

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Změny enzymatické aktivity během vermikompostování**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Hana Záleská**

**Obor studia: Odpady a jejich využití**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Aleš Hanč, Ph.D.**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci na téma "Změny enzymatické aktivity během vermikompostování" vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne .....

.....

**Bc. Hana Záleská**  
autorka diplomové práce

### **Poděkování**

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucímu mé práce panu doc. Ing. Aleši Hančovi, Ph.D. a Ing. Tereze Částkové za cenné rady, trpělivost a ochotu, kterou mi během zpracovávání mé práce věnovali. Dále panu RNDr. Petrovi Baldriánovi, Ph.D. za konzultaci.

# Změny enzymatické aktivity během vermikompostování

## Souhrn

Cílem mé diplomové práce bylo zhodnotit změny enzymatické aktivity u čtyř různých enzymů ( $\beta$ -D-glukosidáza, kyselá fosfatáza, arylsulfatáza a lipáza) během vermikompostování čtyř různých bioodpadů (lihovarské výpalky se slámou a senem, biologicky rozložitelný komunální odpad, kal ze sladoven spolu se štěpkou, slámou, jablky, trávou a makovinou a matolina z révy vinné). A dále potvrdit nebo zamítnout hypotézy (hypotéza č. 1: „Hodnoty aktivit jednotlivých enzymů se odlišují v závislosti na surovinách“, hypotéza č. 2: „Nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity se vyskytují v čerstvém vermikompostu“).

Vermikompostování je proces, během kterého dochází činností žízá a mikroorganismů k přeměně organického materiálu na vermikompost. Ten obsahuje vysoce kvalitní humus, růstové hormony a právě také enzymy. Enzymy jsou všudypřítomné, jsou obsaženy v živých i mrtvých buňkách mikroorganismů, v rostlinách nebo rostlinných residuích a v exkrementech půdních živočichů. Hrají v koloběhu živin a při rozkladu organických látek hlavní roli, jelikož vytváří z organických sloučenin jejich anorganické formy, které jsou jednodušeji přístupné pro rostliny.

Enzymy jsou rozděleny do šesti hlavních tříd podle typu katalyzované reakce. Všechny námi zkoumané enzymy patří do třídy hydroláz. Jedná se o nejpočetnější třídu enzymů, která katalyzuje hydrolytické štěpení. Dále se enzymy dělí podle místa působení na intracelulární a extracelulární. Námi zkoumané čtyři enzymy patří mezi extracelulární enzymy.

Enzymatická aktivita je charakterizována rychlostí přeměny substrátu na reakční produkt. Tato rychlost je závislá na pH prostředí a jeho složení, teplotě, přítomnosti efektorů, množství enzymu a koncentraci substrátu. Její stanovení se nejčastěji provádí spektrofotometrickými nebo fluorescenčními metodami. V našem experimentu byla využita fluorescenční metoda. Každý enzym měl svůj fluorogenní substrát, který byl schopný štěpit.

Ze získaných výsledků nebylo možno hypotézy jednoznačně ani potvrdit, ani zamítnout. U každé hypotézy alespoň jeden enzym nebo bioodpad nekoreloval s ostatními. První hypotéza byla potvrzena u  $\beta$ -D-glukosidázy a arylsulfatázy, zatímco u lipázy a kyselé fosfatázy byla zamítnuta. Druhá hypotéza byla potvrzena u kyselé fosfatázy, kde této hypotéze odpovídaly hodnoty u třech bioodpadů. U  $\beta$ -D-glukosidázy byla zamítnuta, zde této hypotéze odpovídaly hodnoty pouze u jednoho bioodpadu. U arylsulfatázy a lipázy hypotézu nešlo ani potvrdit ani zamítnout, jelikož polovina hodnot této hypotéze odpovídala a polovina nikoli.

Právě z důvodu velkého množství ovlivňujících faktorů nelze uvést konkrétní hodnoty pro dosažení nejvyšší a nejúčinnější enzymatické aktivity pro zpracovávání bioodpadů. Pokud u jednoho typu bioodpadu bylo docíleno vysokých hodnot enzymatické aktivity, neznamená to, že u druhého typu tomu také tak bude. Přesto však tyto výsledky poukazují na to, že vermikompostování lze považovat jak za ekologickou, tak i ekonomicky výhodnou technologii při zpracování velkého množství bioodpadu.

**Klíčová slova:** enzymatická aktivita, bioodpad, vermikompostování, biomasa žízá

# Changes of enzymatic activity during vermicomposting

## Summary

Aim of this thesis was to evaluate changes in enzymatic activity in four different enzymes ( $\beta$ -D-glukosidase, acid phosphatase, arylsulfatase and lipase), during vermicomposting of four different biowastes (stillage with straw and hay, biodegradable municipal waste, sludge from malting, together with the wood chips, straw, apples, grass and poppy marc and grape marc). And further to confirm or reject the hypothesis (hypothesis no. 1: „Activity values of the individual enzymes are different depending on raw materials“, hypothesis no. 2: „The highest enzymatic activity was found in fresh vermicompost“).

Vermicomposting is a process, during which activity of earthworms and microorganisms transform organic material into vermicompost. It includes a high quality humus, growth hormones and also enzymes. Enzymes are ubiquitous, they are contained in living and dead cells of microorganisms, plants or plant residues and in excrements of soil animals. They have major role in nutrient cycling and during decomposition of organic substances, because they produces inorganic forms from organic compounds, which are easily accessible to plants.

Enzymes are classified into six major classes according to the type of catalyzed reactions. All enzymes, which we examined belong to the class of hydrolases. It is the largest class of enzymes and it catalyzes the hydrolytic cleavage. Furthermore, the enzymes are divided according to the site of action into intracellular and extracellular. All enzymes which we examined belong to extracellular enzymes.

The enzymatic activity is characterized by the rate of transformation of substrate into the reaction product. This speed is dependent on the pH and his composition, temperature, presence of effectors, amounts of enzyme and substrate concentration. Its determination is usually performed by spectrophotometric or fluorescent methods. Fluorescent method was used in our experiment. Each enzyme had fluorogenic substrate, which was capable of cleaving.

We were unable to confirm or reject our hypothesis from obtained results. In every hypothesis at least at one enzyme or biowaste didn't correlate with others. The first hypothesis was confirmed at  $\beta$ -D-glucosidase and arylsulfatase, while at lipase and acid phosphatase the hypothesis was rejected. The second hypothesis was confirmed at acid phosphatase, where three biowastes matched with this hypothesis. At  $\beta$ -D-glucosidase the hypothesis was rejected, because in this case only one biowaste matched with this hypothesis. In case of arylsulfatase and lipase we weren't able to confirm nor reject our hypothesis, because one half of our results matched and the other half didn't.

Because of the large amounts of influencing factors, we can't give specific values for achieving the highest and the most effective enzymatic activity for processing of biowaste. Achieving high levels of enzymatic activity in one type of organic waste, doesn't mean, that it'll be the same at the second type. Nevertheless, these results indicate, that vermicomposting can be considered ecological and also economical technology in processing of large amounts of biowaste.

