnohé nevýhody. Kromě prospěšných látek, zvyšujících kvalitu půdy, obsahují kaly také patogenní mikroorganismy, těžké kovy či jiné polutanty, které se poté v půdě kumulují a mohou se dostávat dále do potravního řetězce či jiných složek životního prostředí (Sighn a Agrawal, 2008). Mnoho zemí má stanovené limity rizikových látek, které smí obsahovat čistírenský kal při aplikaci na půdu. Před samotnou aplikací dochází ve vyspělých zemích k úpravám čistírenských kalů, aby došlo ke snížení koncentrace rizikových látek obsažených v kalech a zlepšení jejich vlastností. Hygienizace kalů se provádí různými metodami a může být finančně i časově náročná či neekologická. Kompostování a vermikompostování může být jednou z metod, které lze na úpravu čistírenských kalů před aplikací na půdu využít a kterou lze dosáhnout zlepšení kvality čistírenského kalu. Vermikompostování čistírenských kalů zlepšuje vlastnosti kalu, snižuje počet patogenních organismů či stabilizuje pH (Belmeskine a kol., 2020). Obsah živin ve vermikompostu závisí na vstupním materiálu, který je v procesu využit. Vermikompostování by mohlo být jednou z účinných metod úpravy čistírenských kalů, které jsou efektivní, ekonomicky nenáročné a dají se použít ve velkém měřítku.

2 Teoretická část

2.1. Čistírenský kal

Čistírenský kal vzniká při čištění odpadní vody v čistírnách odpadních vod biologickým procesem v technologii. Ke kalům lze zařadit všechny rozpuštěné i nerozpuštěné příměsi zachycené na česlích, lapácích písku a usazené v usazovacích nádržích (Šálek a Tlapák, 2006). Kaly na čistírnách je nutné zpracovat před dalším využitím či likvidací. Při zpracování kalů z čistíren se využívá zahušťování, stabilizace, hygienizace, odvodnění, vysušení či spálení. Zpracování a likvidace kalů jsou náročné z důvodu koncentrace znečištění pocházejícího z odpadních vod. Přestože se jedná o cenný zdroj organické hmoty a nutrientů pro zemědělskou půdu, rizikem může být přítomnost patogenních organismů a rizikových látek. Složení kalu závisí na jeho původu, tedy na tom, jaké je složení odpadní vody, způsobu čištění, druhu kanalizace apod. (Bindzar a kol., 2009). pH čistírenského kalu bývá neutrální až mírně zásadité, v závislosti na jeho zpracování. Kal obsahuje vysoké koncentrace dusíku, fosforu, vápníku a hořčíku. Z makronutrientů se v menší míře vyskytuje ještě draslík. Čistírenské kaly mohou obsahovat velké množství těžkých kovů, v závislosti na původu (Sighn a Agrawal, 2008). V čistírnách odpadních vod vznikají dva typy kalů - primární kal a sekundární (aktivovaný) kal. Primární kal vzniká v primárních usazovacích nádržích usazením anorganických a organických látek přítomných v odpadní vodě přitékající do čistírny odpadních vod. Tento kal je tvořen látkami, které nebyly zachyceny česlemi ani lapákem písku a obsahuje velké množství koloidních látek, díky kterým dobře váže vodu a špatně se vysouší. Sekundární kal vzniká sedimentací aktivovaného kalu z biologického čištění v dosazovacích nádržích v sekundární fázi čištění odpadních vod a je složen převážně směsí mikroorganismů, jako jsou bakterie, prvoci, houby, plísňe, vířníci, hlístice a kvasinky. Mezi bakterie, které se vyskytují v aktivovaném kalu, patří například bakterie rodu *Nitrosomonas* a *Nitrobacter*, které pomáhají odstraňovat dusík z či bakterie z rodu *Acinetobacter*, které pomáhají akumulovat fosfor z odpadních vod (Slavičková a Slaviček, 2013).

2.1.1. Využití a likvidace čistírenských kalů

Čistírenské kaly je možné využít v zemědělství jako hnojivo či se likvidují skládkováním nebo spalováním, čímž dochází ke ztrátě mnoha využitelných látek, které čistírenské kaly obsahují. V mnoha zemích světa nedochází k čištění odpadních vod nebo je s čistírenským kalem nevhodně zacházeno a dochází ke znečišťování životního prostředí. Využití

čistírenského kalu jako hnojiva může snížit spotřebu syntetických anorganických hnojiv či poskytnout makroživiny, které se do půdy obvykle nedodávají (Seleiman a kol., 2020). V ČR je skládkování čistírenských kalů zakázáno. Biologicky rozložitelný odpad je povoleno skládkovat pouze případech uvedených v příloze č. 4 vyhlášky č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady.

Pro využití čistírenského kalu v zemědělství je nutno kontrolovat složení kalu s ohledem na výskyt patogenních mikroorganismů a rizikových látek, aby nedošlo k poškození ekosystému a vstupu těchto látek do životního prostředí. V ČR dle dat dostupných z databáze Eurostat vzniká ročně okolo 220 000 tun čistírenského kalu, přibližně polovina tohoto odpadu je zemědělsky využita či kompostována, zbytek je uložen na skládky či spalován. Mezi země evropské unie (EU), které část čistírenských kalů využívají v zemědělství, se řadí Španělsko, Německo, Maďarsko a Polsko. Dle dostupných dat, dochází na území EU k nejčastější likvidaci čistírenských kalů spalováním a skládkováním (Eurostat, 2023). Kvalita kalů aplikovaných na půdu je ve většině zemí světa regulována. Na zemědělskou půdu smí být v ČR využity dle zákona č. 541/2020 Sb., o odpadech, pouze upravené kaly, aby jejich použitím nebyla zhoršena kvalita zemědělské půdy či podzemních a povrchových vod.

Před samotnou likvidací či dalším využitím je nutné čistírenské kaly zbavit nebezpečných vlastností a zajistit jejich stabilizaci, případně hygienizaci. Stabilizace se provádí fyzikálně-chemickým zpracováním, které zajišťuje nezávadnost a relativní stabilitu kalu. Při stabilizaci dochází k poklesu obsahu patogenních organismů a snížení rozložitelného organického podílu sušiny kalu. Pro stabilizaci se ve středních a velkých čistírnách odpadních vod nejčastěji využívá anaerobní stabilizace, při které vzniká bioplyn, který je dále využitelný. V menších čistírnách odpadních vod se využívá aerobní stabilizace, při které dochází k oxidaci většiny biologicky rozložitelných látek. Při použití anaerobní stabilizace je kal bez zápachu, dobře odvodnitelný a nezávadný z hygienického hlediska (Seleiman a kol., 2020).

2.1.2. Odvodňování kalu

Odvodnění kalu snižuje objem odpadu, který je nutný likvidovat. Kaly se mohou odvodňovat přirozeně, na kalových polích a lagunách, která jsou tvořena vrstvou písku na betonovém drénovaném dnu. Dochází zde k filtraci volné vody a odpařování vody do atmosféry. Jedná se o prostorově náročné zařízení, které je vhodné pro malé producenty kalu. Nevýhodou tohoto typu odvodnění je riziko kontaminace podzemních vod a jeho závislost na klimatických podmínkách (Hoffman a Novák, 1997).

Mechanické odvodnění je méně náročné na prostor, avšak kaly musí být předem upraveny agregací koloidních částic i mikročástic do makrovloček. Předúprava bývá často chemická spočívající v dávkování organických flokulantů. Odvodňování se provádí za pomoci filtrace za působení tlaku či sedimentací za zvýšení gravitačních sil. K strojnímu odvodnění se většinou používají sítopásové lisy, kaolisy, bubnové sušičky, vakuová filtrace nebo odstředivky (Slavičková a Slaviček, 2013; Bindzar a kol., 2009)

2.1.3. Způsob ověřování účinnosti hygienizace

Dle vyhlášky č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, je nutné ověřit účinnost hygienizace při zpracování biologicky rozložitelných odpadů. Účinnost musí být dle této vyhlášky ověřena při zahájení provozu zařízení, po změně technologie či při změně skladby přijímaného biologicky rozložitelného odpadu. Ověření technologie hygienizace je možné pomocí testování procesu, kdy se využívá test s vneseným organismem. Vnesenými organismy mohou být *Escherichia coli* či *Salmonella senftenberg* W775- *H₂S negativní*. U testu s vneseným organismem musí být nález na indikátorový organismus *Salmonella* negativní, u *Escherichia coli* musí dojít k poklesu o 10^5 KTJ (kolonie tvořící jednotka) a ve vzorku o hmotnosti 1 g nesmí hodnoty přesáhnout 10^3 KTJ. Další metodou, kterou lze využít k testování, je metoda vstup – výstup, kdy je pro přímou analýzu indikátorového organismu odebráno 10 vzorků na vstupu a 10 vzorků na výstupu technologického procesu.

2.1.4. Metody hygienizace čistírenských kalů

Kaly mohou obsahovat mnoho škodlivých patogenních organismů. Existují různé způsoby hygienizace, tedy procesu, který vede k jejich zahubení. Proces hygienizace se často provádí současně se stabilizací. Stabilizovaný kal je nezávadný a není náchylný k dalšímu rozkladu, je bez zápachu. Metody, díky kterým dochází k hubení patogenů, se dělí na chemické, fyzikální a biotechnologické. Metody hygienizace se často v čistírnách odpadních vod kombinují, aby byl proces hygienizace dostatečně účinný.

Chemické metody

Mezi nejčastěji využívané chemické metody patří úprava kalu vápnem, a to buď hašeným či nehašeným. Při úpravě nehašeným vápnem (oxid vápenatý, vápenec, CaO) dochází k hygienizaci díky zvýšené teplotě a pH. Při smíchání CaO s kalem dochází k chemické reakci, tzv. hašení vápna, při kterém dojde ke zvýšení teploty a alkalizaci prostředí, která vede k zničení patogenů. Při použití hašeného vápna (vápenný hydrát, Ca(OH)₂) dochází k alkalizaci prostředí, což vede k zastavení mikrobiálních procesů. Při reakcích čistírenského

kalu s vápnem dochází ke změně pH, která může ovlivnit rovnováhu mezi amonnými ionty (NH_4^+) a volným amoniakem (NH_3), které jsou přítomny v kalu a následné uvolnění amoniaku do ovzduší. Je proto nutné tyto plyny zachytit a čistit (Slavičková a Slavíček, 2013).

Fyzikální metody

Mezi používané fyzikální metody se řadí termická úprava kalů. Tato metoda využívá zvýšené teploty k zahubení mikroorganismů včetně patogenů v kalu. Kal může být vystaven vysokým teplotám pomocí technik, jako je tepelné sušení, termofilní anaerobní digesce, pasterizace nebo termofilní fáze kompostování. Při správném nastavení teploty a doby expozice lze dosáhnout účinného snižování počtu patogenů v kalu. Mezi termické metody také patří spalování, při kterém ale dojde ke ztrátě živin a dalších látek. Riziko u spalování představují také vznikající plyny, které mohou být toxické. Spalováním se snižuje objem kalů až o 90 %. Mezi fyzikální metody patří také pyrolýza. Při pyrolýze dochází za nepřítomnosti kyslíku při vysoké teplotě (800–1000 °C) k chemické destrukci organických látek a vznikají plyny (oxid uhelnatý, oxid uhličitý, vodík, metan a další uhlovodíky), kapaliny (kondenzát a vyšší uhlovodíky) a tuhý zbytek. Plyny a kapaliny se dále spalují a s tuhým zbytkem se nakládá jako s odpadem a je skládkován (Slavičková a Slavíček, 2013). Mezi fyzikální metody hygienizace lze zařadit ošetření kalu ultrazvukem či ozonem (O_3), kdy dochází k poškození buněčných stěn mikroorganismů, což vede k inaktivaci těchto patogenů. Podobnou alternativou je hygienizace UV zářením. Tato metoda se často využívá v kombinaci s jinými typy hygienizace (Lyčková a kol., 2008).

Biotechnologické metody

Mezi nejčastěji používané biotechnologické metody patří anaerobní biologická stabilizace, kdy za nepřístupu vzduchu a teplotě 30–50 °C dochází k rozkladu biologicky rozložitelných látek díky mikroorganismům. Touto metodou vzniká stabilizovaný kal obsahující zbytky anorganických a organických látek, kalová voda a bioplyn. Výhodou této metody je kvalita hygienizace a její rychlost, nevýhodou jsou limitující faktory jako je teplota procesu, pH, přítomnost živin či toxických látek, které mohou ovlivnit, že proces neproběhne. Anaerobní stabilizace je metoda vhodná pro středně velké a větší čistírny odpadních vod. Dobře stabilizovaný kal je nepáchnoucí a nezávadný a vhodný k využití jako hnojivo (Bindzar a kol., 2009).

Další metodou je aerobní stabilizace kalu. Při této metodě dochází k působení aerobních organismů, které rozkládají organické látky. Dochází zde k oxidaci organické hmoty na oxid

uhličitý a vodu. Působením mikroorganismů může probíhat autotermní termofilní reakce při které vzniká teplo, okolo 55 °C. Tato teplota účinně usmrcuje patogeny. Tato metoda je často využívána v malých čistírnách odpadních vod.

Česká odpadová legislativa je však v mnoha ohledech přísnější, než doporučení EU, a proto část kalů aerobně nebo anaerobně stabilizovaných nesplňují podmínky pro přímou aplikaci na zemědělskou půdu a je nutné je dále upravovat.

Mezi metody hygienizace se řadí také kompostování čistírenského kalu. Kompostování je aerobní proces, kdy u organických látek dojde k rozkladu a přeměně na látky humusové. Kompostování funguje na principu interakce mikroorganismů, vzduchu a organických látek, při které dochází ke vzniku kompostu, uvolňování tepla (termofilní fáze), vody a oxidu uhličitého. Problémem při kompostování je tekutost kalů a také úzký poměr C:N. Vhodnými pro kompostování jsou kaly odvodněné, smíšené například s jiným odpadním materiálem jako jsou dřevěné piliny či biomasa. Kompostování má tři fáze – fázi rozkladu (termofilní fázi), při které je díky nárůstu teploty až na 70 °C zajištěna mineralizace a nitrifikace a také hygienizace; fázi přeměnou, při které klesne teplota a dochází ke ztrátě fytotoxicity a snížení hmotnosti; a třetí fázi, fázi dozrávání kdy se vyrovnává teplota na hodnotu okolí a dochází k tvorbě kvalitního humusu (Plíva a kol., 2016).

2.1.5. Aplikace upravených čistírenských kalů na půdu

Upravený čistírenský kal je možné aplikovat na půdu jako hnojivo. Aplikace čistírenského kalu na zemědělskou půdu v ČR podléhá kontrole a je nutno, aby upravený čistírenský kal splňoval technické podmínky stanovené ve vyhlášce č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady. Aplikace čistírenského kalu na půdu je omezena mezními hodnotami rizikových látek a přípustným množstvím na jeden hektar zemědělské půdy a proto je možná až po úpravě kalů. Tato úprava smí probíhat pouze v čistírnách odpadních vod, produkujících konkrétní kal či v zařízení na úpravu čistírenských kalů. V ČR je dle § 69 odstavce 3a až 3m, zákona o odpadech využití čistírenských kalů na mnoha místech, například na zemědělské půdě v chráněných územích či v ochranných pásmech vodních zdrojů, zakázáno (Zákon č. 541/2022 Sb., o odpadech).

2.1.6. Výhody aplikace čistírenských kalů na půdu

Aplikace čistírenských kalů na půdu vede ke zvýšení produkce, a to hlavně díky množství živin a látek, které kal obsahuje. Čistírenský kal je ale špatným zdrojem draslíku a při dlouhodobém využívání čistírenského kalu jako hnojiva, ho může být v zemědělské půdě

nedostatek. Čistírenský kal obsahuje mnoho látek, velká část z nich jsou makroživiny, které mohou být dále využity jako je dusík, fosfor, uhlík, vápník, mangan, v menší míře také draslík a dále esenciální stopové prvky jako je bor, měď, železo, nikl či zinek, ale dále se zde vyskytuje mnoho polutantů (Seleiman a kol., 2020). Při aplikaci do půdy se zlepšují vlastnosti půdy jako např. pórovitost, objemová hmotnost, zvýšení mikrobiální aktivity a aktivity půdních enzymů díky vyšší dostupnosti organické hmoty a živin či schopnost zadržet vodu (Sighn a Agrawal, 2008). Castro a kol. (2009) ve svém pokusu zjistili, že aplikace čistírenského kalu na půdu způsobila zvýšení úrodnosti půdy, avšak současně vedla k vyšší kontaminaci mikroorganismy. Pěstovaná plodina obsahovala zvýšené koncentrace dusíku (N) a fosforu (P), a při použití tohoto druhu hnojiva došlo k výraznému zlepšení agrochemických vlastností půdy, včetně zvýšení množství organické hmoty a živin. Čistírenský kal je dobrým zdrojem fosforu, který je jednou ze surovin, která se pomalu stává kritickou, avšak při aplikaci čistírenských kalů na půdu často dochází k vyplavování dostupného fosforu do vodního prostředí a dochází tak k eutrofizaci vod. Hnojení čistírenským kalem je jedním ze způsobů recyklace fosforu v životním prostředí, čistírenský kal můžeme aplikovat přímo, což však přináší rizika v podobě aplikace dalších látek a patogenů, jak je uvedeno v další kapitole, či může projít úpravou, která ovšem může zhoršit biologickou dostupnost fosforu (Adam a kol., 2009; Liu a kol., 2019; Havukainen a kol., 2016; Liang a kol., 2011)

2.1.7. Nevýhody aplikace čistírenských kalů na půdu

Při aplikaci čistírenských kalů na půdu se do půdy dostávají patogenní mikroorganismy, těžké kovy, perzistentní organické polutanty a tzv. emergentní polutanty, kam patří např. endokrinní disruptory, zbytky léčiv a kosmetických přípravků, ale také mikroplasty obsažené v čistírenských kalech (Bindzar a kol., 2009, Ragoobur a kol., 2022). Problémem při častém používání kalů je jejich akumulace v půdě, což pak může vést i k jejich hromadění se v potravním řetězci. Různé těžké kovy se hromadí v různých částech rostlin a mohou se tak dostávat do potravního řetězce. Uvolňování těžkých kovů závisí i na pH půdy do které jsou aplikovány (Sighn a Agrawal, 2008).

2.1.8. Rizikové látky obsažené v čistírenských kalech

Mezi nejčastější polutanty patří patogenní mikroorganismy, těžké kovy (kadmium, arsen, chrom či olovo), perzistentní organické polutanty, endokrinní disruptory, zbytky léčiv a kosmetických přípravků (Bindzar a kol., 2009). Pozornost se v poslední době zaměřuje také na perfluorované látky, tzv. věčné chemikálie (Navaro a kol., 2011) a mikroplasty, které se při

procesu čištění odpadních vod koncentrují v čistírenských kalech (van den Berg a kol., 2020). Jednotlivé polutanty mají různé vlastnosti. Hydrofobní látky, mezi které řadíme například polychlorované bifenylly, polyaromatické uhlovodíky či polychlorované dibenzo dioxiny a dibenzofurany se usazují a kumulují v čistírenských kalech a mohou představovat nebezpečí při aplikaci na půdu, kdy v aerobním prostředí mohou podléhat dalšímu rozkladu. Odpadní vody obsahují také léčiva, která se dále akumulují v čistírenském kalu, např. protizánětlivé léky (ibuprofen), hormony (estrogen), antibiotika a další (Seleiman a kol., 2020). Všechny tyto látky mohou představovat hrozbu znečištění půdy či podzemní a povrchové vody, a proto je nutné sledovat kvalitu a látky obsažené v čistírenských kalech, před jejich dalším využitím či aplikací. Jednotlivé sledované polutanty jsou detailněji popsány v dalším textu.

Těžké kovy jsou jedním ze základních polutantů obsažených v čistírenských kalech. Hromadění těchto látek v prostředí je dáno tím, že se jedná o látky, které nejsou odbouratelné. Těžké kovy tak představují riziko pro životní prostředí a lidské zdraví. V ČR jsou při aplikaci kalů na zemědělskou půdu sledovány následující rizikové prvky:

Kadmium (Cd) je kovový prvek, odolný korozi, jenž se v prostředí vyskytuje v malém množství. Jedná se o prvek, jenž je vysoce kumulativní v potravním řetězci. Je velmi podobný zinku, jenž je esenciálním kovem pro organismy, což vede k jeho snadnému pronikání a poškození organismů. Běžným oxidačním stavem je +II, ale vyskytuje se i v oxidačním stavu +I. Jeho sloučeniny jsou velmi jedovaté. Využívalo se na protikorozi ochranu železa, jako pigmentové barvivo či jako stabilizátor řady plastových materiálů. Dnes se jeho využití regulováno a využívá se například jako součást nikl/kadmiových baterií a akumulátorů či v eлектropokovování a laboratorních přístrojích. Do životního prostředí vstupuje kadmium různě, do ovzduší díky spalování fosilních paliv a odpadů, do vody uvolňováním z odpadních vod, do půd hnojením fosfátovými hnojivy, ve kterých je zbytkově obsaženo. Pro lidský organismus je kadmium nebezpečné akumulací v ledvinách, tělo ho špatně vylučuje (Petrлік a Válek, 2010).

Arsen (As) je prvek, jenž má vlastnosti kovů i polokovů. Sloučeniny tohoto prvku jsou vysoce toxické chemické látky, elementární arsen nikoliv. V přírodě se arsen přirozeně vyskytuje z vulkanické činnosti a půdní eroze, hlavním antropogenním zdrojem je spalování fosilních paliv, těžba a zpracování rud, textilní, koželužný a barvířský průmysl, důlní vody či některé insekticidy a herbicidy. Arsen má dobrou schopnost bioakumulace v potravním řetězci, obsahují ho rostliny či mořské plody. Vysoké koncentrace arsenu jsou pro lidský organismus akutně toxické, nízké vedou k chronickým otravám (Havel a Válek, 2010).

Chrom (Cr) je křehký, v přírodě přirozeně se vyskytující kov, využívaný pro tvorbu korozivzdorných tvrdých slitin, při výrobě barev, v kožedělném průmyslu či k ochraně dřeva. Chrom je velmi chemicky odolný a vyskytuje se v oxidačních stavech od -II do +VI. Chrom je nejstálější v oxidačním čísle +III. V tomto oxidačním čísle se přirozeně vyskytuje v životním prostředí, kde je nezbytný pro metabolismus savců (pomáhá působení inzulínu). Chrom v oxidačním čísle +VI vykazuje silné oxidační účinky. Do životního prostředí se chrom dostává lidskou činností, a to spalováním fosilních paliv nebo odpadů, z textilní výroby či zpracování kůží. Chrom se řadí mezi karcinogenní prvky (Petrlik a kol., 2010).

Rtuť (Hg) je za normální teploty a tlaku kapalný kov, jenž je toxický pro bílkoviny v buňkách. V zemské kůře se přirozeně vyskytuje velmi vzácně. Rtuť vytváří velmi snadno slitiny s jinými kovy kromě železa, se kterým slitiny nevytváří. Běžným oxidačním čísly, ve kterých se vyskytuje, jsou +I a +II výjimečně se vyskytuje v oxidačním čísle +III. Rtuť a její sloučeniny jsou především využívány v průmyslové výrobě. Velké množství rtuti je spotřebováno při elektrolytické výrobě chloru a alkalických hydroxidů. Rtuť má schopnost snadno reagovat se zlatem a stříbrem, a proto se používá při tzv. amalgamací, což znamená získávání zlata nebo stříbra ze směsí látek, kde rtuť plní funkci katody. Rtuť se nachází v malých bateriích a je běžnou součástí elektrických výbojek a zářivých trubec. Nachází své uplatnění v měřicích přístrojích, jako jsou teploměry a tlakoměry, a v analytických technikách, jako je polarografie. Rtuť může být přítomna v hnojivech a pesticidech a slouží jako ochranná složka v různých nátěrech. Je však důležité zdůraznit, že rtuť je velmi toxická látka, která může způsobit poškození nebo porušení struktury bílkovin v buňkách. Organické sloučeniny rtuti mají výjimečnou schopnost hromadit se v organismech a mohou se šířit potravním řetězcem. Rtuť může vstoupit do lidského těla prostřednictvím inhalace, trávicího systému a absorpce pokožkou. Její eliminace z těla může trvat několik let. Přirozeně se rtuť dostává do životního prostředí vulkanickou činností. Primárním zdrojem rtuti v prostředí z lidské činnosti je spalování fosilních paliv, dále se do prostředí dostává prostřednictvím odpadních vod a nakládání s odpady. V atmosféře je rtuť mobilní a má schopnost kontaminovat i vzdálené oblasti. Postupně se ukládá na povrchy během suchých i mokrých depozic. V půdě zpravidla zůstává na místě, neproniká do podzemních vod, ve vodním prostředí sedimentuje. Díky mikrobiální aktivitě může dojít k tvorbě vysoce toxických organických sloučenin s tendencí hromadit se v potravních řetězcích (Petrlik a Válek, 2010).

Měď (Cu) je přirozeně se vyskytující kov s načervenalým odstínem, který má výbornou elektrickou a tepelnou vodivost. Vyskytuje se v zemské kůře, avšak v relativně omezeném

množství. Hlavní oblastí využití mědi je v elektrotechnice, kde se používá k výrobě elektrických vodičů a elektronických komponent. Dále se měď uplatňuje v průmyslu pro výrobu kabelů, elektromotorů, relé, elektromagnetů, a vytváří korozivzdorné slitiny, jako je bronz. Kromě toho najde své místo i v oblasti stavebnictví a výroby různých zařízení, včetně kuchyňského nádobí. Měď je také součástí některých pigmentů. V zemědělství se využívají antimikrobiální vlastnosti mědi, zejména sloučenin s dvoumocnou mědí, která je účinná proti řasám, houbám a bakteriálním infekcím u rostlin. Měď je pro živé organismy důležitá v stopových koncentracích. Při vyšších koncentracích může mít negativní vliv na zdraví, a to na poškození jater, ledvin či vzniku anémie. Měď se vyskytuje v životním prostředí přirozeně. Zvýšené koncentrace antropogenního původu jsou časté v oblastech poblíž průmyslových závodů zpracovávajících měď. Ještě vyšší hladiny mědi lze nalézt v oblastech, kde se měď těží. V životním prostředí se měď obvykle pohybuje ve formě tuhých částic ve vzduchu nebo se rozpouští v přírodních vodách. Většina emisí mědi do ovzduší, vody, sedimentů a půdy obvykle rychle reaguje s pevnými částicemi, což výrazně snižuje její toxicitu (Kleger a Válek, 2010).

Nikl (Ni) je stříbřitě šedý kov, který je tvrdý, ale zároveň kujný. Jeho významnou vlastností je schopnost vedení elektrického proudu a odolnost vůči korozi. Nikl hraje klíčovou roli jako součást enzymů a proteinů, je v malých množstvích nezbytný pro normální funkci bakterií, rostlin a živočichů. Přestože je v určité míře pro organismy důležitý, příliš vysoký příjem niklu může způsobit toxické účinky. V přírodě se často vyskytuje společně s dalšími prvky, jako je síra a železo. Jeho přirozenými zdroji jsou sopečná aktivita, lesní požáry, eroze půdy a odpařování z mořské vody. Lidé zvyšují množství niklu v životním prostředí zejména prostřednictvím průmyslových procesů, těžby rud, metalurgických operací a spalováním fosilních paliv a odpadů. Nikl se nachází všude kolem nás v životním prostředí a většina z něj je vázána v půdním profilu, často se pojí s atomy železa a hořčíku. Převažujícím oxidačním stavem je +II, ale v komplexních sloučeninách může existovat i v oxidačních stavech 0, +I a +III. Hlavní využití niklu je výroba různých slitin, existuje jich více než tři tisíce. Pokud jde o vliv niklu na ekosystémy, jedná se o esenciální prvek a jeho malé množství je potřebné pro normální růst a rozmnožování některých živočichů. Nikl a jeho sloučeniny vykazují vysokou akutní toxicitu a chronickou toxicitu pro vodní organismy. Toxicita niklu může být výrazně ovlivněna tvrdostí vody. Voda s nižší tvrdostí může zvyšovat riziko znečištění niklem. Vliv niklu na rostliny a suchozemské organismy stále není dostatečně prozkoumán, ale zatím neexistují dostatečné důkazy o jeho schopnosti akumulace v živých organismech. Nikl je v

prostředí běžně přítomen a vyskytuje se přirozeně. Nalézáme ho v půdě, vodě, potravinách a může být emitován například během sopečných erupcí. Antropogenním zdrojem niklu v prostředí je spalování fosilních paliv, ale také průmyslové procesy a těžba niklových rud (Kleger a kol., 2010).

Olovo (Pb) je lesklý kujný kov, přirozeně se vyskytující v zemské kůře, kde se nejčastěji vyskytuje ve sloučeninách. Olovo v prostředí většinou nedegraduje a má velkou schopnost bioakumulace v potravním řetězci. Jedná se o špatný vodič elektrického proudu a dobře odolává korozi. v přírodě se vyskytuje přirozeně a jeho množství neustále narůstá, neboť je koncovým stadiem rozpadu radioaktivního uranu a thoria, avšak elementární olovo je vzácné a často se vyskytuje ve sloučeninách, nejběžněji jako sulfid olovnatý (PbS). Hlavním antropogenním zdrojem je těžba, rafinerie, pigmenty do barev, chemický průmysl, výroba pesticidů, výroba olověných akumulátorů a spalování fosilních paliv. Olovo bylo využíváno ve sloučenině tetraethylolovo jako aditivum v benzínu, dříve také bylo hojně využíváno jako materiál k výrobě olověných trubek, využívaných k rozvodům vody, či pro výrobu produktů denního využití jako jsou šperky, nádobí, mince. Olovo se využívá ve výrobcích, u kterých je potřeba zajistit odolnost vůči rentgenovým a gama paprskům. Nejčastěji se vyskytuje v oxidačním čísle +II a +IV. Olovo je nemobilní v půdě, ve vodním prostředí se váže na pevné částice a sedimenty. Kontaminace životního prostředí je tedy nejčastější díky atmosférické depozici z primárních zdrojů, půda je kontaminována olovem také z domovních odpadů, hnojiv či aplikací čistírenských kalů na půdu. Olovo má vliv na lidský organismus hlavně při dlouhodobé expozici, ovlivňuje imunitní systém, ledviny, trávicí a reprodukční soustavu a při vyšších dávkách se hromadí v kostech, játrech a ledvinách (Havel a kol., 2010).

Zinek (Zn) je středně tvrdý, křehký kov přirozeně se vyskytující v zemské kůře a to pouze ve sloučeninách, nejčastěji jako sulfid zinečnatý (ZnS, sfalerit). Jedná se o kov, nejčastěji se vyskytující v oxidačním čísle +II, který je dobrým vodičem elektrického proudu. Pro živé organismy se jedná o esenciální prvek, nezbytný pro řadu enzymů, podporuje funkce imunitního systému, avšak rizikem je jak jeho nedostatek, tak nadbytek. Nízký příjem zinku pro organismy vede k vývojovým a růstovým poruchám, nadbytečný příjem k poruchám trávicí soustavy či poruše krevního systému a slinivky. Zinek je využíván na antikorozi úpravu kovových povrchů, dále je již dlouho znám a využíván ve slitině s mědí (mosaz), v zinkouhlíkových bateriích, v barvách, nátěrech, v potravinářství, kosmetice či farmacii. Antropogenními zdroji zinku jsou převážně těžba a metalurgie a následný zpracovatelský průmysl či také spalování fosilních paliv a odpadů. Zinek v prostředí je vázán na pevné

částice, ve vodě sedimentuje, v půdě je zinek většinou pevně vázán, avšak v závislosti na vlastnostech půdy se může dostávat i do vod podzemních (Havel a kol., 2010).

Mezi organické sloučeniny, jejichž přítomnost v kalu je nežádoucí, patří sledované polychlorované bifenyly (PCB), polyaromatické uhlovodíky (PAU), halogenové organické sloučeniny (AOX). Dále pak emergentní polutanty, jako jsou léčiva a prostředky denní spotřeby. V posledních letech se stávají problémovými také mikroplasty a tzv. „nesmrtelné chemikálie“ neboli perfluorované organické látky (PFAS).

Polychlorované bifenyly (PCB) jsou syntetické organické sloučeniny vyráběné a využívané v minulém století. Jedná se o látku, u které jsou vodíkové atomy na bifenylovém jádře nahrazeny atomy chloru. Počet atomů chloru v molekule může být v rozmezí 1–10 a díky různým polohám umístění může existovat 209 izomerů (kongenerů) PCBs. Jedná se o chemicky velmi stabilní, teplotně odolné, nehořlavé látky, nevodící elektrický proud, které byly součástí impregnačních materiálů, barev, lepidel, vosků, aditiv cementů a omítek, těsnících kapalin, plastifikátorů, pesticidů či sloužily jako inhibitory hoření, využívaly se v transformátorech, jako dielektrické kapaliny v kondenzátorech, jako teplonosná média či jako hydraulické kapaliny. PCB mají schopnost velmi dobře se kumulovat v potravních řetězcích, velmi dobře se kumulují v tukách a tukových tkáních organismů. Nebezpečnost těchto látek je v kumulaci v potravním řetězci a chronickém působení. Tyto látky mají teratogenní a karcinogenní účinky, mají negativní vliv na krevní oběh, reprodukci a mohou působit také mutagenně. V životním prostředí je sledováno 7 kongenerů (28, 52, 101, 118, 138, 153 a 180). Jedná se o látky zcela vytvořené člověkem, dostávají se do prostředí v důsledku požárů a úniků z uzavřených systémů jako jsou transformátory, kondenzátory a další či z barev, omítek a také spalováním odpadů s PCB. Rozpustnost PCB ve vodě je velmi nízká, dochází ke kumulaci v sedimentech a půdách, lépe se akumulují v sedimentech a půdách s vyšším obsahem organických látek a také dochází ke kumulaci v potravním řetězci. Rozklad těchto látek probíhá velmi pomalu (Petrлік a Válek 2010; Strek a Weber, 1982).