**Keywords:** enzymatic activity, biowaste, vermicomposting, earthworm biomass

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Cíl práce.....	2
3. Literární rešerše .....	3
3.1. Kompostování .....	3
3.2. Vermikompostování.....	5
3.2.1. Vermikompostování vs. kompostování .....	5
3.2.2. Žížaly.....	7
3.2.3. Podmínky verмикompostování.....	8
3.3. Enzymy .....	11
3.3.1. Názvosloví enzymů .....	12
3.3.2. Dělení enzymů.....	13
3.3.3. Enzymatická aktivita .....	14
3.3.4. $\beta$ -D-glukosidáza, kyselá fosfatáza, arylsulfatáza, lipáza.....	15
4. Materiál a metodika .....	19
4.1. Typy bioodpadů .....	19
4.2. Zakládání verмикompostů.....	20
4.3. Analýzy .....	23
4.3.1. Agrochemické analýzy .....	23
4.3.2. Biologické analýzy .....	25
4.3.3. Stanovení mikrobiální aktivity .....	25
4.3.4. Stanovení enzymatické aktivity.....	26
4.3.5. Statistické analýzy .....	28
5. Výsledky .....	29
5.1. Výsledky agrochemických a biologických analýz.....	29
5.2. Výsledky stanovení mikrobiální aktivity .....	31
5.3. Výsledky stanovení enzymatické aktivity.....	32
5.3.1. $\beta$ -D-glukosidáza .....	32
5.3.2. Kyselá fosfatáza.....	36
5.3.3. Arylsulfatáza.....	40
5.3.4. Lipáza .....	44
6. Diskuze .....	48
7. Závěr .....	56

8. Seznam zkratk .....	57
9. Seznam literatury .....	58
10. Seznam příloh .....	67

# 1. Úvod

Odpady jsou současným celosvětovým problémem. Hledají se proto různé způsoby, jak se odpadu nejen co nejefektivněji zbavit, ale spíše jak jej využít. Podle studie MŽP pro EU bylo v ČR v roce 1995 skládkováno 1 530 000 tun biologicky rozložitelného komunálního odpadu. V roce 2013 to bylo sice skoro o 350 000 tun méně (1 187 920 tun), ale i tak je toto číslo stále obrovské.

Snížení celkového množství vyprodukovaného odpadu je samozřejmě důležité, avšak zásadní význam má způsob nakládání s ním. Hlavním právním předpisem, který se týká této oblasti, je zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění účinném k 1. 1. 2017. Ten stanovuje hierarchii nakládání s odpady: předcházení vzniku odpadů, opětovné použití, materiálové využití, jiné využití (např. energetické), odstranění. Jeho cílem je tedy v co největší možné míře předcházet vzniku odpadů, využívat vzniklé odpady jako zdroj a co nejvíce snížit množství odpadů ukládaných na skládkách.

V mnoha zemích stejně jako v ČR tvoří značnou část odpadu biologicky rozložitelný odpad (kuchyňský odpad, zahradní odpady, biologický odpad z výroby, apod.). Tento druh odpadu (pokud je sbírán odděleně) může být přeměněn na zdroj energie (bioplyn) nebo hnojivo. Odpad může být kompostován, kdy cestou převážně aerobního biologického procesu získáváme stabilizovaný kompost. V poslední době se dostává do popředí i podobný způsob tzv. vermikompostování. Zde dochází k přeměně biologicky rozložitelného odpadu především pomocí žížal (makroorganismů), ale také hub a bakterií (mikroorganismů). Vlivem těchto organismů se do kompostu a poté do půdy dostávají enzymy, tedy látky biologického původu, které urychlují chemické reakce. Mnoho reakcí spojených s přeměnou půdní organické hmoty je katalyzováno právě enzymy. Tyto enzymy přeměňují organické látky na látky anorganické, které rostliny přijímají snáze.

Sledování změn aktivity enzymů v těchto procesech je tedy velmi důležité. Enzymy zde slouží jako ukazatel správného a kvalitního kompostování. A to je velmi důležité jak z hlediska agronomického, tak i environmentálního. Při použití nesprávně připraveného kompostu lze vyvolat fytotoxické účinky, a tím způsobit i negativní vliv na životní prostředí.



## 2. Cíl práce

Cílem mé diplomové práce bylo porovnat a vyhodnotit změny enzymatické aktivity během vermikompostovacího procesu u čtyř různých bioodpadů. Jednalo se o tyto druhy odpadů: lihovarské výpalky se slámou a senem, biologicky rozložitelný komunální odpad, matolína a směs různého bioodpadu (směs se skládala z cca 20 % kalu ze sladoven, dále ze štěpky, slámy, jablek, trávy a makoviny). Pro tyto účely byl použit systém průběžného krmení žížal (*Eisenia andrei*).

Dalším cílem bylo potvrdit tyto dvě hypotézy:

- Hodnoty aktivit jednotlivých enzymů se odlišují v závislosti na surovinách,
- Nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity se vyskytují v čerstvém vermikompostu.

## 3. Literární rešerše

### 3.1. Kompostování

Pod pojmem kompostování se rozumí způsob využívání biologicky rozložitelných odpadů (dále jen bioodpad nebo BRO), kterým se za kontrolovaných podmínek aerobních procesů a činnosti mikroorganismů přeměňuje bioodpad na kompost (Plíva a kol., 2016).

Výroba a zemědělské využití kompostu dosáhly nejvyššího rozvoje v osmdesátých letech minulého století, kdy kompostování bylo preferováno jako způsob zabezpečení soběstačnosti ve výrobě potravin zvyšováním úrodnosti zemědělské půdy. K absolutnímu maximu roční výroby kompostu došlo v roce 1987 (Váňa, 2015).

Ke kompostování se hodí organické odpady ze zemědělství jako například tráva, zbytky zeleniny, zvadlé části rostlin, odštíhané větve (Hejátková a kol., 2008). Dále také kuchyňský a domovní odpad jako jsou slupky z brambor a ostatní zbytky zeleniny, zbytky ovoce, kávová sedlina, vlasový odpad, zbytky vlny, papírové ubrousky a papírové kapesníky, apod. (Šarapatka a Urban, 2003). Do kompostu se dává i anorganická hmota, nejčastěji zemina, popel či rybníční bahno. Dále se přidává hnůj či močůvka jako mikrobiálně bohatý substrát. Do kompostu rozhodně nepatří umělé hmoty, kovový odpad, sklo, kamení a těžko se rozkládající organický materiál jako kosti, kůže nebo nerozmělněné dřevo (Sulzberger, 1996).

Pro zajištění optimálního průběhu kompostovacího procesu – optimální doby ke kompostování – je nutné monitorovat určité fyzikálně-chemické, chemické a mikrobiologické vlastnosti zpracovávaných surovin. Zjišťované hodnoty se měří jak v průběhu kompostovacího procesu, tak i po jeho ukončení. V průběhu procesu patří mezi zjišťované hodnoty: měření teploty v zakládce, určování vlhkosti zakládky a měření obsahu kyslíku v zakládce. Po ukončení kompostovacího procesu se zjišťují tyto hodnoty: stanovení stability a zralosti kompostu, mikrobiologické a chemické hodnocení kompostu (Plíva a kol., 2016).