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU/PAHs) jsou látky tvořené uhlíkem a vodíkem ve formě benzenových jader, jsou přirozenou součástí životního prostředí a až na výjimky se cíleně nevyrábí, avšak jsou součástí řady průmyslových výrobků. Přirozeně vznikají spalováním a nedokonalým hořením jakékoliv organické hmoty a některé z látek mají vysoký bioakumulační potenciál. Jedná se o látky, které jsou špatně rozpustné ve vodě, avšak jsou velmi dobře rozpustné v tukách, jsou to látky chemicky stálé a potenciálně těkavé. Řadí se

mezi lidské karcinogeny, poškozují ledviny a játra a u zvířat mohou mít vliv na reprodukci a vývoj. Antropogenním zdrojem znečištění těmito látkami je spalování fosilních paliv, spalování odpadů, průmyslová výroba a požáry. Mezi nejznámější látky řadící se do skupiny PAU patří naftalen, antracen, pyren, či například benzo(a)pyren. PAU se vyskytují prakticky ve všech složkách životního prostředí, vážou se z ovzduší na prachové částice, usazují se a vážou na půdu, ve které jsou málo pohyblivé, ve vodě dochází k vazbě na sedimenty (Havel a Válek, 2010).

Halogenové organické sloučeniny (AOX), je široká skupina organických látek, které obsahují jeden z prvků halogenové skupiny (fluor, chlor, brom, jod, astat). Označují se písmeny AOX, znamenající “Adsorbable organically bound Halogens”, tedy adsorbovatelné organicky vázané halogeny. Jelikož tato skupina obsahuje velké množství látek, nedají se vlastnosti všech popsat obecně jako u výše uvedených látek. Obecně se jedná o látky toxické pro vodní organismy, které mají velkou schopnost bioakumulace. V přírodě se většina těchto látek nevyskytuje přirozeně, zdrojem těchto látek je průmysl, např. zpracování papíru a celulózy, bělení látek, spalování odpadu, chlorování pitné vody, výroba chladících kapalin, úpravy kovů, výroba rozpouštědel, pesticidů. Mezi tyto látky se řadí např. dioxiny, polychlorované bifenylly, perfluorované sloučeniny, freony, polybromované zhaševače hoření, chlorované etyleny a další. Pro tyto látky jsou stanovené limity v odpadních vodách nebo odpadech a některé látky jsou již také regulovány (Válek, 2010; Xie a kol., 2018).

Léčiva a látky denní spotřeby (PPCPs, pharmaceuticals and personal care products) jsou látky, využívané pro zdraví či kosmetické účely. Jedná se o velké množství látek, pro které jsou jen těžko nastavitelné limity, mnoho z nich má vysokou biologickou aktivitu a část z nich je regulována. Jedná se o látky, jako jsou léčiva, diagnostické látky, potravinové doplňky či chemikálie z přípravků osobní hygieny. Zdrojem v životním prostředí jsou emise z výroby, lidská aktivita, nesprávné zacházení, exkrece či zemědělství. Tyto látky se dostávají zejména do vodních ekosystémů, jsou detekovány v povrchových i spodních vodách, odpadních vodách, na skládkách, v půdách a sedimentech a také v čistírenských kalech. Nejvíce sledovanými látkami z této skupiny jsou léčiva jako např. analgetika, antibiotika, betablokátory, steroidní hormony a další. Tyto látky mohou představovat různá rizika v životním prostředí, být zdrojem rezistence některých organismů na léčiva, mohou působit jako endokrinní disruptory, mít karcinogenní účinky, mohou být toxické pro některé organismy, akumulovat se v potravním řetězci a také může docházet k rozkladu na látky, které mohou být pro dané prostředí toxičtější. Tyto látky se také hromadí v čistírenských

kalech, které mohou být dále využity a tím se dostávají do životního prostředí (Buchberger, 2011; Holtz, 2006; Seleiman a kol., 2020).

Mikroplasty jsou plastové částičky menší než 5 mm. Mikroplasty vznikají sekundárně mechanickým opotřebením, nebo jinou degradací plastových výrobků či jsou přímo vyráběny a používány jako součásti barev, kosmetiky, čisticích prostředků. Významným zdrojem mikroplastů v prostředí jsou úlomky z pneumatik či syntetická vlákna uvolňující se při praní oblečení. Mikroplasty se nachází ve všech složkách životního prostředí a dostávají se do potravního řetězce. Mikroplasty vyvolávají mnoho otázek ohledně své toxicity, mají možnost působit na organismy jako fyzikální částice či na sebe absorbovat toxické chemikálie. Velké množství mikroplastů se dostává do odpadních vod (z kosmetických a čisticích přípravků, kumulací ve stolici atd.). Při čištění odpadních vod se většina těchto mikroplastů odstraní, akumuluje se v čistírenských kalech, které se často po stabilizaci dále využívají, a tak se mikroplasty mají šanci dále dostat zpět do životního prostředí (Pivokonský a kol., 2020; Novotná a kol., 2019; Andrary, 2011; van den Berg a kol., 2020).

Perfluorované a polyfluorované sloučeniny (PFAS), jsou velkou skupinou organických látek, které uměle vytváří člověk od 50. let 20. století. Jedná se o perzistentní látky, s velmi silnou vazbou mezi uhlíkem a fluorem, které jsou využívány v průmyslu i domácnostech např. látky odpuzující vodu v papírových obalech nebo oblečení (gore-tex), látky způsobující nepřílnavost teflonového nádobí, nalezneme je také v hasících pěnách, hydraulických kapalinách, v mazivech a barvách. Některé látky z této skupiny jsou rozpustné ve vodě, některé jsou těkavé a šíří se vzduchem, dostávají se do potravních řetězců, kontaminují zdroje pitné vody. Někteří zástupci PFAS jsou již zakázány či je jejich výroba omezena Stocholmskou úmluvou o perzistentních organických polutantech. Jedná se o látky všudypřítomné v životním prostředí, bodovými zdroji jsou např. letiště a vojenská cvičiště, kde se využívají k hašení hasící pěny s obsahem PFAS (Straková, 2020; Juhasz a kol. 2023).

2.1.9. Patogenní organismy v čistírenských kalech

Patogenní organismy jsou dalším sledovaným parametrem u čistírenských kalů a odpadních vod. Jedná se o viry, bakterie, prvoky a parazitické červy, které mohou způsobit onemocnění. Jedná se např. o bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* (salmonely a shigely), z virů např. enteroviry, rotaviry a nebo střevní paraziti jako např. motolice, škrkavky, tasemnice a další (Adámek a kol., 2010). Patogenní organismy jsou sledovány z důvodů nakládání s odpadními vodami a využitím čistírenských kalů. Patogeny se mohou uvolňovat do ovzduší, půdy, vody,

potravy a tím způsobovat šíření nemocí, znehodnocení zdrojů pitné vody či změnu vodních ekosystémů. Tyto organismy mají silnou schopnost trvale se přizpůsobit změnám prostředí a mohou tak přežít i některé stabilizační metody. Pro určení, zda se v dané odpadní vodě či čistírenském kalu vyskytují tyto organismy, se využívají indikátorové organismy, které se vyskytují v tomto prostředí ve velkém množství a jsou odolnější vůči vnějším vlivům. Mezi indikátorové organismy, nejčastěji využívané k určení přítomnosti patogenních organismů se řadí *Escherichia coli*, která je zástupcem čeledi Enterobacteriaceae. *Escherichia coli* (*E.coli*) je bakterií běžně se vyskytující ve střevech teplokrevných zvířat a člověka. Většina kmenů této bakterie je neškodná a podílí se na trávicím procesu, avšak některé z kmenů. *E.coli* mohou vyvolávat průjemová onemocnění. Jedná se o gram negativní, fakultativně anaerobní bakterii, využívanou ve vědeckém výzkumu jako indikátorový organismus. Tato bakterie je využívána jako indikátorový organismus ukazující znečištění fekáliemi, jelikož je příbuzná jiným druhům bakterií, avšak je odolnější při zpracování čistírenských kalů (Arthurson, 2008).

2.2. Vermikompostování

Vermikompostování je metoda zpracování organického materiálu, při které se využívá schopnosti žížal přeměnit tento materiál na stabilní produkt, takzvaný vermikompost. Dochází zde k intenzivní činnosti žížal a mikroorganismů, které napomáhají rozkladu tohoto materiálu. Žížaly jsou zde klíčovým organismem, rozmělnují organický materiál, zajišťují provzdušnění materiálu a jeho fragmentaci. Vermikompostování nezahrnuje termofilní fázi, nedochází zde tedy k hygienizaci teplem jako u klasického kompostování. Ideální pro proces vermikompostování je teplota v rozmezí 10–25 °C, při teplotách nižších než 10 °C či naopak vyšších než 25 °C se snižuje produktivita procesu. Při teplotách vyšších než 35 °C začínají žížaly hynout, proto není možné při vermikompostování využívat termofilní fázi. Vhodnějšími substráty pro vermikompostování jsou substráty s již částečně rozloženou organickou hmotou než čerstvé suroviny. Vhodné jsou substráty s poměrem C:N 20–25:1 (Plíva a kol., 2016).

Nejčastějšími druhy žížal, které se k vermikompostování využívají, jsou epigenické žížaly, které jsou detritivorní, a to například žížala kalifornská (*Eisenia andrei*), žížala hnojní (*Eisenia fetida*) či *Eudrilus eugeniae* (Singh a kol., 2020). Žížaly mají velký vliv na přítomnost rozkladných mikroorganismů a díky tomu dochází k rychlému rozkladu organické hmoty (Monroy a kol., 2008). Mikroorganismy, které žijí ve střevech žížal, napomáhají rozkladu

látek, dochází zde k zvýšení dostupnosti živin pro další mikroorganismy a také k snížení počtu koliformních bakterií. Monroy a kol. (2008) ve své studii uvádí, že došlo ke snížení počtu koliformních bakterií v prasečí kejďě 60krát oproti vstupnímu vzorku. Žížala je živočich, řadící se do kmene kroužkovců (lat. *Anelida*), do třídy maloštětinatci (lat. *Oligochaeta*). Jedná se hermafroditní živočichy, dožívající se jednoho až šesti let, v závislosti na jejich prostředí. Dýchají celým povrchem těla a obsahují 70–90 % vody, což má vliv i na to, že potřebují pro svůj život dostatečně vlhké prostředí s vlhkostí kolem 80 % a dostatkem vzduchu. Jsou citlivé na obsah amoniaku, bílkovin a pesticidů a také preferují neutrální pH. Díky vápenatým žlázám v jícnu mají schopnost zpracovávat i kyselý materiál (Plíva a kol., 2016).

Vznikajícím materiálem je vermikompost a také kapalný výluh, které obsahují mnoho živin. Vermikompost je velmi kvalitní materiál, který se dále může využít k hnojení. Po jeho aplikaci na půdu dochází ke zlepšení výnosu a dodání živin do půdy (Singh a kol., 2020). Při vermikompostování dochází ke snížení celkového množství uhlíku ve vermikompostovaném materiálu, což vede k mineralizaci a stabilizaci organické hmoty (Sharma a Garg, 2017). Dále dochází ke zvýšení obsahu dostupného fosforu pro rostliny, což může být využitelné v zemědělství. Uvolňování fosforu v dostupných formách je způsobeno přítomností enzymu fosfatáza ve střevech žížal (Suthar, 2010). Indikátorem zralosti vermikompostu může být poměr C:N, jako uspokojivý stupeň zralosti a ukazatel pokročilého stupně stabilizace organické hmoty můžeme považovat poměr $C:N < 20$ (Lim a kol., 2015). Na zralost a mineralizaci může ukazovat také pokles organického uhlíku během vermikompostování. Snížení poměru C:N ve finálním vermikompostu ukazuje na účinnou mineralizaci a rozklad výchozích surovin. Indikátorem zralosti může být také pokles pH z alkalického na neutrální, kdy změna pH ke kyselému či neutrálnímu pH může být jedním z důsledků tvorby organických kyselin a mineralizací organického odpadu, které vedou k produkci amonných iontů a huminových kyselin. Ukazatelem zralosti kompostu může být také index klíčivosti semen, který se používá také k hodnocení toxicity (Bhat a kol., 2017). Raj a Antil (2011), uvádí, že index klíčivosti semen, který je vyšší než 70 % značí dobrou zralost vermikompostu.

Vermikompostování je v ČR jedna z možností likvidace biologicky rozložitelného odpadu. Vyhláška č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, upravuje, jaké biologicky rozložitelné odpady lze ve vermikompostárnách zpracovávat a jaké podmínky je pro to nutné splnit. Biologicky rozložitelné odpady, jež lze ve vermikompostárnách zpracovávat, jsou vyjmenované v příloze č. 25 v tabulce 25.3 této vyhlášky a jsou jimi například odpad

rostlinných pletiv, dřevo, papírové a lepenkové obaly, piliny, hobliny, odpadní kůra, biologicky rozložitelný odpad z kuchyní a stravoven rostlinného původu, ale také zvířecí trus, moč a hnůj či kaly z čištění komunálních odpadních vod, pokud bylo v technologickém procesu zpracování zařazeno předkompostování či byla ověřena technologie z hlediska účinnosti hygienizace a pravidelně probíhá ověřování limitních hodnot indikátorových organismů. Vermikompostárna musí být dle této vyhlášky vybavena násadou epigeických žížal, zařízením ke sledování teploty, zvlhčovacím zařízením, musí být vodohospodářsky zabezpečena, aby nedošlo k úniku do podzemních a pozemních vod a také musí být vybavena zařízením pro zajištění aerobního prostředí (Vyhláška č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady).

Vermikompostování ve větším měřítku probíhá často v pásových hromadách, kdy na základní hromadu s násadou žížal je z boku či z vrchu přidáván materiál, který je určen k vermikompostování. Žížaly se z již zpracovaných vrstev přesouvají do vrstev s nezpracovaným materiálem a ty poté zpracovávají. Zpracováváný materiál je nutné přidávat v takových vrstvách, aby nedocházelo k zahřívání materiálu a kompostovací fázi s teplotou vyšší než 35 °C, která by žížaly zahubila. Do pásových hromad je optimální dodat cca 50 tisíc jedinců žížal na m² plochy, je nutné sledovat dostatečnou vlhkost a teplotu a přidávat nové materiály ke zpracování. Jedná se o levnou a technicky jednoduchou metodu, kterou je možné zpracovat biologicky rozložitelný materiál, mezi nevýhody této metody patří možné vlivy povětrnostních podmínek, např. v zimě může dojít k promrznutí násady a zastavení procesu vermikompostování, čemuž jde ale zabránit správně založenou zakládkou s dostatečnou velikostí. Mezi další nevýhody této metody je konečné zpracování produktu, kdy je nutné oddělit žížaly od hotového vermikompostu. Tento problém jde vyřešit odebráním nejnověji dodaného materiálu, ve kterém se nahromadila původní násada či založením nové hromady v blízkosti té první, kdy dojde k migraci žížal do nové zakládky (Plíva a kol., 2016).

2.2.1. Enzymy ve vermikompostu

Enzymy jsou specifické bílkoviny, které vznikají uvnitř živých buněk a katalyzují biologické reakce. Jednotlivé enzymy provázejí metabolické děje při rozkladu organické hmoty. V následujícím textu jsou detailněji popsány enzymy, jejichž aktivita byla měřena v rámci praktické části této práce.

Kyselá fosfatáza provází mineralizaci organického fosforu a vede k lepší dostupnosti fosforu v materiálu pro rostliny a mikroorganismy. Jedná se o enzym spadající pod

fosfomonoesterázy, které obecně katalyzují hydrolýzu monoesterů a anhydridů kyseliny fosforečné díky čemuž dochází k mineralizaci organického fosforu. Ovlivňuje pH v procesu vermikompostování, neboť hydrolýzou fosfátových sloučenin dojde k uvolnění vodíku a snížení pH v substrátu. Kyselá fosfatáza obecně napomáhá přeměnit organický materiál na lépe dostupné živiny pro další organismy (Horáková a Němec, 2003, Šarapatka a Čáp, 2013).

Arylsulfatáza pomáhá mineralizaci organické síry, katalyzuje hydrolýzu sulfátových esterů, štěpí sulfátové vazby, čímž uvolňuje sulfátové ionty a tím přispívá k mineralizaci organické síry. Vzniká převážně činností hub a bakterií. Jedná se o enzym, který je důležitý pro metabolický rozklad a recyklaci sulfátových sloučenin (Xiangzhen a Pariente, 2003).

β -D-glukosidáza, enzym celulóza katalyzuje hydrolýzu celulózy na D-glukózu, díky tomuto enzymu dochází ke štěpení složitých vazeb např. oligosacharidů na jednodušší cukry, které mohou být dále metabolizovány. Jedná se o enzym tvořený více enzymy, endo- β -1,4-glukanáza, exo- β -1,4-glukanáza a β -glukosidáza. Podle její aktivity můžeme usuzovat, zda se ve vermikompostu vyskytují houby rodu *Actinomyces* či *Clostridium*, jelikož je produkována houbami. Pro svou citlivost je tento enzym považován za indikátor kvality půdy a souvisí s kvalitou organické hmoty (Hanč a kol., 2022).

Chitináza je enzym který má schopnost rozkládat chitin, polysacharid složený z N-acetylglukosaminových jednotek. Chitináza katalyzuje hydrolýzu chitinu na jednodušší složky. Organický dusík se do půdy dostává převážně z chitinu, který je hlavní složkou buněčné stěny hub. Producenty chitinázy jsou převážně bakterie, kvasinky, houby, korýši a měkkýši. Aktivita chitinázy může být potlačována produkty vznikajícími díky jejímu působení (Gooday, 1994).

Cellobiohydroláza je enzym, který hraje důležitou roli při rozkladu celulózy, jenž je hlavní složkou rostlinných buněčných stěn. Hlavní funkce je hydrolýza β -1,4-glukosidický vazeb mezi glukózovými jednotkami, čímž se celulóza rozkládá na nižší cukry jako je glukóza. Tento enzym pomáhá ve vermikompostování rozkládat celulózu v organickém materiálu a přeměňovat ji na živiny dostupné pro žížaly. Cellobiohydroláza je produkována některými druhy hub, např. rodem *Trichoderma* či *Penicillium* (Mertz a kol., 2007).

Esteráza je enzym katalyzující hydrolýzu esterových vazeb v organických sloučeninách. Tyto vazby jsou často přítomny v mastných kyselinách a glyceridech. Esteráza má schopnost rozkládat tuky a oleje a zvyšuje efektivitu rozkladu. Přirozeně se tento enzym vyskytuje

v trávicím traktu živočichů, v mikroorganismech, rostlinách a využívá se i při výrobě chemických sloučenin (Fukami a Yokoi, 2012).

2.3. Vermikompostování čistírenských kalů

Vermikompostování čistírenských kalů je jednou z možností úpravy kalů před dalším využitím. Čistírenský kal je vhodný k vermikompostování díky vysokému obsahu živin a jak již bylo zmíněno v předchozím textu, jeho nevýhodou je kontaminace rizikovými látkami a patogeny a také možný obsah amonných kationtů. Čistírenské kaly je pro vermikompostování vhodné míchat s dalšími surovinami, například slámou či štěpkou (Plíva a kol., 2016). Míchání čistírenských kalů pro vermikompostování spolu s dalšími materiály zvyšuje aktivitu žížal a zlepšuje kvalitu produktu. Přidáním materiálů jako je sláma, štěпка či papír napomáhá vyrovnaní poměru C:N ve směsi a často vede k tomu, že je tato směs lepším substrátem pro žížaly – přidané složky fungují jako tzv. „bedding“ materiál (Ghandarijani a kol., 2022; Munroe, 2007). Čistírenské kaly obsahují mnohé škodlivé látky a patogeny, které mohou být rizikem, avšak např. u těžkých kovů se během procesu vermikompostování zvyšuje tvorba komplexů s organickými sloučeninami a tím se snižuje koncentrace biologicky dostupných forem těchto kovů v materiálu (Suthar a kol., 2014). Také počet patogenních organismů, jako jsou bakterie či hlístice se díky vermikompostování v čistírenském kalu značně a poměrně rychle snižuje (Eastman a kol., 2001). Vermikompostování může být vhodným procesem pro úpravu kalů před aplikací na půdu, dochází při něm ke snížení počtu patogenních organismů, zvýšení elektrické vodivosti či stabilizaci pH. Vermikompostovaný čistírenský kal je dobrým zdrojem živin pro organismy a může být využit jako hnojivo, navíc je to dobrý způsob likvidace tohoto druhu odpadu, kdy je odpad přeměněn na surovinu dále využitelnou, která může být ekonomickým a ekologickým přínosem udržitelného zemědělství (Belmesquine a kol., 2020).

2.3.1. Aplikace vermikompostu na půdu

Vermikompost je velmi kvalitní materiál, obsahující mnoho živin a aplikace takto upraveného materiálu má pro půdu velké výhody. Aplikace vermikompostu na půdu podporuje růst rostlin, kořenového systému, dochází k vyšším výnosům plodin, rostliny jsou odolnější proti škůdcům, v půdě dochází ke zvýšení pórovitosti, dochází k vyšší retenci vody a mikrobiální aktivitě v půdě (Ducasse a kol., 2022). Obsah živin ve vermikompostu, který má být aplikován do půdy, závisí na vstupním materiálu, který je vermikompostován, avšak obsah makro i mikro živin je ve vermikompostu větší než u kompostovaného materiálu.

Vermikompost, ve srovnání s kompostem, obsahuje vyšší obsah důležitých živin pro růst rostlin, jako jsou dusičnany, fosfor, draslík, vápník či hořčík, a to v dostupnější formě. Oproti aplikaci čistírenského kalu či kompostu, je aplikace vermikompostu na půdu šetrnější i co se týče přítomnosti těžkých kovů. Žížaly ve vermikompostu jsou schopné akumulovat množství těžkých kovů do svých těl a tím snížit obsah těchto kovů ve finálním produktu, jenž je aplikován na půdu a může dále vstupovat do potravního řetězce. Vermikompost může vést k rozvoji biologické rozmanitosti a aktivity mikrobiální populace v půdě, neboť obsahuje vysokou hladinu rostlinných růstových hormonů a půdních enzymů. Aplikací vermikompostu do půdy dochází ke zvýšení pórovitosti půdy a provzdušnění, což má za následek lepší podmínky pro růst kořenového systému rostlin a zvýšení produkce plodin. Půdy, na které byl vermikompost aplikován, také vykazovaly lepší retenci vody, neboť vermikompost obsahuje velké množství organické hmoty, která má obecně lepší schopnost dobře zadržovat vodu (Lim a kol. 2015).

2.3.2. Hygienizace vermikompostováním

Aby bylo možné využít vermikompostovaný čistírenský kal dále, je potřeba aby neobsahoval škodlivé patogeny, a toho se dosáhne hygienizačním procesem. Hygienizace se u většiny čistírenských kalů dosahuje díky zvýšené teplotě, která patogeny zahubí ale také různými jinými metodami jako je úprava chemickými činidly a další. Jednotlivé metody jsou detailněji popsány v kapitole 2.1.4. Hygienizace je ale také možné dosáhnout díky vermikompostování. Bylo prokázáno, že vermikompostování snižuje počet patogenních organismů v různých organických odpadech (Eastman a kol. 2001). Contreras-Ramos a kol. (2005), uvádí ve svém výzkumu, že po 60 dnech vermikompostování došlo ke snížení patogenních organismů *Salmonella sp.* a koliformních bakterií na velmi nízké hodnoty splňující limity k dalšímu využití. Yadav a kol. (2010) uvádí, že při vermikompostování lidských výkalů, došlo k eliminaci koliformních bakterií, které byly v počátečním substrátu hojně zastoupeny, a to již za 8 týdnů vermikompostování. K hygienizaci patogenních organismů dochází v těle žízála, které musí mít dobré životní podmínky (Domínguez a Edwards, 1997). Shina a kol. (2010) uvádí, že aby mohly žížaly konzumovat fekální hmotu a nepřímo ničit patogeny a usnadňovat jejich další redukci změnou složení mikrobiálního společenství, musí mít vlhké, neutrální prostředí s nízkým obsahem amoniaku. Vermikompostování vede k významnému snížení počtu indikátorových patogenů, jako jsou koliformní bakterie (*E.coli*), *Salmonella sp.* či ke snížení počtu enterovirů a vajíček parazitických červů. Patogeny jsou v trávicím traktu žízála vystaveny enzymům a mikroorganismům, které je pomáhají eliminovat, čímž dochází

k hygienizaci (Pathma a Sakthivel, 2014). Lepších výsledků hygienizace lze dosáhnout také pomocí předkompostování materiálu k vermikompostování. Kompostovací proces může eliminovat některé patogeny a škůdce a dojde tak k lepším výsledkům hygienizace (Vukovič a kol. 2021). Hygienizace je závislá na zdroji substrátu a také na množství násady žížal. V případě, že je vermikompostování zajištěno velkou násadou, která má dostatečný přísun substrátu s dobrými podmínkami, hygienizace probíhá s vyšším účinkem než v případě, kdy je použita nízká násada žížal s nevhodnými podmínkami (Shina a kol. 2010).

3 Cíle práce a hypotézy

Cílem této práce bylo porovnání dvou metod přepracování odvodněných čistírenských kalů před použitím na zemědělskou půdu pomocí vermikompostování, a to vermikompostování směsi čistírenského kalu a dřevní štěpky bez předchozí úpravy a vermikompostování stejné směsi s předkompostováním včetně termické fáze. Zároveň byla testována varianta kompostování bez následné aplikace žížal. Kvalita vzniklých produktů byla porovnána na základě vybraných ukazatelů, které jsou běžně využívány při hodnocení kvality vermikompostů a dále parametrů sledovaných před aplikací upravených kalů na zemědělskou půdu. Metodika testu účinnosti hygienizace pomocí vneseného mikroorganismu (*E. coli*) byla pro tento účel modifikována, aby mohl být během testování zohledněn vliv žížal. Dále byla měřena aktivita vybraných enzymů v různých fázích procesu.

Hypotéza č. 1: Vermikompostování bude účinně odstraňovat indikátorový organismu *E. coli*, když bude probíhat dostatečně dlouho (nebude tedy nutná termická fáze kompostovacího procesu)

Hypotéza č. 2: Vermikompostování poskytne za dobu trvání pokusu kvalitnější materiál z hlediska sledovaných parametrů, jako je například index klíčivosti nebo obsah vybraných enzymů

4 Praktická část

4.1. Pomůcky a materiál

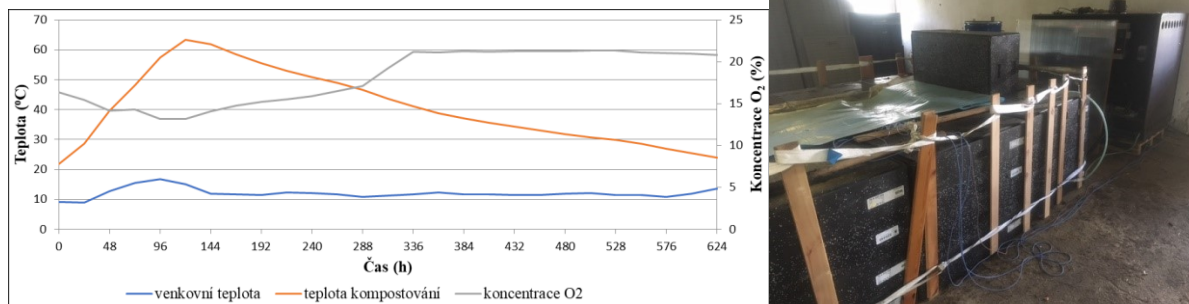
Laboratorní váhy	KERN
Automatické pipety	
COLI test	ERBA LACHEMA
Filtrační papír	
Filtrační zařízení s vývěvou	
Laboratorní nádobí	
MCE filtrační papír	LABEX Ltd.
Míchačka magnetická	
Petriho misky	
Plastové nádobky s víkem ručně perforované	
Platereader Infinite M200 Pro	Tecan
Polystyrenová 96 jamková destičky s plochým dnem s průhledným víkem NUNC	Schoeller pharma
Provázek	
Semena konopí setého, odrůda Kompolti	Hempoint s. r. o.
Stolní autokláv	Melatronie
Školní pravítko	
Termobox	
Tkanina Uhelon	
Ultra Turrax homogenizér IKA	Verkon
UV lampa	

4.2. Chemikálie

4 - methylumbelliferone	Sigma-Aldrich
4-Methylumbelliferyl β -D-cellobioside	Sigma-Aldrich
4-methylumbelliferylacetate	Sigma-Aldrich
4-methylumbelliferyl-N-acetylglucosaminide	Sigma-Aldrich
4-methylumbelliferyl-phospate	Sigma-Aldrich
4-methylumbelliferylsulphate potassium salt	Sigma-Aldrich
Destilovaná voda	
dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich
Fyziologický roztok	
Kyselina octová	
methylumbelliferyl β -D-glukopyranoside	Sigma-Aldrich
M-FC agar	HIMEDIA
Octan sodný	

4.3. Odběr a předúprava kalu

Odvodněný, anaerobně stabilizovaný kal byl odebrán ze středně velké čistírny odpadních vod s kapacitou 33 tis. ekvivalentních obyvatel. Březová štěpka byla zakoupena u firmy zabývající se úpravou zahrad. Jeden kubický metr kalu byl v provozní hale vermikompostárny FLORIUM s.r.o. v Ostrově u Prachatic ručně promíchán se štěpkou v objemovém poměru 1 : 1,5 (kal : štěpka). Vzniklo tak 2,5 m³ směsi, která byla dále rozdělena na dva díly. První díl o objemu 1 m³ byl převezen do segmentu B polního vermikompostéru u obce Hrbov (viz kapitola 4.4.). Tato varianta byla označena jako B. Zbývající materiál byl v provozní hale zarovnan do zakládky ohraničené polystyrenovými bednami. Dovnitř zakládky byla instalována perforovaná hadice a provzdušňování bylo zajištěno pomocí vývěvy s regulací zapůjčené od firmy DEKONTA, a. s. Do zakládky byla firmou DEKONTA, a. s. umístěna čidla na snímání teploty. Řízené předkompostování směsi kalu a štěpky probíhalo po dobu 4 týdnů, maximální dosažená teplota byla 60 °C (Obr. 1).



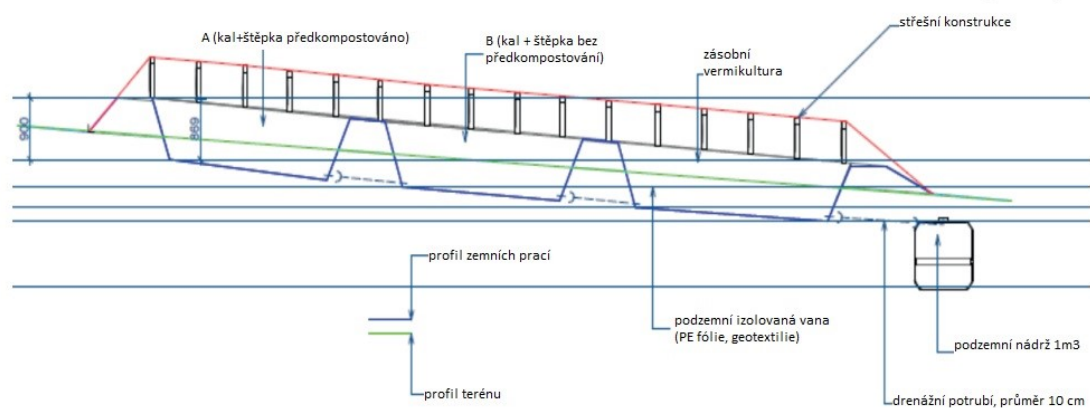
Obrázek 1 Záznam teploty a koncentrace O₂ při kompostování, foto kompostéru

Poté byl předkompostovaný materiál rozdělen na dvě části. Jeden metr kubický kompostu byl převezen do polního vermikompostéru, kde byl umístěn do segmentu A (varianta A). V části B mezitím po tuto dobu probíhalo vermikompostování směsi kalu a štěrky, která nebyla předkompostována.

Zbývající část předkompostované směsi o objemu 0,5 m³ byla ponechána v plastovém IBC kontejneru o objemu 1 m³ jako varianta P – pouze kompostování bez následného vermikompostování.