Během kompostování dochází ke zpracování materiálu nejrůznějšími mikroorganismy (převážně bakteriemi a houbami), které potřebují pro svou činnost velmi specifické podmínky: vzduch (kyslík), vlhkost, složení výchozího materiálu, přídavek půdy, promíchávání kompostu, tmu a teplo (Kalina, 2004). Sulzberger (1996) doplňuje, že důležitým faktorem je také příznivý vztah mezi prvky C:N a nerušený půdní život.

Důležitým faktorem je provzdušňování kompostu (Hejátková a kol., 2008) a vytváření optimálních aerobních podmínek. Nejdůležitější je dostatek kyslíku především na začátku kompostování, aby mohlo dojít k „nastartování procesu“ (Sulzberger, 1996).

Správná vlhkost je pro mikroorganismy zásadní. Při nedostatku vody ihned zastavují svou činnost (Kalina, 2004). Je-li však naopak příliš vlhko, dochází v důsledku nedostatku vzduchu k nežádoucím hnilobným procesům (Hejátková a kol., 2008). Váňa (1997) uvádí, že optimální vlhkost u čerstvého kompostu pro zemité komposty s obsahem organických látek do 20 % v sušině (např. na bázi rybníčního bahna) je 45 – 50 %. Komposty ze zemědělských odpadních hmot s obsahem 30 – 40 % organických látek v sušině vyžadují počáteční vlhkost 55 – 60 %. Organické komposty ze stromové kůry, dřevních odpadů a při kompostování chlévské mrvy se zeminou, kdy obsah organických látek v sušině je v rozmezí 50 – 75 %, vyžaduje vlhkost 60 – 70 %.

Abychom dosáhli u zralého kompostu C:N v rozmezí 25 – 30:1, je třeba optimalizovat C:N v čerstvém kompostu v rozmezí 30 – 35:1 (Váňa, 1997).

Tab. č. 1.: Suroviny s vysokým obsahem uhlíku vs. suroviny s vysokým obsahem dusíku

Suroviny s vysokým obsahem uhlíku		Suroviny s vysokým obsahem dusíku	
<b>piliny</b>	100:1 až 500:1	<b>slepičí trus</b>	13:1 až 18:1
<b>papír</b>	150:1 až 200:1	<b>odpad ze zeleniny</b>	12:1 až 15:1
<b>kůra</b>	35:1	<b>kuchyňský odpad</b>	12:1 až 20:1
<b>listí</b>	30:1 až 60:1	<b>posekaná tráva</b>	12:1 až 25:1

*zdroj: Hohenberger (1999)*

Celkový proces kompostování dělíme do čtyř fází (Šarapatka a Urban, 2003). 1. fáze odbourávání (hygienizace), 2. fáze přestavby, 3. fáze výstavby, 4. fáze dozrávání. Kalina (2004) uvádí pouze fáze tři: 1. fáze rozkladu, 2. fáze přeměny, 3. fáze výstavby (syntézy či zralosti).

V první fázi dochází k velkému pomnožení mikroorganismů, které odbourávají snadno rozložitelné látky. To způsobuje, že teplota stoupá až do rozmezí hodnot 60 – 80 °C (Šarapatka a Urban, 2003). Kalina (2004) uvádí teplotu okolo 50 – 70 °C a tvrdí, že tato fáze trvá 3 – 4 týdny. Hohenberger (1999) uvádí 3 – 6 týdnů. Sulzberger (1996) ještě dodává, že při této „horké fázi“ se usmrtí převážné množství choroboplodných zárodků a semen plevelů. Proto tuto fázi nazýváme fází tzv. hygienizace. Jak uvádí Hejátková a kol. (2008), druhá fáze pokračuje rozkladem hůře rozložitelných látek (např. krystalická celulóza a lignin), teplota začíná klesat, pohybuje se mezi 30 – 45 °C. Třetí fáze je ve znamení látkových přeměn, začíná probíhat mineralizace, teplota klesá pod 30 °C (Hohenberger, 1999). Ve čtvrté fázi jsou produkovány složitější organické látky humusové povahy (Šarapatka a Urban, 2003). Čerstvý (surový) kompost je přeměňován na zralý kompost (Sulzberger, 1996). Kalina (2004) dodává, že účinnost humusu se zvyšuje. Živiny jsou pevněji vázány a déle se do půdy uvolňují.

Kompostování nesmí způsobit znečištění podzemních ani povrchových vod (Šarapatka a Urban, 2003). Tomu lze zabránit zakoupením speciální geotextílie, která je vyrobena z plastových vláken a je vzhledově podobná filcu. Geotextílie pouze propouští vzduch, nasáklou vodu však do kompostu nepustí (Hohenberger, 1999). Tento způsob je však účinný pouze pro kompostování v malém měřítku. Větší kompostárny musí být vybaveny jímkami, do kterých voda odtéká.

Během kompostování tedy vzniká kvalitní organická hmota (kompost), obsahující středně humifikované humusové látky. Komposty jsou významným zdrojem pro doplnění důležitých živin do půdy, které rozhodujícím způsobem ovlivňují její fyzikální, chemické a zejména biologické vlastnosti (Plíva a kol., 2016).

## 3.2. Vermikompostování

Vermikompostování je proces, při kterém dochází za pomoci žížal k přeměně organického materiálu (odpadu) na vermikompost (Suthar a Singh, 2008). Název vermikompostování pochází z latinského slova *vermis*, což znamená červ (Plíva a kol., 2016). Historie vermikompostování začíná, jak uvádí Kalina (2004), již začátkem sedmdesátých let 20. století, kdy v Japonsku začali zpracovávat zemědělské odpady pomocí dešťovek. Tato technologie se osvědčila, a tak se začala rychle šířit v USA a v Evropě. U nás se pak začala uplatňovat od roku 1985.

Podstatou vermikompostování je využití interakce mezi intenzivní činností žížal a mikroorganismů. Žížaly v tomto procesu zabezpečují překopávání, fragmentaci a aeraci vermikompostu (Plíva a kol., 2016). Vermikompost zároveň obohacují svými exkrementy. Jak uvádí Hanč a kol. (2013), jedná se o proces, při kterém dochází k přeměně organického materiálu na humusu-podobný materiál nazývaný vermikompost, někdy též biohumus. Blahušová (2016) tuto informaci doplňuje a uvádí, že kromě drobtovitého vermikompostu v pevné formě, získáváme při vermikompostování rovněž tzv. „žížalí výluh (vermiwash)“ (Hanč a kol., 2016). Jedná se o přebytečnou vlhkost, která je odváděna do zásobníku na vodu a kterou lze průběžně čerpat. Tuto tekutinu můžeme v případě potřeby jednoduše přidávat do zálivky (Blahušová, 2016). Hanč (2017) doporučuje přebytečnou tekutinu (výluh) míchat s vodou v poměru 1:9. Takto upravený roztok je možné použít ve formě hnojivé zálivky nebo postřiku.