4.4. Popis polního pokusu

Polní pokus byl založen ve spolupráci s vermikompostárnou FLORIUM s.r.o. se sídlem v Prachaticích. Zemní vermikompostér je umístěn na pozemku vermikompostárny nedaleko obce Hrbov u Lhenic. Jeho instalace proběhla v roce 2019 a je součástí řešení výzkumného projektu zaměřeného na vermikompostování čistírenských kalů. Vermikompostování v polních podmínkách probíhá ve třech izolovaných vanách (viz Obr. 2 a 3). Vlastní experiment probíhal v segmentech A a B polního vermikompostéru. Pracovní objem těchto segmentů je 3 m³. Třetí část o pracovním objemu 3,5 m³ sloužila jako rezervní zásoba vermikultury. V sezóně, která předcházela experimentu, byla ve všech částech polního vermikompostéru namnožena vermikultura žížaly kalifornské *Eisenia andrei* na směsi čistírenského kalu z nedaleké ČOV a slámy. Segmenty A a B byly poté rozděleny perforovanou přepážkou na tři části, každá o pracovním objemu 1 m³.

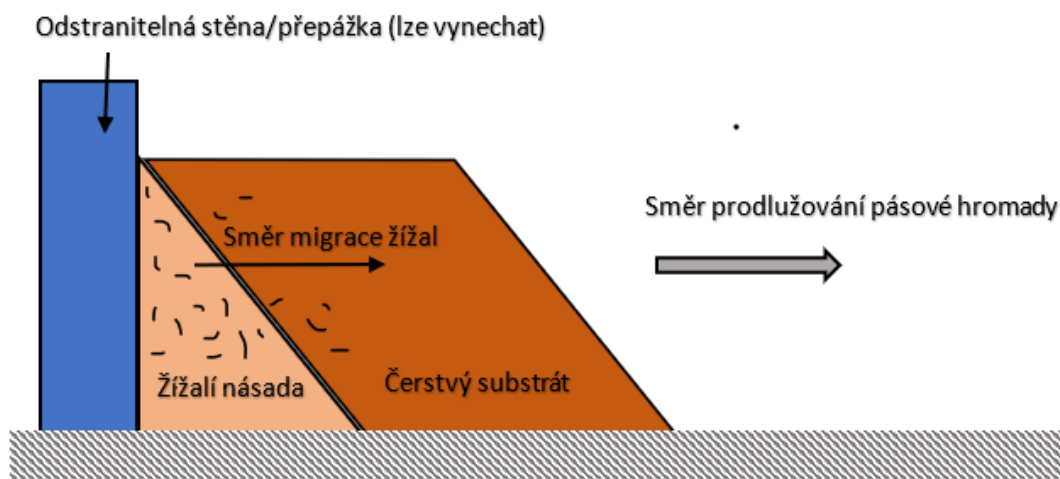


Obrázek 2 Schéma experimentu



Obrázek 3 Polní vermikompostér Hrbov – segmenty A a B byly rozděleny perforovanou přepážkou pro testování tzv. „wedge“ systému krmení žížal

Tento způsob rozdělení umožňoval testování tzv. „wedge“ systému příkrmování žížal, kdy je nový substrát přidáván zboku a žížaly migrují za potravou v horizontálním směru (Munroe, 2007) (Obr. 4).



Obrázek 4 „Wedge“ systém vermikompostování (převzato z metodiky „Optimální přístupy k vermikompostování čistírenského kalu“, Hanč a kol., 2022)

Před zahájením pokusu s hygienizací směsi kalu a štěrky bylo inokulum žížaly kalifornské na směsi kalu a slámy umístěno v první třetině každého segmentu A a B rozdělených perforovanou přepážkou. Směs kalu a štěrky (varianta B) a kalu a štěrky po předkompostování (varianta A) byly přidány vedle inokula do prostřední části každého segmentu, žížaly tak mohly volně migrovat za čerstvou potravou v horizontálním směru.

4.5. Test s vneseným organismem

4.5.1. Princip testu

Test s vneseným organismem je test, který se používá pro kompostárny a bioplynové stanice jako kontrola správnosti procesu a účinnosti hygienizace. Do patrony, která se později vkládá do testovaného procesu, se naočkuje testovaný organismus o určité koncentraci, která je větší, než 10^5 KTJ/g a sleduje se, zda dochází k jeho úbytku díky probíhajícímu procesu. Za úspěšný průběh procesu hygienizace s považuje pokles indikátorového mikroorganismu o pět řádů a více (Matějů, 2009).

4.5.2. Pracovní postup

Směs zralého vermikompostu s čistírenským kalem v poměru 1:1 (obj.) byla přeseta a sterilizována v autoklávu a následně naočkována organismem *E.coli* o průměrné koncentraci $2,7 \cdot 10^6$ KTJ/g. Do perforovaných patron o objemu přibližně 100 ml bylo naváženo 40 g této směsi. U části patron byl substrát navíc umístěn do váčku z tkaniny Uhelon pro zabránění vniku žížal do patrony. Na víčka patrony byl umístěn barevný provázek – bílý, pro označení patron, do kterých žížaly mohou vniknout (dále BÍLÁ patrona) a modrý pro označení patron

s tkaninou, u kterých žížaly nemohou vniknout k substrátu (dále MODRÁ patrona). Do varianty B bylo umístěno celkem 15 bílých a 15 modrých patron. V časových intervalech 28, 180 a 372 dní, došlo k vytažení pětice vzorkovnic od každé barvy pro následnou analýzu. Do zakládky určené k předkompostování bylo umístěno 15 bílých a 10 modrých patron. Po proběhnutí termofilní fáze (prvních 28 dní) došlo k vyzvednutí prvních pěti bílých patron (v této fázi pokusu se ještě žížaly nevyskytovaly. Poté došlo k rozdělení na variantu P (dokompostování bez vlivu žížal), ve které bylo ponecháno 10 bílých patron a variantu A, která byla převezena do polního vermikompostéru spolu se zbývajících 10 bílými a 10 modrými patronami. Stejně jako u varianty B byla po 180 a 372 dnech vyzvednuta vždy pětice bílých a pětice modrých patron z varianty A a pětice bílých patron z varianty P podle následujícího schématu:

Patrony byly vždy po vyzvednutí uloženy v přenosné chladničce a převezeny do laboratoře k mikrobiologickému stanovení obsahu organismu *E.coli*. Jako kontrola sloužila sada 15 Petriho misek obsahující stejné množství směsi s vneseným mikroorganismem, Misky byly uloženy při laboratorní teplotě po peticích v plastovém sáčku proti vysychání, který nebyl hermeticky uzavřený. S každou vzorkovací kampaní byl stanoven obsah *E. coli* v pěti miskách.



Obrázek 5 vzorkovnice s tkaninou Uhelon



Obrázek 6 Umístění patron v pokusu před zahrnutím dalším materiálem

Vyhodnocení probíhalo v laboratoři firmy DEKONTA, a. s. v Dřetovicích. Z každé patrony (případně Petriho misky) bylo odebráno 10 g substrátu, který byl rozmíchán a louhován v 200 ml fyziologického roztoku po dobu 1 h. Z roztoku byla připravena desetinásobným ředěním do sterilního fyziologického roztoku ředící řada. 1 ml roztoku z ředící řady (v případě očekávaných nižších koncentrací přímo z původní 200 ml suspenze) byl následně filtrován přes MCE filtrační papír o průměru 47 mm a velikosti pórů 0,45 μm , který byl umístěn na agarovou plotnu s M-FC agarem. Agarové plotny byly kultivovány v termostatu při 44 °C po dobu 20 hodin. Po 20 hodinách inkubace byl filtrační papír s koloniemi přenesen sterilní pinzetou na COLI test, který byl předem zvlhčený 1 ml sterilního fyziologického roztoku a ponechán k inkubaci v Petriho misce při 30 °C po dobu 2 hod. Následně došlo k odečtení počtu kolonií *E. coli* pod UV lampou (kolonie, které modře fluoreskují). Výsledek byl přepočítán podle použitého ředění tak, aby mohl být vyjádřen v KTJ/g původního vzorku.

4.6. Enzymatická aktivita

4.6.1. Princip testu

Pro sledované enzymy jsou k dispozici tzv. fluorogenní substráty. Názvy substrátů a příslušného enzymu, který daný substrát štěpí, jsou uvedeny v Tabulce 1 kapitoly 4.6.2. Při této metodě se využívá činidlo, v této práci 4-methylumbelliferone (MUF), které je silně fluoreskující a naváže se na vazebném místo komplexní molekuly, která je daným enzymem

štěpena. Po odštěpení a excitaci molekuly je MUF silně fluoreskující a míra fluorescence závisí na aktivitě zkoumaného enzymu. (Gomez a kol., 2021; Sorouri a Allison, 2022) Hodnoty enzymatické aktivity ve vermikompostu závisí na druhu použité suroviny, fázi zralosti vermikompostu a také použitým technologickým postupem a hustotě a aktivitě žížal (Hanč a kol., 2022).

4.6.2. Pracovní postup

Odběr vzorků pro stanovení aktivity enzymů se uskutečnil po 6 měsících od začátku pokusu. Z každé varianty bylo odebráno 5 podvzorků o hmotnosti cca 200 g. Vzorky kompostu a vermikompostů byly přesítovány přes síto o velikosti oka 6 mm a v množství 50 g od každého vzorku a poté zlyofilizovány a uloženy do mrazáku při teplotě -80°C . Z lyofilizovaných vzorků bylo poté naváženo 2 g, které byly následně pomocí přístroje Ultra-Turrax rozmixovány v 200 ml pufrčního roztoku. Octanový pufrční roztok byl připraven z 500 ml destilované vody, 1,39 g octanu sodného a 0,45 ml kyseliny octové. Fluorogenní substráty sledovaných enzymů byly naředěny následujícím způsobem: vždy do 10 ml DMSO (dimethylsulfoxid) bylo naváženo 2,7 mg 4-methylumbelliferylacetate (MUF-A), 9,3 mg 4-methylumbelliferyl β -D-glukopyranoside (MUF-G), 7,0 mg 4-methylumbelliferyl-phosphate (MUF-P) 7,4 mg 4-methylumbelliferylsulphate potassium salt (MUF-S), 3,8 mg 4-methylumbelliferyl-N-acetylglucosaminide (MUF-N) a 5,6 mg 4-Methylumbelliferyl β -D-cellobioside (MUF-C).

Tabulka 1 Názvy substrátů a stanovené enzymy

Zkratka substrátu	Název substrátu	Stanovovaný enzym
MUF-A	4-methylumbelliferylacetate	esteráza
MUF-G	methylumbelliferyl β -D-glukopyranoside	β -D-glukosidáza
MUF-P	4-methylumbelliferyl-phosphate	kyselá fosfatáza
MUF-S	4-methylumbelliferylsulphate potassium salt	arylsulfatáza
MUF-N	methylumbelliferyl-N-acetylglucosaminide	chitináza
MUF-C	4-Methylumbelliferyl β -D-cellobioside	cellobiohydroláza

Jednotlivé vzorky a enzymy byly pipetovány do černé 96 jamkové destičky s polochým dnem jamek tak, aby byl každý podvzorek proměřen ve třech opakování s každým z použitých fluorogenních substrátů a zároveň byla pro každý podvzorek proměřena osmibodová

kalibrační křivka podle schématu na obrázku č. 7. Destička byla bezprostředně po napipetování činidel a vzorků překryta transparentním víkem a umístěna do vytemperované komory destičkového absorpčního a fluorescenčního spektrofotometru Infinite M200 Pro od firmy Tecan. Kalibrační řada byla připravena z 0,01 mM, 0,1 mM a 1 mM roztoku methylumbelliferolu (MUF) a DMSO podle schématu na Obr. 7. Po 5 minutách inkubace při 40 °C byla poprvé změřena fluorescence daného substrátu při nastavení excitační vlnové délky 355 nm, a emisní vlnové délky 460 nm. Druhé měření proběhlo po 2 hodinách od prvního měření, tedy po 2 h a 5 min. od vložení destičky do přístroje. Z rozdílu počáteční a konečné hodnoty byla vypočítána enzymatická aktivita daného vzorku.

Název vzorku												
Hrbov A 1:100	MUF--G	MUF-G	MUF-G	MUF-P	MUF-P	MUF-P	MUF-S	MUF-S	MUF-S	MUF-N	MUF-N	MUF-N
	MUF-A	MUF-A	MUF-A	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Hrbov A-ž 1:100	MUF-G	MUF-G	MUF-G	MUF-P	MUF-P	MUF-P	MUF-S	MUF-S	MUF-S	MUF-N	MUF-N	MUF-N
	MUF-A	MUF-A	MUF-A	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Prachatice 1:100	MUF-G	MUF-G	MUF-G	MUF-P	MUF-P	MUF-P	MUF-S	MUF-S	MUF-S	MUF-N	MUF-N	MUF-N
	MUF-A	MUF-A	MUF-A	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Hrbov B 1:100	MUF-G	MUF-G	MUF-G	MUF-P	MUF-P	MUF-P	MUF-S	MUF-S	MUF-S	MUF-N	MUF-N	MUF-N
	MUF-A	MUF-A	MUF-A	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM

Název vzorku												
Hrbov B-ž 1:100	MUF-G	MUF-G	MUF-G	MUF-P	MUF-P	MUF-P	MUF-S	MUF-S	MUF-S	MUF-N	MUF-N	MUF-N
	MUF-A	MUF-A	MUF-A	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Hrbov A 1:100	b-glukanáza	b-glukanáza	b-glukanáza	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Hrbov A-ž 1:100	b-glukanáza	b-glukanáza	b-glukanáza	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Prachatice 1:100	b-glukanáza	b-glukanáza	b-glukanáza	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Hrbov B 1:100	b-glukanáza	b-glukanáza	b-glukanáza	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM
Hrbov B-ž 1:100	b-glukanáza	b-glukanáza	b-glukanáza	blank	10 µl 0,01 mM	20 µl 0,01 mM	50 µl 0,01 mM	20 µl 0,1 mM	50 µl 0,1 mM	10 µl 1 mM	20 µl 1 mM	50 µl 1 mM

Obrázek 7 Schéma zaplnění destiček

4.7. Ekotoxikologický test na semenech konopí setého (*Cannabis sativa*)

4.7.1. Princip testu

Ekotoxikologický test na semenech konopí setého byl prováděn za účelem porovnání fyto toxicity výluhů jednotlivých variant pokusu. Konopí seté jako testovaný organismus bylo zvoleno z důvodu navazujících pěstebních pokusů, které nebyly součástí řešení této diplomové práce. Test ekotoxicity se obvykle provádí na semenech hořčice bílé (*Sinapis alba*), řeřichy seté (*Lepidium sativum*) či salátu hlávkového (*Lactuca sativa*).

4.7.2. Testovaný organismus

Testovaným organismem v tomto pokusu bylo konopí seté, *Cannabis sativa*. Konopí seté je jednoletá dvoudomá rostlina z čeledi *Cannabaceae*, konopovité. Je to 80–350 cm vysoká rostlina se vzpřímenou lodyhou, má dlanité 5–7 čtené listy, které jsou hrubě zubaté. Samičí rostliny jsou vyšší a mají tmavší barvu, samičí květy jsou úžlabní, samčí květy latnaté. Plodem jsou šedo zelené nažky obalené listenem, semena jsou zbarvena do žlutohnědé až hnědé.

4.7.3. Pracovní postup

Vzorky vermikompostů a kompostu z polního pokusu byly naváženy dle Tabulky č. 2 do 100 ml destilované vody, zamíchány skleněnou tyčinkou a hodinu ponechány louhovat. Stejně, jako v případě měření aktivity enzymů, bylo odebráno z každé varianty pět podvzorků, které byly označeny A a-e (varianta A – vermikompostování s předkompostováním) B a-e (varianta B – pouze vermikompostování) a P a-e (varianta P – pouze kompostování bez přístupu žízá). Výluhy byly následně přefiltrovány přes filtrační papír. Do Petriho misek byly vloženy 3 vrstvy filtračního papíru. Na jednotlivé Petriho misky bylo napipetováno 10 ml výluhu jednotlivých vzorků, tak aby se částečně vsákly a poskytovaly semenům dostatečnou vlhkost. Od každého vzorku výluhu byly provedeny dvě opakování. Do takto připravené Petriho misky bylo vloženo 15 semen, která byla předtím 20 minut louhována v destilované vodě. Semena byla rovnoměrně rozložena po celé Petriho misce. Petriho misky byly umístěny do tmavé místnosti s teplotou 20–21 °C na 72 hodin. Po 72 hodinách byla měřena délka kořenu školním pravítkem s přesností na 1 mm. Jako kontrolní vzorek byla sledována klíčivost semen na Petriho misce s destilovanou vodou.

Tabulka 2 Navážky ekotoxikologického testu na semenech konopí setého

	sušina ø	navážka do 100 ml
Varianta A	33,3 %	30 g
Varianta B	33,3 %	30 g
Varianta P	37,2 %	26,9 g

5 Výsledky a diskuze

5.1. Výsledky hygienizace kalu

Vývoj obsahu vneseného indikátorového mikroorganismu *E. coli* v jednotlivých variantách a kontrole je patrný z Tabulky č. 3. Uvedené hodnoty kolonie tvořících jednotek (KTJ) na g vzorku jsou průměrem hodnot z pěti odebraných patron (nebo Petriho misek v případě kontroly). Sloupeček označený jako 06.05.2021 obsahuje vstupní hodnoty obsahu *E. coli* v substrátu, který byl plněn do patron. Patrony byly z jednotlivých variant pokusu odebírány po 28 dnech (03.06.2021), 180 dnech (02.11.2021) a 372 dnech (13.05.2022).

Tabulka 3 Průměrný obsah E.coli v průběhu pokusu (průměrná hodnota a směrodatná odchylka z pěti hodnot)

	06.05.2021	03.06.2021	02.11.2021	13.05.2022
Předkompostování + vermikompostování (A) s přístupem žížal (KTJ/g)	2,72E+06 ± 4,15E+05	2,00E+01 ± 4,47E+01	< m. d. *	< m. d. *
Předkompostování + vermikompostování (A) bez přístupu žížal (KTJ/g)	2,72E+06 ± 4,15E+05	2,00E+01 ± 4,47E+01	8,81E+03 ± 1,97E+04	< m. d. *
Vermikompostování (B) s přístupem žížal (KTJ/g)	2,72E+06 ± 4,15E+05	8,16E+02 ± 1,56E+03	4,80E+01 ± 1,07E+02	< m. d. *
Vermikompostování (B) bez přístupu žížal (KTJ/g)	2,72E+06 ± 4,15E+05	6,85E+04 ± 8,85E+04	< m. d. *	< m. d. *
Kompostování (P) (KTJ/g)	2,72E+06 ± 4,15E+05	2,00E+01 ± 4,47E+01	4,60E+03 ± 9,73E+03	< m. d. *
Kontrola na Petriho miskách (KTJ/g)	2,72E+06 ± 4,15E+05	4,80E+05 ± 1,81E+05	< m. d. *	< m. d. *

(* m.d. mez detekce)

Během celkové doby trvání pokusu (cca 1 rok) došlo u všech vzorků, a to včetně kontroly na Petriho miskách v laboratoři, k poklesu koncentrace *E. coli* pod mez detekce metody, která je 20 KTJ/g.

Po prvním měsíci pokusu došlo u všech vzorků k poklesu koncentrace vneseného organismu u všech testovaných variant. V tomto časovém období jsou nejvíce patrné rozdíly mezi jednotlivými variantami pokusu. K největšímu poklesu koncentrace *E. coli* došlo u vzorků, které byly předkompostovány, pravděpodobně vlivem teploty v průběhu kompostování. Mezi vzorky, které prošly pouze vermikompostovacím procesem byly patrné rozdíly. V patronách, do kterých měly přístup žížaly, došlo k vyššímu snížení koncentrace *E. coli*, než v patronách kam žížaly přístup neměly. Tento rozdíl ale nebyl statisticky významný.

Po šesti měsících pokusu došlo u většiny vzorků k poklesu o 10^5 KTJ. Spolehlivý byl pokles u patron, do kterých měly žížaly přístup, a obsah všech těchto patron byl zároveň vizuálně lépe zkompostovaný, než obsah některých patron bez přístupu žízá. Z těchto výsledků je patrné, že již po 6 měsících je možné aplikovat takto upravené kaly na půdu, neboť splňují parametry Vyhlášky č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady. U některých vzorků v patronách, nedošlo ke snížení koncentrace KTJ/g pod mez detekce, jak bylo již po 180 dnech pozorováno u většiny patron umístěných v kompostu a vermikompostech, což ovlivnilo průměrné hodnoty uvedené v tabulce výše. Tyto vzorky z patron byly při zpracování velmi zhutnělé, nehomogenizované a u některých byly v patroně přítomny kokony blíže neurčeného druhu pavouka.

Po roce trvání pokusu došlo k poklesu koncentrace *E. coli* v jednotlivých patronách u všech variant pokusu pod mez detekce metody, a to včetně kontroly. Z těchto výsledků je patrné, že po dostatečně dlouhé době dochází k poklesu koncentrace testovaného organismu *E. coli* na potřebnou úroveň, a to i bez termofilní fáze kompostování nebo přítomnosti žízá.

U vzorků, které byly předkompostovány, dochází vlivem zvýšené teploty během termické fáze k rychlejšímu poklesu koncentrace *E. coli* než u vzorků, které předkompostovány nebyly, neboť tato bakterie má problém přežít při teplotách vyšších než 50 °C. Pokud jsou čistírenské kaly vystaveny vyšším teplotám, dochází ke snížení populace *E. coli* v čistírenském kalu. Dle Clunaut a kol. (2011), dochází ke snížení populací *E. coli* v prasečí kejďe již při teplotě 55 °C, a pokud je materiál vystaven této teplotě po dostatečně dlouhou dobu, dochází k poklesu pod mez detekce. Je pravděpodobné, že při kompostování došlo vlivem teploty k úbytku KTJ/g

testovaného organismu, což vedlo k rychlejšímu poklesu tohoto indikátorového organismu i v tomto pokusu.

U patron, do kterých byl umožněn přístup žížalám, došlo k rychlejšímu poklesu množství testovaného organismu než u patron, kam se žížaly nedostaly. Redukce patogenních organismů probíhá díky mikrobiální a enzymatické aktivitě žížal v trávicím traktu žížaly, kdy na patogen působí enzymy a sekrety tlustého střeva, které mají antibakteriální vlastnosti, což přispívá ke snížení počtu mikroorganismů a endosymbiotických mikrobů (Swati a Hait, 2018). Nejrychlejší úbytek byl zaznamenán u varianty předkompostovaného materiálu, který byl následně kompostován. Nair a kol. (2006) ve své studii uvádí, že v případě kompostování s termofilní fází před samotným vermikompostováním dochází k větší stabilizaci zpracovávaného biologického odpadu a že vhodně zvolená kombinace těchto metod vedla k vytvoření kompostu, u kterého došlo ke zvýšení jeho kvality a zároveň při dostatečně dlouhé době termofilní fáze i vermikompostování došlo ke snížení patogenních organismů.

Eastman a kol., 2001, uvádí ve své studii, že v procesu vermikompostování došlo ke snížení indikátorových organismů natolik, aby bylo možné uvažovat vermikompostování jako dostatečnou metodu stabilizace čistírenských kalů. Z pokusu je patrné, že při procesu vermikompostování dochází k úbytku indikátorových organismů, avšak aby došlo k jejich snížení na hodnoty, které splňují limity aplikace na půdu je na to potřeba delší časové období (minimálně 6 měsíců).

5.2. Další sledované parametry

V následující tabulce jsou pro doplnění předchozích výsledků testu s vneseným mikroorganismem uvedeny hodnoty obsahu rizikových látek, které byly sledovány na základě podmínek uvedených ve vyhlášce č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, konkrétně v příloze č. 38 o podmínkách použití kalů na zemědělské půdě.

Tyto hodnoty byly měřeny pro vstupní materiál (samotný kal) a dále ve výsledném produktu testovaných metod (vermikompostování, vermikompostování s předkompostováním a kompostování) po šesti měsících procesu. Tabulka dále obsahuje výsledky měření biologické stability výsledných produktů po šesti měsících procesu pomocí parametru AT_4 .

Analýzy provedla akreditovaná laboratoř firmy DEKONTA, a. s. a výsledky byly laskavě poskytnuty formou protokolů pro doplnění poznatků o testované metodě, aby bylo možné, mimo jiné, její posouzení v kontextu vyhlášky č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady.

Tabulka 4 Obsah rizikových látek a dalších sledovaných parametrů ve vstupním vzorku a ve výsledném produktu po šesti měsících pokusu (průměrná hodnota a směrodatná odchylka ze 3 stanovení)

	vstupní hodnoty	Předkompostování + vermikompostování (A)	Vermikompostování (B)	Kompostování (P)	Limit dle vyhlášky č. 273/2021 Sb.
As (mg/kg)	9,83 ± 0,57	5,9 ± 0,21	6,51 ± 0,15	5,62 ± 0,98	30
Cd (mg/kg)	0,77 ± 0,04	0,77 ± 0,03	0,79 ± 0,01	0,68 ± 0,11	5
Cr (mg/kg)	35,23 ± 2,41	34,67 ± 2,90	37,37 ± 0,90	35,13 ± 3,50	200
Cu (mg/kg)	173 ± 10,61	140,67 ± 2,62	154,67 ± 6,13	153,67 ± 17,63	500
Hg (mg/kg)	0,71 ± 0,09	1,17 ± 0,84	0,71 ± 0,09	0,83 ± 0,45	4
Ni (mg/kg)	26,73 ± 1,18	23,87 ± 0,19	25,97 ± 0,25	23,23 ± 4,78	100
Pb (mg/kg)	34,93 ± 4,68	34,13 ± 1,33	37,71 ± 1,16	31,23 ± 3,85	200
Zn (mg/kg)	649 ± 44,95	564,33 ± 32,52	562 ± 7,79	485,67 ± 71,6	2500
Mo (mg/kg)	5,06 ± 0,25	4,69 ± 0,33	4,73 ± 0,12	4,38 ± 0,73	
Σ PAU (mg/kg)	2,10 ± 0,25	6,34 ± 6,54	4,50 ± 4,12	5,00 ± 1,92	10
Σ PCB (mg/kg)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,6
AOX (mg/kg)	/	132,5 ± 7,5	118,5 ± 33,5	136,0 ± 4,0	500
Salmonella spp. (KTJ/g)	neg.	neg.	neg.	neg.	negativní v 5 vzorcích
E. coli (KTJ/g)	9,5x10 ⁴ ± 1,5x10 ⁴	< m. d. *	< m. d. *	< m. d. *	< 10 KTJ/g ve 4 vzorcích a < 5x10 ³ KTJ/g v 1 vzorku
AT ₄ (mgO ₂ /g/4dny)	/	4,27 ± 1,72 ^{ab}	2,37 ± 0,16 ^a	5,12 ± 0,20 ^b	< 10 mg/O ₂ /g sušiny

(* m. d. mez detekce)

Z tabulky 4 vyplývá, že použitý kal, co do obsahu sledovaných rizikových látek, splňoval limit k využití na zemědělské půdě ještě před zahájením pokusu.

Mikrobiologické kritérium dle přílohy č. 38 Vyhlášky č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady bylo u vstupního kalu překročeno v parametru *E. coli* (kal kategorie I).

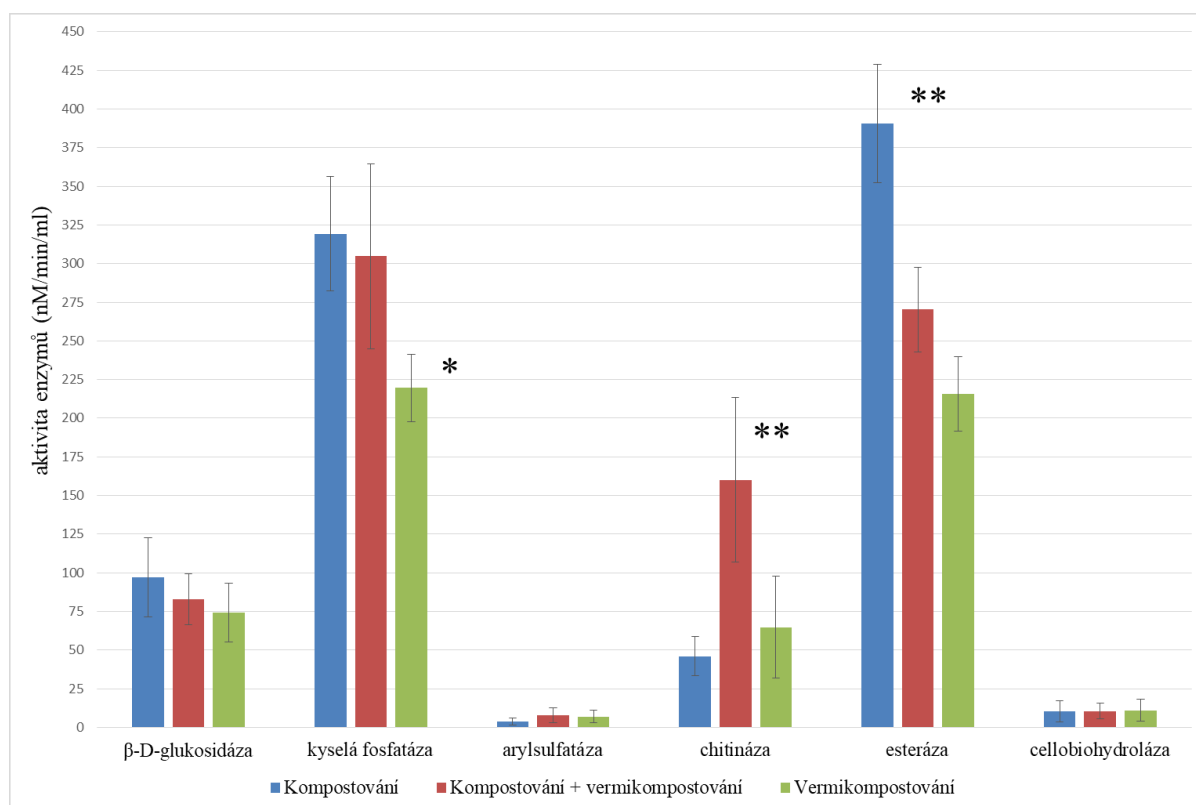
Po šesti měsících pokusu byl limit pro využití na zemědělské půdě (Kategorie I) splněn u všech parametrů i variant pokusu. Kromě mikrobiologických ukazatelů je výsledná koncentrace rizikových látek kombinací efektu ředění (míchání kalu s vylehčujícím materiálem při zahájení procesu) a biodegradace v případě biodegradovatelných organických polutantů, případně ředění a následného zakoncentrovávání polutantu díky postupné mineralizaci a snižování objemu a hmotnosti zakládky u těžkých kovů a perzistentních organických látek (Innemanová a kol., 2022). U většiny polutantů byl po šesti měsících pozorován mírný pokles koncentrace u všech variant zpracování. U chromu a olova došlo díky efektu zakoncentrování k nárůstu koncentrace oproti vstupním hodnotám. K nárůstu koncentrace PAU došlo u všech typů zpracování kalu, a to i přes to, že při kompostování a vermikompostování obvykle dochází k poklesu koncentrací PAU (Poluszyńska a kol., 2017; Oleszczuk, 2007, Patel a kol., 2020). I přes nárůst koncentrace však všechny testované varianty stále splňovaly limity pro aplikaci na půdu. Tento nárůst mohl být způsoben výskytem hůře rozložitelných forem PAU, neboť vermikompostování i kompostování jsou obvykle dobrými způsoby k likvidaci tohoto znečištění. Vysoké koncentrace PAU v měření mohou být způsobeny také nehomogenitou materiálu. Změny mezi vstupními hodnotami a hodnotami naměřenými na konci pokusu nejsou statisticky významné. U AOX nelze hodnotit, zda došlo k úbytku koncentrace či ne, neboť nedopatřením nebyla provedena analýza této znečišťující látky u vstupních vzorků. Výsledné hodnoty však splňují limity pro aplikaci na půdu. V souladu s výsledky experimentu popsány v kapitole 5. 1. došlo i přímo v testovaném materiálu k poklesu indikátorového mikroorganismu *E. coli*, a to pod mez detekce metody již po šesti měsících pokusu.

V tabulce je uvedena také hodnota parametru AT₄, pomocí kterého je možné hodnotit biologickou stabilitu odpadních materiálů. Jedná se o stanovení respirační aktivity za 4 dny, kdy dochází k měření množství kyslíku, které spotřebují aerobní bakterie ve vzorku. Z výsledků je patrné, že signifikantně nejnižší respirace byla naměřena u vzorků, u kterých došlo v průběhu pokusu pouze k vermikompostování, což ukazuje na vysokou stabilitu tohoto produktu. Parametr AT₄ jako ukazatel stability bioodpadu je využíván (vedle výhřevnosti) pro

posouzení další využitelnost odpadu. Od 01.03.2030 bude dle § 40 zákona č. 541/2020 Sb., o odpadech, zakázáno ukládat na skládky odpad, který překračuje limitní hodnotu AT₄, tedy 10 mg O₂/g sušiny.