Vermikompost má charakter jemného, humózního a mikrobiálně aktivního materiálu (Hanč a kol., 2013). Kalina (2004) tuto informaci doplňuje a uvádí, že po vysušení má vermikompost vzhled jemné lesní půdy. Hanč a kol. (2013) dále tvrdí, že je stabilní, homogenní a lze ho dobře hodnotit i po „estetické“ stránce. Exkrementy žížal, díky vyššímu obsahu auxinových látek, cytokininů (hormony mládí), gibberelinů (hormony stimulující růst) a volných aminokyselin, vysoce podporují růst rostlin a to až o 20 % při hnojení vermikompostem (Borkovcová a Žáková, 2015). Vermikompost je tedy přírodní substrát bohatý na minerální látky, enzymy (stimulátory růstu) a živiny. Kalina (2004) dodává, že se biohumus nejlépe osvědčuje v ekologickém zahrádkaření vzhledem k jeho pozitivnímu účinku na nutriční hodnotu produktů, omezování vstupu cizorodých látek do rostlin a potlačování rostlinných chorob a škůdců.

### 3.2.1. Vermikompostování vs. kompostování

Vermikompostování je technologie plně přátelská k životnímu prostředí a při dlouhodobém provozování je levnější než klasické kompostování (Hanč a Plíva, 2013). Ve srovnání s běžným kompostem se objem vermikompostovaného materiálu zmenší 5 – 6 krát (Borkovcová a Žáková, 2015), a tak lze zpracovat více odpadu a rychleji. Zajonc (1992) ve starší literatuře uvádí, že se délka samotného vermikompostovacího procesu zkracuje oproti kompostování asi na třetinu.

Vermikompostování se řadí k nízkonákladovým technologiím zpracování bioodpadů (Plíva a kol., 2016). V případě vermikompostování v pásových hromadách je v podstatě jedinou investicí nákup násady žížal, která se dá navíc poté použít pro další a další nové zakládky. Nejsou potřeba žádné traktory či překopávače kompostu, jako v případě klasických kompostů (Krása, 2014). Pokud se jedná o vermikompostování v domácnostech, je ještě

potřeba dokoupit vermikompostér. Ten lze však, jak uvádí Kalina (2014), snadno a rychle vyrobit.

Vermikompost je v mnoha ukazatelích lepší než klasický kompost (Marcinčák, 2015). Obsahuje vysoce kvalitní humus, růstové hormony, enzymy a látky, které jsou schopné chránit rostliny před škůdci a chorobami, a umožňuje lépe využít minerální látky, již obsažené v půdě. (Krása, 2014). Podle Hanče a kol. (2013) bývají vermikomposty považovány za neúčinnější organické hnojivo právě díky přítomnosti žízálních výkalů, ve kterých jsou zastoupeny neúčinnější huminové kyseliny, jejichž agronomická účinnost je o 60 – 70 % vyšší, než u běžných kompostů. S tvrzením, že se zvyšuje stupeň humifikace a stoupá i obsah huminových kyselin v produktu, souhlasí i Zajonc (1992). Další výhodou vermikompostu je to, že prospěšné látky jsou rostlinám k dispozici v nativní (přirozené) formě, a proto jsou i lépe vstřebatelné (80 – 90 %), oproti běžnému kompostu (40 – 50 %), (Borkovcová a Žáková, 2015). Vermikompost působí rovněž příznivě na strukturu půdy, čímž zajišťuje lepší hospodaření půdy s vodou (Hanč a kol., 2013), a také působí na vývoj kořenového systému. Krása (2014) ještě navíc doplňuje, že je vhodný pro obnovu půdní úrodnosti u vyčerpaných či kyselých půd.

Tab. č. 2. Srovnání parametrů dvou metod kompostování

Fáze	Parametr	Kompostování	Vermikompostování
<b>před započítím kompostování</b>	optimální C:N	30 – 35:1	20:1
	vhodné pH	6 – 8	6,5 – 7
<b>v průběhu kompostování</b>	správná vlhkost [%]	70	70 – 80
	obvyklá teplota [°C]	50 – 60	18 – 25
	potřeba kyslíku [% O <sub>2</sub> v prostředí]	minimální: 4	15
<b>po kompostování</b>	maximální C:N	30:1	30:1
	pH	6,0 – 8,5	6,0 – 8,5
	vlhkost [%]	minimální: 40 maximální: 65	minimální 40 maximální 65

zdroj: Slejška (1999)

U vermikompostování lze využít oproti klasickému kompostování více druhů odpadů, jako je například těsto, chlebové kůrky, vlasy, papírové ubrousky či vlhká papírová lepenka (Borkovcová a Žáková, 2015). Krása (2014) však uvádí, že méně vhodný pro vermikompostování je naopak čerstvý hnůj (musí se nechat alespoň dva týdny „vyvětrat“ a pak vyplavit čpavek a močovinu) a čerstvá tráva (musí se nechat aspoň dva týdny ležet, jinak poškozuje trávicí ústrojí žížal).

Zásadní nevýhodou vermikompostování, jak uvádí Plíva a kol. (2016), je však fakt, že na rozdíl od klasického kompostování nemůže zahrnovat termofilní fázi rozkladu. Během této fáze dochází k vysokým teplotám (nad 35 °C). Tyto teploty by žížaly nepřežily. Tím pádem neprojde vermikompost tzv. fází hygienizace, při které dochází k potlačování patogenů. S tímto tvrzením však nesouhlasí Vodrášková (2004), která uvádí, že existuje několik zpráv ve vědecké literatuře o potlačování z půdy pocházejících patogenů vermikomposty, například *Plasmodiophora brassicae* (nádorovka kapustová), *Phytophthora nicotianae parasitica* (plíseň tabáková), *Fusarium oxysporum* (srpovnička špičatovýtrusá) a *Rhizoctonia solani* (kořenomorka bramborová). Jsou naznačovány dva mechanismy potlačování patogenů: „specifické potlačování“, které je zprostředkováno konkurencí relativně omezené řady druhů

mikroorganismů a „celkové potlačování“ založené na mnohem širší diverzitě mikroorganismů. Hanč (2017) uvádí další způsoby, jakými jsou požití a rozmělnění ve svalnatém žaludku žízá, mikrobiální inhibice antimikrobiálními látkami nebo mikrobiálními antagonisty produkovanými žížalami ve střevech a tělních dutinách žízá. Popř. likvidace mikroorganismů enzymatickým trávením a biologickou přeměnou látek.

### 3.2.2. Žížaly

O významu žízá pro úrodnost půdy byli lidé přesvědčeni již od dob starověkého Egypta. Žížaly oceňoval i řecký filozof Aristoteles, který je nazýval „střevy matky Země“. Od dob Charlese Darwina, jenž jako první vědecky objasnil roli žízá při tvorbě humusu a vývoji půd, získali odborníci z celého světa řadu dokladů o jejich pozitivním vlivu na koloběh živin, půdní strukturu a v konečném důsledku i na výnosy a kvalitu pěstovaných plodin (Pižl, 2014). Slejška (1999) uvádí, že existuje mnoho druhů žízá, ovšem ne všechny jsou do vermikompostu vhodné. Využívané druhy jsou: *Eisenia fetida* (žízá hnojní), *Eisenia andrei* (žízá kalifornská), *Eisenia hortensis* zvaná též *Dendrobaena veneta* (dešťovka evropská) a *Lumbricus rubellus* (žízá načervenalá). Plíva a kol. (2016) s touto informací souhlasí a doplňují ji, že pro úspěšné zpracování bioodpadů se používají tzv. epigeické druhy žízá. Ty se vyznačují tím, že žijí ve velmi těsné blízkosti povrchu a konzumují pouze organickou hmotu. V našich podmínkách to jsou zejména žížaly druhu *Eisenia andrei* (žízá kalifornská). S tímto tvrzením souhlasí i Hanč (2017) a dodává, že se navíc vyznačují vysokou produktivností a plodností. *Eisenia andrei* (žízá kalifornská) dospívá již čtyři týdny po vylíhnutí. Průměrná délka života tohoto druhu je přibližně 1,6 roku. Podle Plívy a kol. (2016) se *Eisenia andrei* (žízá kalifornská) může dožít maximálně 4,5 až 5 let v závislosti na kvalitě prostředí.

Co se týče přísunu živin (krmení) pro žížaly, Hanč a kol. (2013) uvádí, že je nutné často postupovat individuálně případ od případu. Některé odpady vyžadují určitý způsob předúpravy – například „předkompostování“, jiné musí být alespoň mechanicky upraveny – nadrceny (tvrdé kartóny). S tímto tvrzením souhlasí i Pommeresche a kol. (2010) a doplňují, že mechanické rozdrčení rostlinných zbytků je pro žížaly vhodné, protože jsou pak schopny zpracovat tento materiál rychleji. U odpadů z moře, jako jsou např. řasy, je zase nutné zbavit se vyššího obsahu soli, který je pro žížaly nežádoucí. U odpadů pocházejících z komunální sféry vždy hrozí riziko kontaminace těžkými kovy či nežádoucími chemickými látkami (Hanč a kol., 2013).

Kalina (2004) uvádí, že „krmení“ žízá (tj. přidání další vrstvy odpadu do vermikompostu) stačí jednou až dvakrát týdně, hlavní je žížaly nepřekrmovat. Je důležité jim dávat odpovídající množství bioodpadu, aby nedocházelo k intenzivnímu rozkladu a výskytu „vinných mušek“. Zajonc (1992) uvádí, že množství potravy (substrátu), které žížaly spotřebují za den, je velmi důležitým ukazatelem, od kterého závisí rychlost přeměny odpadu na vermikompost. Hanč a Plíva (2013) uvádějí, že 0,5 kg žízá zkonzumuje zhruba 0,25 kg bioodpadů denně. Kalina (2014) s tímto tvrzením souhlasí a navíc ještě doplňuje, že 0,25 kg odpadů je zhruba množství, které vyprodukuje čtyřčlenná rodina za den. Objem odpadu se postupně zpracováváním žížalami zmenšuje na 1/3 až 1/4 svého původního objemu (Hanč a Plíva, 2013; Plíva a kol., 2016). Hanč (2017) dodává, že dospělý žízál jedinec denně z množství krmiva vytvoří 60 % výkalů (nejkvalitnějšího vermikompostu) a 40 % využije pro vlastní metabolismus.

Žížaly zabezpečují fragmentaci a provzdušňování zpracovávaného materiálu. Tím vytváří vhodné podmínky pro rozvoj mikroorganismů, které intenzivně pokračují v přeměně organické hmoty a uvolňování živin (Hanč, 2017). S tímto tvrzením také souhlasí Borkovcová a Žáková (2015) a doplňují, že žížaly zabezpečují syntézu humusových látek. Proto výsledný produkt obsahuje značné množství kvalitního humusu. Velmi významný je především vysoký počet mikroorganismů ve vermikompostu. Ve střevech žížal jejich počet 10 – 1000 násobně narůstá (Zajonc, 1992). Důvodem je, že žížalí výkaly obsahují přístupnější živiny a mají optimální vlhkost. Žížaly stráví pouze některé mikroorganismy, ostatní projdou jejich zažívacím traktem nepoškozené, případně jsou přirozenou součástí jejich trávicího systému. U mnoha druhů žížal jsou v trávicím traktu běžné mikroorganismy, které pomáhají štěpit lignin a celulózu z rostlinných zbytků, a mikroorganismy, které poutají vzdušný dusík a vytvářejí aminokyseliny (Pommeresche a kol., 2010). Vysoký obsah mikroorganismů se tedy udržuje ve vermikompostu i po opuštění jejího těla ve formě výkalů (Zajonc, 1992). Pommeresche a kol. (2010) doplňují, že kooperace mezi mikroorganismy a žížalami je důležitá pro výměnu živin mezi půdou a rostlinami. Téměř polovina půdních mikroorganismů, které poutají vzdušný dusík (tzv. aerobních fixátorů), se nachází ve stěnách žížalích chodeb, které pro ně ve srovnání s okolní půdou představují daleko příznivější prostředí. Roli zde hraje zejména vyšší koncentrace cukrů a dalších látek pocházejících ze slizu, jimž žížaly zpevňují své chodby.

Žížalí výkaly mají podobu válečků s rozměry přibližně  $1 \times 0,5$  mm a jsou podstatnou součástí vermikompostu (Zajonc, 1992).

Kromě urychlení rozkladu biomasy dokážou žížaly absorbovat kadmium, měď, olovo, mangan a zinek. Rizikové prvky tedy neputují vermikompostem dál, ale zůstávají v tělech žížal. V průmyslovém měřítku je pak mnohem snazší a levnější odstranit „nakrmené žížaly“ z kompostu, než sanovat celou várku bioodpadu (Dohnal, 2012).

### 3.2.3. Podmínky vermikompostování

Mezi hlavní podmínky, které ovlivňují jak vermikompostování, tak růst a reprodukci žížal, patří zejména, jak uvádí Hanč a kol. (2013), tyto podmínky: teplota, vlhkost, dostatek vzduchu, pH, obsah rozpustných solí, druh zpracovávaného materiálu, poměr C:N a další. Za průměrných podmínek vhodných pro rozmnožování, žížaly materiál zpracují asi za tři měsíce (Kalina, 2004)

Pro vermikompostování je nutno zabezpečit optimální teplotu prostředí mezi 15 – 25 °C (Hanč, 2017). S touto informací souhlasí i Plíva a kol. (2016). Kalina (2004) jako optimální teplotu uvádí hodnotu mezi 18 až 25 °C. Plíva a kol. (2016) ještě dodávají, že nižší tepelné hodnoty podporují u žížal větší konzumaci potravy. Při teplotách pod 10 °C a nad 25 °C se produktivita vermikompostování výrazně snižuje.

Optimální vlhkost substrátu je okolo 80 % (Hanč, 2017). Množství přijaté potravy klesá zejména při nedostatečné vlhkosti (Zajonc, 1992). Žížaly obsahují přibližně 70 – 90 % vody a dýchají celým povrchem těla. Z toho plyne, že pro svůj život potřebují vlhké prostředí (Plíva a kol., 2016; Hanč a kol., 2013). Pommeresche a kol. (2010) tuto informaci doplňují o poznatek, že se žížaly původně vyskytovaly pouze v silně zamokřené opadance listnatých lesů, např. na březích potoka či v prameništích.