5.3. Výsledky stanovení enzymatické aktivity

Hodnoty aktivity sledovaných enzymů po šesti měsících pokusu jsou znázorněny v Grafu č. 1. Nejvýraznější rozdíly mezi jednotlivými variantami pokusu byly pozorovány u enzymů kyselá fosfatáza, chitináza a esteráza. Aktivita vybraných enzymů ukazuje na stabilitu jednotlivých substrátů.



*Graf 1 Aktivita enzymů v produktu vermikompostování, resp. kompostování po 6 měsících pokusu (statisticky významný rozdíl v aktivitě daného enzymu ve srovnání s ostatními variantami je označen * pro $p < 0,05$ a ** pro $p < 0,01$)*

Významné rozdíly byly pozorovány zejména u aktivity kyselé fosfatázy, která hraje roli při mineralizaci organického fosforu a vede k lepší dostupnosti fosforu v materiálu pro rostliny. Nejnížší aktivita tohoto enzymu byla u vzorku, který byl pouze vermikompostován, a nejvyšší aktivita byla změřena u kalu, který byl pouze kompostován. Aktivita enzymu byla u vermikompostovaného materiálu nízká, což může značit již ukončený, případně pokročilejší proces mineralizace než v případě pouhého kompostování. Tento výsledek, stejně jako v případě parametru AT₄ signalizuje rychlejší průběh mineralizace, a tedy stabilizace

bioodpadu ve variantách, kde se procesu zúčastnily žížaly. Dle Ngo a kol. (2013) je vermikompostování a kompostováním organický fosfor mineralizován na dobře dostupnou formu pro rostliny. Ghosh a kol. (2018) ve své studii uvádí, že v procesu vermikompostování docházelo k mineralizaci fosforu a aktivitě kyselé fosfatázy přibližně do padesátého dne procesu vermikompostování, poté došlo k aktivitě jiných enzymů. Je tedy možné, že nižší aktivita fosfatázy, naměřená v tomto pokusu u vermikompostovaného materiálu byla způsobena již dokončenou mineralizací fosforu ve vzorcích, zatímco ve vzorcích, které byly kompostovány, ještě tato fáze probíhá. Hanč a kol. (2022) uvádí, že největší aktivitu kyselé fosfatázy naměřili na začátku kompostovacího procesu a poté tato aktivita klesala. Aktivita kyselé fosfatázy byla nejnižší právě u vermikompostování, což ukazuje na zralost a stabilitu výsledného produktu.

Stabilitu produktu po vermikompostování také ukazují výsledky enzymatické aktivity esterázy. Její aktivita se výrazně lišila u jednotlivých vzorků. Z výsledků je patrné, že aktivita esterázy je signifikantně nejvyšší u substrátu, který byl pouze kompostován. Enzym esteráza mám schopnost rozkládat tuky a oleje a přirozeně se vyskytuje v trávicím traktu živočichů. Substrát, který prošel procesem vermikompostování nevykazuje tak vysokou aktivitu esterázy, což ukazuje, že se jedná o stabilnější a zralejší materiál než substrát, který jím neprošel vůbec.

Dalším enzymem, jehož aktivita vykazovala významné rozdíly mezi variantami pokusu, je chitináza. Tento enzym má schopnost rozkládat chitin, který je hlavní složkou buněčné stěny hub. Producentem tohoto enzymu jsou převážně bakterie, kvasinky, houby. Nejvyšší aktivita tohoto enzymu byla naměřena u vzorků, které byly před vermikompostováním předkompostovány. Důvodem takto významného rozdílu může být fakt, že ve vzorku, který byl před vermikompostováním předkompostován se díky termofilní fázi vyselektovaly houby a aktinomycety, které obsahují ve svých myceliích chitin. Ten poté stimuluje produkci enzymu chitináza žížalami. Tento mechanismus by vysvětlil fakt, proč byla aktivita tohoto enzymu signifikantně nižší u variant kompostování (chybí vliv žížal) a vermikompostování (chybí vliv termofilní fáze). Jedná se o zajímavý poznatek, který si zaslouží další pozornost, protože enzym chitináza je předmětem výzkumu pro jeho využitelnost v ekologickém zemědělství jako přirozeného pesticidu.

5.4. Výsledky testu klíčivosti a růstu kořene konopí setého

Souhrnná naměřená data z ekotoxikologického testu na semenech konopí setého jsou uvedena v tabulce č. 5. Data naměřená při tomto pokusu byla zkoumána pomocí jedno faktorové analýzy variance (ANOVA). Hypotéza H₀ (nulová hypotéza) je, že se jednotlivé průměry délky kořenů neliší a výluhy nemají vliv na růst kořenů, hypotéza H₁ je se výluhy mezi sebou liší a jeden z těchto výluhů má větší vliv na růst kořenů. V případě, kdy byl do analýzy variance zahrnut také vzorek kontrolní, u kterého bylo použito méně semen, což může výsledek ovlivnit, výsledná p-hodnota byla 0,07092. Pokud je p-hodnota menší než obvyklá hladina významnosti (0,05) zamítáme nulovou hypotézu. V tomto případě je tato hodnota vyšší a byla potvrzena hypotéza H₀ tedy, že jednotlivé průměrné délky kořenů se od sebe významně neliší, avšak tato p-hodnota se hranici významnosti již přibližuje. Jelikož bylo testem analýzy rozptylu zjištěno (pomocí F-hodoty), že variabilita mezi skupinami je větší než variabilita uvnitř skupin, což naznačuje významné rozdíly mezi skupinami, byla aplikována analýza rozptylu na skupiny mezi sebou. Pokud analýza rozptylu byla aplikována na data bez kontrolního vzorku, p-hodnota se zvýšila na hodnotu 0,27611, což nám potvrzuje, že mezi jednotlivými vzorky není významný rozdíl v délce kořenů. Pokud aplikujeme analýzu rozptylu na jednotlivé vzorky mezi sebou, vychází p-hodnota okolo 0,15, z čehož lze interpretovat, že jednotlivé výluhy neovlivňují růst kořenů významně. Podobnost délky kořene u jednotlivých vzorků je znázorněna v Tabulce č. 5, kde je zanesena průměrná délka kořene z jednotlivých testů.

Označení vzorků:

kontrola – destilovaná voda

A – výluh z kalu a štěpky, předkompostovaný, vermikompostovaný

B – výluh z kalu a štěpky, vermikompostovaný

P – výluh z kalu a štěpky, kompostovaný

Tabulka 5 Klíčivost semen, souhrnné výsledky

	kontrola	A	B	P
Průměr (cm)	1,04	1,20	1,40	1,41
Směrodatná odchylka	1,04	1,09	1,29	1,34
Počet vyklíčených semen	72,00	121,00	120,00	118,00
Nevyklíčená semena	18,00	29,00	30,00	32,00
Celkový počet semen	90,00	150,00	150,00	150,00
Klíčivost (%)	80,00	80,67	80,00	78,67

Z výsledků lze tedy konstatovat, že výluhy jednotlivých vzorků, neměly významný vliv na růst délky a klíčivost kořene konopí setého. Průměrná délka kořene semen konopí setého byla u jednotlivých výluhů i kontroly v rozpětí 1 až 1,5 cm. Klíčivost semen byla vypočítána u kontrolního vzorku, vzorku A a vzorku B 80 %, u vzorku P poté přibližně 79 %, z čehož lze také usuzovat, že jednotlivé typy výluhů neměli významný vliv na klíčivost semen.

Index klíčivosti kořenů může být jedním z ukazatelů zralosti vermikompostu (Raj a Antil, 2011; Bhat a kol., 2017). Raj a Antil (2011) uvádí, že za zralý vermikompost se dá považovat vermikompost, u něhož index klíčivosti je větší než 70 %. Index klíčivosti všech testovaných vzorků převyšuje hodnotu 70 %. Nejnižší index klíčivosti byl naměřen u vzorku výluhu z pouze kompostovaného materiálu, avšak rozdíl oproti ostatním vzorkům není významný. U všech vzorků došlo k vyklíčení velké části semen, celková klíčivost semen byla 79,81 %. Vysoký index klíčivosti semen ukazuje také na to, že se ve vzorcích nenachází fytotoxické látky, které by zabraňovaly růstu rostlin a že nebudou mít vliv na růst semen v případě, že by byly aplikovány na půdu.

6 Závěr

Využívání čistírenských kalů v zemědělství, je jedním z řešení, jak recyklovat živiny, které tyto kaly obsahují a jak zajistit potřebný přísun organické hmoty do půdy. V České republice je zakázáno skládkování jedno druhového bioodpadu, tedy i čistírenských kalů. Při jejich likvidaci jinými metodami (např. spalováním), dochází ke ztrátě cenných vlastností těchto odpadních produktů. Čistírenské kaly jsou produkovány ve velkém množství a jejich zpracování je jedním z problémů, který je potřeba řešit v poměrně rychlém čase.

Využití ekologické metody vermikompostování, případně vermikompostování s předkompostováním, vede ke zlepšení vlastností daného materiálu, jeho stabilizaci a mimo jiné dochází k potřebné hygienizaci. Vermikompostování, případně kombinace této metody s kompostováním tak může být vhodným řešením pro úpravu kalů před jejich dalším využitím.

Výzkum potvrdil, že při vermikompostování čistírenského kalu dochází k poklesu indikátorového patogenního mikroorganismu *E. coli* na hodnoty, které splňují limity pro aplikaci na zemědělskou půdu a že vermikompostováním dochází k hygienizaci tohoto materiálu v poloprovozních podmínkách polního experimentu. Při kombinaci kompostování a vermikompostování dochází k rychlejšímu poklesu patogenních organismů a tedy hygienizaci materiálu. Po šesti měsících procesu byla směs kalu a dřevní štěpky dostatečně hygienizována ve všech testovaných variantách (vermikompostování, vermikompostování s předkompostováním, kompostování). Z měření aktivity vybraných enzymů a parametru AT_4 vyplývá, že stabilita výsledného produktu (vermikompostu, resp. kompostu) se mezi jednotlivými variantami liší. Nejvíce stabilizovaný produkt po šesti měsících pokusu poskytla metoda vermikompostování (signifikantně nejnižší hodnota AT_4 , a aktivity enzymu kyselá fosfatáza oproti ostatním variantám) a nejméně stabilní produkt poskytla metoda kompostování bez dalšího zpracování pomocí žížal (signifikantně nejvyšší aktivita enzymu arylsulfatáza). Aktivita enzymu chitináza ve vermikompostu významně vzrůstá u varianty vermikompostování s předkompostováním, což lze pravděpodobně vysvětlit stimulací tvorby tohoto enzymu žížalami díky přítomnosti mycelií hub v substrátu po předkompostování s termofilní fází. Tento poznatek je zajímavý vzhledem možnosti využití enzymu chitináza jako tzv. „zeleného“ pesticidu v ekologickém zemědělství a měl by být detailněji prozkoumán.

Použitá literatura

ADAM, C., PEPLINSKI, B., MICHAELIS, M., KLEY, G. a SIMON, F.-G. Thermochemical treatment of sewage sludge ashes for phosphorus recovery. Online. Waste Management. 2009, roč. 29, č. 3, s. 1122-1128. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.09.011>. [cit. 2023-11-20].

ADÁMEK, Zdeněk. Aplikovaná hydrobiologie. 2., rozš. upr. vyd. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2010. ISBN 978-80-87437-09-4.

ANDRADY, Anthony L. Microplastics in the marine environment. Online. Marine Pollution Bulletin. 2011, roč. 62, č. 8, s. 1596-1605. ISSN 0025326X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>. [cit. 2023-11-20].

ARTHURSON, Veronica. Proper Sanitization of Sewage Sludge: a Critical Issue for a Sustainable Society. Online. Applied and Environmental Microbiology. 2008, roč. 74, č. 17, s. 5267-5275. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.00438-08>. [cit. 2023-11-23].

BELMESKINE, Hayet, OUAMEUR, Wissam Ait, DILMI, Nora a AOUABED, Ali. The vermicomposting for agricultural valorization of sludge from Algerian wastewater treatment plant: impact on growth of snap bean *Phaseolus vulgaris* L. Online. Heliyon. 2020, roč. 6, č. 8. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04679>. [cit. 2023-10-29].

BHAT, S.A., SINGH, J., VIG, A.P. Instrumental characterization of organic wastes for evaluation of vermicompost maturity. J Anal Sci Technol 8, 2 (2017). <https://doi.org/10.1186/s40543-017-0112-2>

BINDZAR, Jan, JANDA, Václav, JENÍČEK, Pavel, RŮŽIČKOVÁ, Iveta, STRNADOVÁ, Nina. Základy úpravy a čištění vod. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-729-3

BUCHBERGER, Wolfgang W. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. Online. Journal of Chromatography A. 2011, roč. 1218, č. 4, s. 603-618. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.10.040>. [cit. 2023-10-28].

CASTRO, E., MANAS, P. a DE LAS HERAS, J. A comparison of the application of different waste products to a lettuce crop: Effects on plant and soil properties. Scientia Horticulturae [online]. 2009, 123(2), 148-155 [cit. 2020-05-23]. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.08.013. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442380900418X>

CONTRERAS-RAMOS, S. M., ESCAMILLA-SILVA, E. M. a DENDOOVEN, L. Vermicomposting of biosolids with cow manure and oat straw. Online. Biology and Fertility of Soils. 2005, roč. 41, č. 3, s. 190-198. ISSN 0178-2762. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0821-8>. [cit. 2023-11-04].

CUNAUULT, C., POURCHER, A.M. a BURTON, C.H. Using temperature and time criteria to control the effectiveness of continuous thermal sanitation of piggery effluent in terms of set microbial indicators. Online. *Journal of Applied Microbiology*. 2011, roč. 111, č. 6, s. 1492-1504. ISSN 13645072. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05144.x>. [cit. 2023-11-25].

DOMÍNGUEZ, J. a EDWARDS, C.A. Effects of stocking rate and moisture content on the growth and maturation of *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in pig manure. Online. *Soil Biology and Biochemistry*. 1997, roč. 29, č. 3-4, s. 743-746. ISSN 00380717. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00276-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00276-3). [cit. 2023-11-04].

DUCASSE, V., CAPOWIEZ, Y. a PEIGNÉ, J. Vermicomposting of municipal solid waste as a possible lever for the development of sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 42, 89 (2022). <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1007/s13593-022-00819-y>

EASTMAN, Bruce R., KANE, Philip N., EDWARDS, Clive A., TRYTEK, Linda, GUNADI, Bintoro et al. The Effectiveness of Vermiculture in Human Pathogen Reduction for USEPA Biosolids Stabilization. Online. *Compost Science & Utilization*. 2001, roč. 9, č. 1, s. 38-49. ISSN 1065-657X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/1065657X.2001.10702015>. [cit. 2023-10-29].

EUROSTAT. Sewage sludge production and disposal. Eurostat [online]. [cit. 2023-05-04]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/env_ww_spd/default/table?lang=en

FROUZ, Jan a FROUZOVÁ, Jaroslava. *Aplikovaná ekologie*. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2021. ISBN 9788024645773, str. 132-134, 184-187.

FUKAMI, Tatsuki a YOKOI, Tsuyoshi. The Emerging Role of Human Esterases. Online. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2012, roč. 27, č. 5, s. 466-477. ISSN 13474367. Dostupné z: <https://doi.org/10.2133/dmpk.DMPK-12-RV-042>. [cit. 2023-10-28].

GHAHDARIJANI, Abdol Rasoul Jafarzadeh, HOODAJI, Mehran a TAHMOURESPOUR, Arezoo. Vermicomposting of sewage sludge with organic bulking materials to improve its properties. Online. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2022, roč. 194, č. 8. ISSN 0167-6369. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10236-z>. [cit. 2023-10-29].

GHOSH, Swayambhu, GOSWAMI, Anup Jyoti, GHOSH, Goutam Kumar a PRAMANIK, Prabhat. Quantifying the relative role of phytase and phosphatase enzymes in phosphorus mineralization during vermicomposting of fibrous tea factory waste. Online. *Ecological Engineering*. 2018, roč. 116, s. 97-103. ISSN 09258574. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.03.001>. [cit. 2023-11-26].

GOMEZ, Enrique J., DELGADO, Jose A. a GONZALEZ, Juan M. Influence of water availability and temperature on estimates of microbial extracellular enzyme activity. Online. *PeerJ*. 2021, roč. 9. ISSN 2167-8359. Dostupné z: <https://doi.org/10.7717/peerj.10994>. [cit. 2023-11-25].

GOODAY, Graham W. Physiology of microbial degradation of chitin and chitosan. Online. In: RATLEDGE, Colin (ed.). Biochemistry of microbial degradation. Dordrecht: Springer Netherlands, 1994, s. 279-312. ISBN 978-94-010-4738-8. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-94-011-1687-9_9. [cit. 2023-10-28].