Žížaly dýchají celým povrchem těla, proto pro svůj život potřebují také dostatek vzduchu. Jsou schopny využívat i kyslík zabudovaný v molekulách vody (Plíva a kol., 2016; Hanč a kol., 2013).

Další faktor, který žížaly vyžadují, je vhodná hodnota pH zpracovávaných surovin. Preferují neutrální hodnotu pH. Jsou však schopny zpracovat i kyselý materiál (jako např. matolinu z révy vinné nebo jablečné výlisky) díky tomu, že do jícnu žížaly vyúsťují vápenaté žlázy, které jsou schopny upravit hodnotu pH střevního obsahu. To je jeden z důvodů, proč mají exkrementy, které vycházejí ze žížal, hodnotu pH neutrální až zásaditou (Plíva a kol., 2016).

Žížaly jsou velmi citlivé k obsahu solí a preferují obsah do 0,5 %. Odolnost žížal k zasolení je také závislá na hodnotě pH. Žížaly jsou tolerantní k hodnotám do 15 mS/cm při pH 6 až 8 (Hanč a Plíva, 2013; Zajonc, 1992). Plíva a kol. (2016) uvádí hodnotu do 10 mS/cm. Příliš vysoká koncentrace solí může způsobit fytoxicitu. Proto je hodnota měrné vodivosti dobrým indikátorem použitelnosti vermikompostu pro zemědělské použití (Hanč a Plíva, 2013; Zajonc, 1992).

Tab. č. 3: Podmínky pro chov žížal *E. fetida* a *E. andrei* v organickém odpadu

Podmínky	Požadované
Teplota	15 – 20 °C (hraniční 4 – 30 °C)
Vlhkost	80 – 90 % (hraniční 60 – 90 %)
Kyslík	Provzdušněnost
Obsah soli	Nižší než 0,5 %
pH	5 – 9

*zdroj: Borkovcová a Žáková (2015)*

Nejvhodnějším krmivem a současně životním prostředím pro žížaly je předkompostovaný substrát z hnoje různých hospodářských zvířat (Pommeresche a kol., 2010). Dále jako vhodný odpad k vermikompostování uvádějí Borkovcová a Žáková (2015) zbytky ovoce, zeleniny, skořápky od vajíček, čajové sáčky, kávové filtry s kávovou sedlinou, částečně zkompostované listy a trávu. Hanč (2017) ještě dodává, že čím je směs různorodější, tím je dosaženo lepšího výsledku vermikompostování.

Žížaly se nejsou schopné žít jednoduchými živinami bílkovinného charakteru, jako jsou albumin, kasein, vaječný bílek a žloutek, případně sacharidy (jako jsou čistá celulóza, škrob, sacharóza) či tuky (Zajonc, 1992). Žížaly jsou také velmi citlivé na amoniak, či pesticidy, jejichž přítomnost pro ně může být smrtelnou záležitostí. To je také jedním z důvodů, proč by se do vermikompostovacích surovin neměly ve zvýšené míře přidávat živočišné zbytky, tuky či mléčné výrobky (Plíva a kol., 2016; Hanč a kol., 2013). Mezi nevhodné materiály ke zpracování patří také slupky od banánů, pomerančů apod., které mohou být kontaminovány právě zbytky pesticidů (Kalina, 2014).

Co se týká poměru C:N, Plíva a kol. (2016) uvádějí hodnoty mezi 20 až 25:1. Zajonc (1992) udává hodnoty podobné, a to konkrétně 22 – 25:1.

Hanč (2017) ještě doplňuje, že mezi faktory ovlivňující vermikompostování patří sluneční paprsky a vítr, které žížaly nesnášejí.



Tab. č. 4: Srovnání výhod a nevýhod u vybraných surovin uplatnitelných jako krmivo pro epigeické druhy žížal

Krmivo	Výhody	Nevýhody
<b>Koňský/ovčí/kozí hnůj</b>	dobrý obsah živin	v případě semen plevelů je požadováno předkompostování
<b>Čerstvé zbytky potravin</b>	velké množství živin; vysoká vlhkost	velké rozdíly ve složení a kvalitě; může docházet k přehřátí; zbytky masa a tuků mohou vytvořit anaerobní podmínky a zápach; může přitahovat hmyz
<b>Předkompostované zbytky potravin</b>	dobrá výživová hodnota; lepší stravitelnost pro žížaly; rychlejší proces	může se vyskytnout kašovitá struktura
<b>Tráva (drobně nasekaná)</b>	optimální poměr C:N a vlhkost	přidávat žížalám ve velmi slabých vrstvách, jinak hrozí tvorba anaerobních podmínek uvnitř zakládky
<b>Matolina (výlisky z hroznů révy vinné)</b>	vynikající bioodpad pro žížaly, hodnota pH se zvýší během vermikompostování ze 4 na 8; po procesu zrníčka révy vinné již neklíčí	nevýhody nenalezeny
<b>Separovaný digestát</b>	pórovitá struktura	organická hmota je v těžko přístupné a rozložitelné formě; v samotném separovaném digestátu žížaly hubnou; účelné je separovaný digestát vermikompostovat společně s lehce přístupnou organickou hmotou (např. slámou nebo papírem)
<b>Sláma</b>	porézní struktura; vzhledem k širokému poměru C:N se přidává k surovinám s úzkým poměrem	před vermikompostováním je potřeba slámu namočit nebo navlhčit
<b>Štěpka</b>	vysoký poměr C:N – vhodná jako přídavek k jiným surovinám; podporuje lepší provzdušnění	její rozklad trvá delší dobu

zdroj: Plíva a kol. (2016)

### 3.3. Enzymy

Označení enzym (z řeckého *en zýme* = v kvasnicích) pochází z roku 1878 od W. Kühneho (Vodrážka, 1996). Jedná se o látky biologického původu (biokatalyzátory), které urychlují chemické reakce. Téměř všechny biokatalyzátory jsou enzymy, tj. bílkoviny s katalytickou aktivitou (Klaus-Heinrich a Koolman, 2012). Enzymy najdeme ve všech živých systémech. Předpokládá se, že i nejjednodušší buňky obsahují přes 3 000 enzymů, které řídí rychlosti prakticky všech reakcí v nich probíhajících (Vodrážka, 1996). Při zpracování mnoha potravin hrají enzymy klíčovou roli. Lidé je využívali již od pradávných dob, kdy ještě ani nevěděli, že právě enzymy jsou zodpovědné za biochemické procesy, ke kterým v potravinách při jejich zpracování dochází (Maříková, 2011). Jako prvním popsáním enzymem byla již roku 1814 amyláza ze sladu, dalšími pak slinná amyláza a žaludeční proteáza pepsin mezi lety 1830 až 1840 (Vodrážka, 1992). Jako prvním enzymem izolovaným v čisté krystalické formě byla roku 1926 ureáza (Karlson, 1965).

Jak uvádí Káš (1989), enzymy tvoří nejpočetnější a nejvýznamnější skupinu biokatalyzátorů. Maříková (2011) doplňuje, že se vyskytují ve všech živých organismech a katalyzují biochemické reakce nezbytné pro život. Enzymy jsou všudypřítomné v čerstvých i zpracovaných potravinách. Jsou obsaženy v živých nebo mrtvých buňkách mikroorganismů, v rostlinách nebo rostlinných residuech (zbytcích) a v exkrementech půdních živočichů (Alef a Nannipieri, 1995). Enzymy hrají při koloběhu živin a při rozkladu komplexu organických látek v půdě hlavní roli. Vytváří anorganické formy živin z organických materiálů v půdě (Balík a kol., 2008).

Z chemického hlediska jsou to vždy bílkoviny a to jednoduché nebo složené. Jednoduché bílkoviny enzymů jsou složeny jen z aminokyselin. Složené bílkoviny se skládají z bílkovinné části – apoenzym a nebílkovinné části – kofaktor tj. nízkomolekulová nebílkovinná struktura. Složené bílkoviny nacházíme u většiny enzymů (Káš, 1989). Vodrážka (1996) s touto informací souhlasí a doplňuje, že jsou enzymy z 60 – 70 % povahy složených bílkovin. Enzymy vznikají v živých objektech proteosyntézou, jsou tedy závislé na genetickém vybavení individua (Koštíř, 1980). Proteosyntéza je syntéza bílkovin, což je několikastupňový proces, při němž se v buňce z jednotlivých aminokyselin syntetizují molekuly bílkovin (Musil a kol., 1976).

Z fyzikálního hlediska působí enzymy podobně jako katalyzátory v chemické výrobě, tj. urychlují průběh reakce, ale neovlivňují její výtěžek (Káš, 1989). Jediná molekula enzymu je schopna za 1 sekundu přeměnit až  $5 \times 10^4$  molekul substrátu (Vodrážka, 1996). Téměř všechny biochemické reakce jsou v organismech urychlovány. Enzymy nesnášejí vysokou teplotu (Koštíř, 1980). Vodrážka (1996) tuto informaci doplňuje, že optimální podmínky pro jejich práci jsou teplota 20 až 40°C, tlak 0,1 MPa a pH většinou kolem 7.

Enzymy našly využití v mnoha odvětvích: potravinářský průmysl (výroba sýrů, piva, ovocných šťáv, vína a jiných alkoholických nápojů, glukózo-fruktózového sirupu, cukrovinek, kávy, zpracování škrobu, masa a ryb, ovoce a zeleniny, úprava kravského mléka a výroba mléčných výrobků, konzervace různých druhů potravin, apod.), krmivářský průmysl, chemický průmysl (výroba pracích prášků, výroba kyseliny glukonové, apod.), dřevozpracující a papírenský průmysl, textilní a kožedělný průmysl, léčebné využití enzymů, využití enzymů v kosmetice a v genovém inženýrství atd. (Molík, 1989).

### 3.3.1. Názvosloví enzymů

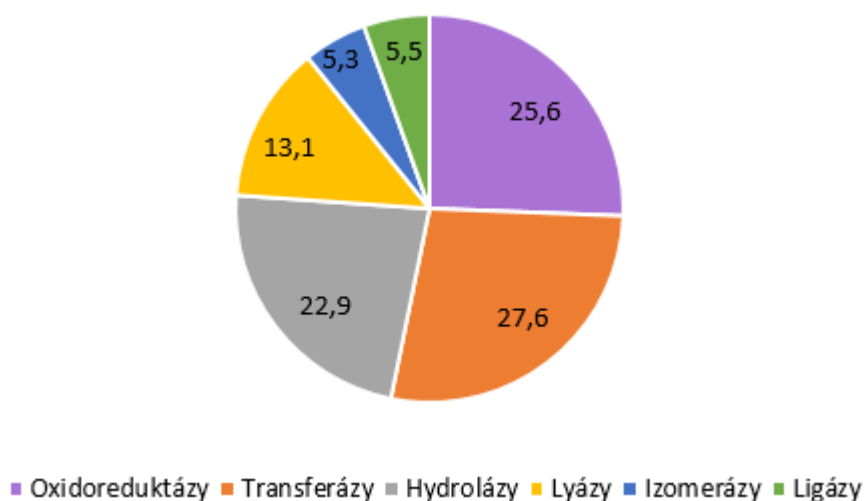
Enzymy objevené postupně v 19. století byly zpočátku nazývány nesystematicky, např. pepsin, trypsin, diastáza apod. Roku 1880 zavedl francouzský biochemik Pierre Émile Duclaux (1840 – 1904) pojmenování enzymů podle příslušného substrátu s koncovkou – ase, v češtině se ujalo zakončení – asa, v populární literatuře též – áza (Koštíř, 1980). Toto názvosloví však nebylo dostačující. Proto v roce 1961 enzymová komise Mezinárodní unie biochemie (International Union of Biochemistry) zavedla nové názvosloví. Enzymy jsou rozděleny do šesti hlavních tříd podle typu katalyzované reakce (oxidoreduktázy, transferázy, hydrolázy, lyázy, izomerázy a ligázy). Třídy jsou dále děleny do podtříd. Dnes se enzymy označují čtyřmístnými číselnými kódy. Název enzymu se skládá ze zkratky „EC“, což znamená Enzyme Commission (dále jen EC), (Vodrážka, 1996). Například EC 1.1.1.27 (což je L-laktát dehydrogenáza) – třída: 1. oxidoreduktázy; podtřída: 1.1 skupina CH-OH jako donor elektronů; podtřída: 1.1.1 NAD (P)<sup>+</sup> jako akceptor (Klaus-Heinrich a Koolman, 2012). Koštíř (1980) dodává, že podle mezinárodní komise pro enzymy (International Commission of Enzymes) užíváme dva druhy názvosloví, systémové (vědecké) a triviální (pracovní). Triviální názvy se obvykle uvádějí v závorce (Farkaš, 1980).

Enzymy můžeme dále rozdělit podle místa působení na intracelulární a extracelulární. Intracelulární enzymy, kterých je většina, zůstávají uvnitř buňky, ve které vznikly, a tam vykonávají specifické funkce. Extracelulární enzymy jsou buňkami, které je vyrobily, vylučovány, a nacházíme je tedy v četných tkáňových kapalinách, např. u živočichů v trávicích šťávách, krvi, mozkomíšním moku (Vodrážka, 1996). Jak uvádí Šarapatka a kol. (1995), mnoho reakcí spojených s transformací půdní organické hmoty je katalyzováno enzymy vyskytujícími se mimo těla mikroorganismů (extracelulární). Tyto enzymy se vyskytují ve vermikompostech (jsou vyrobeny a vylučovány buď žížalami, nebo mikroorganismy), a proto jsou dále podrobněji popsány.