HANČ, Ales, DUME, Bayu a HREBEČKOVÁ, Tereza. Differences of Enzymatic Activity During Composting and Vermicomposting of Sewage Sludge Mixed With Straw Pellets. Online. Frontiers in Microbiology. 2022, roč. 12. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.801107>. [cit. 2023-10-29].

HANČ, Aleš. Optimální přístupy k vermi kompostování čistírenského kalu. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2022. ISBN 978-80-213-3224-9.

HAVEL, Milan a VÁLEK, Petr. Arsen. Arnika [online]. 2010, 22.08.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/arsen>

HAVEL, Milan a VÁLEK, Petr. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs). Arnika [online]. 2010, 16.05.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/polycyklicke-aromaticke-uhlovodiky-pahs>

HAVEL, Milan, VÁLEK, Petr a GAŽÁKOVÁ, Lucie. Olovo. Arnika [online]. 2010, 28.04.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/olovo>

HAVEL, Milan, VÁLEK, Petr, VEBR, Vít a PETRLÍK, Jindřich. Zinek. Arnika [online]. 2010, 18.02.2018 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/zinek>

HAVUKAINEN, Jouni, NGUYEN, Mai Thanh, HERMANN, Ludwig, HORTTANAINEN, Mika, MIKKILÄ, Mirja et al. Potential of phosphorus recovery from sewage sludge and manure ash by thermochemical treatment. Online. Waste Management. 2016, roč. 49, s. 221-229. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.020>. [cit. 2023-11-20].

HOFFMAN, Pavel a Václav NOVÁK. Zpracování exhalací a odpadů. Praha: Vydavatelství ČVUT, 1997. ISBN 80-01-01697-8.

HOLTZ, Susan. There Is No "Away." Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine-Disrupting Substances: Emerging Contaminants Detected in Water. Canadian Institute for Environmental Law and Policy, 2006. ISBN 1-896588-54-9.

HORÁKOVÁ, Danuška, NĚMEC, Miroslav a SZOSTKOVÁ, Monika. Laboratorní cvičení z fyziologie bakterií [online]. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007 [cit. 2023-10-28]. Elportál. Dostupné z: <http://is.muni.cz/elportal/?id=713185>. ISSN 1802-128X.

INNEMANOVÁ, Petra; GRASSEROVÁ, Alena a CAJTHAML, Tomáš. PILOT-SCALE VERMICOMPOSTING OF DEWATERED SEWAGE SLUDGE FROM MEDIUM-SIZED WWTP. Online. Detritus. 2022, č. 18, s. 35-41. ISSN 2611-4135. Dostupné z: <https://doi.org/10.31025/2611-4135/2022.15166>. [cit. 2023-12-07].

JUHASZ, Albert L., KEITH, Adam, JONES, Ruby a KASTURY, Farzana. Impact of precursors and bioaccessibility on childhood PFAS exposure from house dust. Online. Science of The Total Environment. 2023, roč. 889. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164306>. [cit. 2023-11-20].

KALINA, Miroslav. Kompostování a péče o půdu. Praha: Grada, 1999. Česká zahrada. ISBN 80-7169-697-8.

KLEGER, Ladislav a VÁLEK, Petr. Měď. Arnika [online]. 2010, 27.04.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/med>

KLEGER, Ladislav, VÁLEK, Petr a PETRLÍK, Jindřich. Nikl. Arnika [online]. 2010, 28.04.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/nikl>

LIANG, Zhen, PENG, Xianjia, WANG, Jun, LUAN, Zhaokun, LIU, Zhimei et al. Immobilization of phosphorus in sewage sludge using inorganic amendments. Online. Environmental Earth Sciences. 2011, roč. 63, č. 2, s. 221-228. ISSN 1866-6280. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12665-010-0681-5>. [cit. 2023-11-20].

LIM, Su Lin, WU, Ta Yeong, LIM, Pei Nie a SHAK, Katrina Pui Yee. The use of vermicompost in organic farming: overview, effects on soil and economics. Online. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2015, roč. 95, č. 6, s. 1143-1156. ISSN 00225142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6849>. [cit. 2023-10-29].

LIU, Qiang, FANG, Zheng, LIU, Yuan, LIU, Yangyang, XU, Yunfeng et al. Phosphorus speciation and bioavailability of sewage sludge derived biochar amended with CaO. Online. Waste Management. 2019, roč. 87, s. 71-77. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.01.045>. [cit. 2023-11-20].

LYČKOVÁ, Barbora, FEČKO, Peter a KUČEROVÁ, Radmila. Zpracování kalů: Stabilizace a hygienizace [online]. 2008 [cit. 2023-07-04]. Dostupné z: <http://hgf10.vsb.cz/546/ZpracovaniKalu/stabilizace.html>

MATĚJŮ, Ladislava. Metodický návod pro stanovení indikátorových organismů v bioodpadech, upravených bioodpadech, kalech z čistíren odpadních vod, digestátech, substrátech, kompostech, pomocných růstových prostředcích a podobných maticích. Státní zdravotní ústav, 2009. ISSN 1804-9613.

MERTZ, Blake, HILL, Anthony D., MULAKALA, Chandrika a REILLY, Peter J. Automated docking to explore subsite binding by glycoside hydrolase family 6 cellobiohydrolases and endoglucanases. Online. Biopolymers. 2007, roč. 87, č. 4, s. 249-260. ISSN 0006-3525. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bip.20831>. [cit. 2023-10-28].

MONROY, Fernando, AIRA, Manuel a DOMÍNGUEZ, Jorge. Changes in density of nematodes, protozoa and total coliforms after transit through the gut of four epigeic earthworms (*Oligochaeta*). *Applied Soil Ecology* [online]. 2008, 39(2), 127-132 [cit. 2022-05-26]. ISSN 09291393. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsoil.2007.11.011

MUNROE, Glenn. Manual of On-Farm Vermicomposting and Vermiculture. Online. ResearchGate. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/268254767_Manual_of_On-Farm_Vermicomposting_and_Vermiculture. [cit. 2023-12-05].

NAIR, Jaya, SEKIOZOIC, Vanja a ANDA, Martin. Effect of pre-composting on vermicomposting of kitchen waste. Online. *Bioresource Technology*. 2006, roč. 97, č. 16, s. 2091-2095. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.09.020>. [cit. 2023-11-25].

NAVARRO, Irene, SANZ, Paloma a MARTÍNEZ, María Ángeles. Analysis of perfluorinated alkyl substances in Spanish sewage sludge by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Online. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011, roč. 400, č. 5, s. 1277-1286. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4655-6>. [cit. 2023-11-19].

NGO, Phuong-Thi, RUMPEL, Cornelia, NGO, Quoc-Anh, ALEXIS, Marie, VARGAS, Gabriela Velásquez et al. Biological and chemical reactivity and phosphorus forms of buffalo manure compost, vermicompost and their mixture with biochar. Online. *Bioresource Technology*. 2013, roč. 148, s. 401-407. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.098>. [cit. 2023-11-26].

NOVOTNÁ, Kateřina, ČERMÁKOVÁ, Lenka; PIVOKONSKÁ, Lenka; CAJTHAML, Tomáš a PIVOKONSKÝ, Martin. Microplastics in drinking water treatment - Current knowledge and research needs. Online. *Science of The Total Environment*. 2019, roč. 667, s. 730-740. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.431>. [cit. 2023-11-20].

OLESZCZUK, Patryk. Investigation of potentially bioavailable and sequestered forms of polycyclic aromatic hydrocarbons during sewage sludge composting. Online. *Chemosphere*. 2007, roč. 70, č. 2, s. 288-297. ISSN 00456535. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.06.011>. [cit. 2023-11-26].

PATEL, Avani Bharatkumar; SHAIKH, Shabnam; JAIN, Kunal R.; DESAI, Chirayu a MADAMWAR, Datta. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches. Online. *Frontiers in Microbiology*. 2020, roč. 11. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>. [cit. 2023-11-26].

PATHMA, Jayakumar a SAKTHIVEL, Natarajan. Microbial and Functional Diversity of Vermicompost Bacteria. Online. In: MAHESHWARI, Dinesh K. (ed.). *Bacterial Diversity in Sustainable Agriculture. Sustainable Development and Biodiversity*. Cham: Springer International Publishing, 2014, s. 205-225. ISBN 978-3-319-05935-8. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-319-05936-5_9. [cit. 2023-11-05].

PETRLÍK, Jindřich a VÁLEK, Petr. Kadmium. Arnika [online]. 2010, 31.08.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/kadmium>

PETRLÍK, Jindřich a VÁLEK, Petr. Polychlorované bifenyly (PCB). Arnika [online]. 2010, 16.05.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/polychlorovane-bifenyly-pcb>

PETRLÍK, Jindřich a VÁLEK, Petr. Rtuť. Arnika [online]. 2010, 10.06.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/tezke-kovy/mercury>

PETRLÍK, Jindřich, VÁLEK, Petr a PŘIBYLOVÁ, Jarmila. Chrom. Arnika [online]. 2010, 31.08.2022 [cit. 2023-10-29]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/chrom>

PIVOKONSKÝ, Martin, PIVOKONSKÁ, Lenka, NOVOTNÁ, Kateřina, ČERMÁKOVÁ, Lenka a KLIMTOVÁ, Martina. Occurrence and fate of microplastics at two different drinking water treatment plants within a river catchment. Online. Science of The Total Environment. 2020, roč. 741. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140236>. [cit. 2023-11-20].

PLÍVA, Petr, ALTMANN, Vlastimil, HANČ, Aleš, HEJÁTKOVÁ, Květuše, ROY, Amitava, SOUČEK, Jiří a VALENTOVÁ, Lucie. Kompostování a kompostárny. Praha: Profi Press, 2016. ISBN 978-80-86726-74-8

POLUSZYŃSKA, Joanna; JAROSZ-KRZEMIŃSKA, Elżbieta a HELIOS-RYBICKA, Edeltrauda. Studying the Effects of Two Various Methods of Composting on the Degradation Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Sewage Sludge. Online. Water, Air, & Soil Pollution. 2017, roč. 228, č. 8. ISSN 0049-6979. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3481-7>. [cit. 2023-11-26].

RAGOOBUR, Doorgha, HUERTA-LWANGA, Esperanza a SOMAROO, Geeta Devi. Reduction of microplastics in sewage sludge by vermicomposting. Chemical Engineering Journal [online]. 2022, 450 [cit. 2022-10-23]. ISSN 13858947. Dostupné z: [doi:10.1016/j.cej.2022.138231](https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138231)

RAJ, Dev a ANTIL, R.S. Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. Online. Bioresource Technology. 2011, roč. 102, č. 3, s. 2868-2873. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.077>. [cit. 2023-11-26].

SELEIMAN, Mahmoud F., SANTANEN, Arja a MÄKELÄ, Pirjo S.A. Recycling sludge on cropland as fertilizer - Advantages and risks. Resources, Conservation and Recycling [online]. 2020, 155 [cit. 2023-05-04]. ISSN 09213449. Dostupné z: [doi:10.1016/j.resconrec.2019.104647](https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104647)

SHARMA, K., GARG, V.K. Vermi-modification of ruminant excreta using *Eisenia fetida*. Environ Sci Pollut Res 24, 19938-19945 (2017). <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9673-2>

SINGH, A., KARMEGAM, N., SINGH, G.S. et al. Earthworms and vermicompost: an eco-friendly approach for repaying nature's debt. *Environ Geochem Health* 42, 1617-1642 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00510-4>

SINGH, R.P. a AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management* [online]. 2008, 28(2), 347-358 [cit. 2022-10-23]. ISSN 0956053X. Dostupné z: [doi:10.1016/j.wasman.2006.12.010](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.12.010)

SINHA, Rajiv K., HERAT, Sunil, BHARAMBE, Gokul a BRAHAMBHATT, Ashish. Vermistabilization of sewage sludge (biosolids) by earthworms: converting a potential biohazard destined for landfill disposal into a pathogen-free, nutritive and safe biofertilizer for farms. Online. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*. 2010, roč. 28, č. 10, s. 872-881. ISSN 0734-242X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/0734242X09342147>. [cit. 2023-11-04]

SLAVÍČKOVÁ, Kateřina, SLAVÍČEK Marek. *Vodní hospodářství obcí 1: úprava a čištění vody*. 2., přeprac. vyd., v Praze: České vysoké učení technické, 2013. ISBN 978-80-01-05390-4

SOROURI, Bahareh a ALLISON, Steven D. Microbial extracellular enzyme activity with simulated climate change. Online. *Elementa: Science of the Anthropocene*. 2022, roč. 10, č. 1. ISSN 2325-1026. Dostupné z: <https://doi.org/10.1525/elementa.2021.00076>. [cit. 2023-11-25].

STRAKOVÁ, Jitka. Perfluorované a polyfluorované látky (PFAS). Online. *Arnika*. 2020, aktualizováno 20.02.2022. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/perfluorovane-a-polyfluorovane-latky-pfas>. [cit. 2023-11-23].

STREK, H.J. a WEBER, J.B. Behaviour of polychlorinated biphenyls (PCBs) in soils and plants. Online. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*. 1982, roč. 28, č. 4, s. 291-312. ISSN 01431471. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0143-1471\(82\)90146-5](https://doi.org/10.1016/0143-1471(82)90146-5). [cit. 2023-10-29].

SUTHAR, Surindra, SAJWAN, Poonam a KUMAR, Kapil. Vermiremediation of heavy metals in wastewater sludge from paper and pulp industry using earthworm *Eisenia fetida*. Online. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2014, roč. 109, s. 177-184. ISSN 01476513. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.07.030>. [cit. 2023-10-29].

SUTHAR, Surindra. Pilot-scale vermireactors for sewage sludge stabilization and metal remediation process: Comparison with small-scale vermireactors. *Ecological Engineering* [online]. 2010, 36(5), 703-712 [cit. 2022-10-23]. ISSN 09258574. Dostupné z: [doi:10.1016/j.ecoleng.2009.12.016](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.12.016)

SWATI, Ankita a HAIT, Subrata. A Comprehensive Review of the Fate of Pathogens during Vermicomposting of Organic Wastes. Online. *Journal of Environmental Quality*. 2018, roč. 47, č. 1, s. 16-29. ISSN 0047-2425. Dostupné z: <https://doi.org/10.2134/jeq2017.07.0265>. [cit. 2023-12-07].

ŠÁLEK, Jan, TLAPÁK Václav. Přírodní způsoby čištění znečištěných povrchových a odpadních vod. Praha: Pro Českou komoru autorizovaných inženýrů a techniků činných ve výstavbě (ČKAIT) vydalo Informační centrum ČKAIT, 2006. Technická knižnice autorizovaného inženýra a technika. ISBN 80-86769-74-7

ŠARAPATKA, Bořivoj a ČÁP, Ladislav. Enzymy, jejich význam, funkce a metody stanovení aktivity v půdě: uplatněná certifikovaná metodika. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2013. ISBN 978-80-244-3361-5.

VÁLEK, Petr. Halogenované organické sloučeniny (AOX). Online. Arnika. 2010, aktualizováno 31.08.2022. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/halogenovane-organicke-slouceniny-aox>. [cit. 2023-11-23].

VAN DEN BERG, Pim, HUERTA-LWANGA, Esperanza, CORRADINI, Fabio a GEISSEN, Violette. Sewage sludge application as a vehicle for microplastics in eastern Spanish agricultural soils. Online. Environmental Pollution. 2020, roč. 261. ISSN 02697491. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114198>. [cit. 2023-11-19].

VUKOVIĆ, Ana, VELKI, Mirna, EČIMOVIĆ, Sandra, VUKOVIĆ, Rosemary, ŠTOLFA ČAMAGAJEVAC, Ivna et al. Vermicomposting-Facts, Benefits and Knowledge Gaps. Online. Agronomy. 2021, roč. 11, č. 10. ISSN 2073-4395. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agronomy11101952>. [cit. 2023-11-05].

XIANGZHEN, Li a PARIENTE, Sarah. Arylsulfatase activity of soil microbial biomass along a Mediterranean-arid transect. Online. Soil Biology and Biochemistry. 2003, roč. 35, č. 7, s. 925-934. ISSN 00380717. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00143-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00143-3). [cit. 2023-10-28].

XIE, Ya-Wei, CHEN, Lu-Jun, LIU, Rui a TIAN, Jin-Ping. AOX contamination in Hangzhou Bay, China: Levels, distribution and point sources. Online. Environmental Pollution. 2018, roč. 235, s. 462-469. ISSN 02697491. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.089>. [cit. 2023-11-23].

YADAV, Kunwar D., TARE, Vinod a AHAMMED, M. Mansoor. Vermicomposting of source-separated human faeces for nutrient recycling. Online. Waste Management. 2010, roč. 30, č. 1, s. 50-56. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.09.034>. [cit. 2023-11-04].