Extracelulární enzymy jsou katalyzátory procesů nezbytných pro dekompozici (rozklad) půdní organické hmoty. Dále se podílejí na biodegradaci organických makromolekul a na koloběhu živin v půdě (Masciandaro, 2008). Sinsabaugh (1994) souhlasí a doplňuje, že se podílejí na stabilizaci a vytváření půdní struktury a dále také mají nezbytnou roli při cyklech prvků a uvolňování živin. Mezi klíčové extracelulární enzymy patří především enzymy hydrolytické, které štěpí chemické vazby v substrátech pomocí vody. Hlavními zdroji extracelulárních enzymů v půdě jsou především mikroorganismy, kořeny rostlin a půdní živočichové. Enzymy tedy mohou být do půdního prostředí uvolňovány během buněčného metabolismu eukaryotických i prokaryotických buněk (Masciandaro, 2008). Vodrážka (1996) dodává, že se jedná zejména o ty enzymy, které katalyzují hydrolýzu živin. Půdní mikroorganismy produkující extracelulární enzymy, jsou především bakterie (včetně aktinomycet), houby, řasy a prvoci. Bakterie jsou nejpočetnější skupinou půdních mikroorganismů, které se podílejí na transformaci látek a dekompozici organického materiálu. Mají sklon reagovat nejrychleji na přísávek jednoduchých sloučenin jako je škrob a cukr. Aktinomycety jsou významným kmenem grampozitivních bakterií (G+). Houby se podílejí především na procesech tvorby humusu a stabilizaci půdních agregátů. Houby a aktinomycety reagují aktivně, i když v přidaném organickém materiálu převládají sloučeniny, které jsou odolnější vůči rozkladu, jako např. celulóza (Brady a Weil, 2003).

### 3.3.2. Dělení enzymů

Enzymy dělíme na oxidoreduktázy, transferázy, hydrolázy, lyázy, izomerázy a ligázy. Tři čtvrtiny enzymů tvoří první tři skupiny (Koštíř, 1980).



Graf. č. 1: Procentuální rozdělení enzymů do šesti hlavních tříd podle typu katalyzované reakce

**Oxidoreduktázy** katalyzují oxidačně redukční děje (Káš, 1989). Rozlišují se podle funkčních skupin donorů, od nichž přejímají vodík nebo elektron, nebo podle akceptorů, kterým je předávají (Koštíř, 1980). Jsou jednou z nejpočetnějších tříd enzymů a všechny jsou povahy složených bílkovin (Vodrážka, 1996).

**Transferázy** katalyzují přenos skupin atomů nebo i větších částí molekul (Káš, 1989) z donoru na akceptor (Koštíř, 1980). Mohou přenášet skupinu methylovou, karboxylovou, aminoskupinu, sulfoskupinu, zbytek kyseliny mravenčí nebo fosforečné a podle toho se nazývají (Musil a kol., 1976). Jsou početnou skupinou enzymů povahy složených bílkovin (Vodrážka, 1996).

**Hydrolázy** katalyzují hydrolytická štěpení (Musil a kol., 1976). Akceptorem není koenzym, ale molekula vody (Klaus-Heinrich a Koolman, 2012). Štěpí polykondenzáty, např. tuky, proteiny, polysacharidy, nukleové kyseliny za pomoci vody (Koštíř, 1980). Musil a kol. (1976) dodávají, že se jmenují podle toho, kterou vazbu štěpí (glykosidasy – glykosidickou vazbu, esterasy – esterovou vazbu, atd.). Jedná se opět o velmi početnou skupina enzymů vesměs povahy jednoduchých bílkovin (Vodrážka, 1996).

**Lyázy** nehydrolytickým způsobem odštěpují ze substrátu skupiny, vytvářejí dvojné vazby, popřípadě napomáhají adici skupin na dvojnou vazbu (Musil a kol., 1976). Koštíř (1980) dodává, že odštěpují ze substrátu skupiny bez pomoci dalšího reaktantu. Odštěpovat mohou oxid uhličitý, vodu, amoniak, i větší celky (Musil a kol., 1976; Káš, 1980). Jsou povahy složených bílkovin; tvoří málo početnou skupinu enzymů (Vodrážka, 1996).

**Izomerázy** katalyzují vzájemné přeměny izomerů (Káš, 1989). Musil a kol. (1976) s tímto tvrzením souhlasí a dále uvádí, že může jít o racemizaci (změnu opticky aktivní látky), geometrickou izomeraci (cis-, trans-), posun dvojných vazby, výměnu skupin na asymetrickém

uhlíku, přesun fosfátové skupiny na jiný uhlík, atd. Je to nejméně početná skupina enzymů většinou povahy jednoduchých bílkovin (Vodrážka, 1996).

**Ligázy**, jiným názvem syntetázy (Koštíř, 1980), katalyzují vznik energeticky náročných vazeb za současného rozkladu látky uvolňující energii (Vodrážka, 1996). Reakce se účastní ATP (nukleotid) nebo jiná makroergická sloučenina a při karboxylačních reakcích ještě biotin (Musil a kol., 1976). Vodrážka (1996) dodává, že se jedná o poměrně málo početnou skupina enzymů, uplatňujících se při různých biosyntézách. Mají povahu složených bílkovin.

### 3.3.3. Enzymatická aktivita

Aktivita (neboli účinnost) enzymů je charakterizována rychlostí přeměny substrátu na reakční produkt (Káš, 1989). Účinnost enzymů se měří různým způsobem, nejčastěji kineticky (Koštíř, 1980). Tato metoda je založená na měření reakční rychlosti. Enzymatickou aktivitu obvykle měříme na základě úbytku substrátu nebo přírůstku produktu v reakční směsi za zvolenou časovou jednotku (Káš, 1989). Enzymová reakce probíhá v několika etapách. Nejprve je to reakce, při které se vytvoří komplex enzym – substrát, dále reakce, při níž probíhá aktivace komplexu enzym – substrát, a následuje chemická přeměna substrátu, kdy vzniká komplex enzym – produkt. Na konci reakce se odděluje enzym od reakčního produktu (Farkaš, 1980).

Vodrážka (1996); Koštíř (1980) uvádějí jednotku pro katalytickou aktivitu – katal (kat). 1 katal představuje množství katalyzátoru, které přemění za standardních podmínek za 1 sekundu 1 mol substrátu. Je to však jednotka příliš vysoká, a proto v praxi používáme její zlomky – mikrokatal ( $\mu\text{kat} = 10^{-6} \text{ kat}$ ) a nanokatal ( $\text{nkat} = 10^{-9} \text{ kat}$ ). Koštíř (1980) dále uvádí mezinárodní enzymovou jednotku U, což je množství enzymu katalyzující přeměnu mikromolu ( $\mu\text{mol}$ ) substrátu za 1 minutu. S touto definicí souhlasí i Baldrian (2009). Přepočet jednotek je uveden níže:

$$1 \text{ kat} = 1 \text{ mol/s} = 60 \text{ mol/min} = 60 \times 10^6 \mu\text{mol/min} = 6 \times 10^7 \text{ U}$$

$$1 \text{ U} = \mu\text{mol/min} = 1/60 \mu\text{mol/s} = 1/60 \mu\text{kat} = 16,67 \text{ nkat}$$

Jednotka, která byla používána v našem případě, je jednotka pro reakční rychlost ( $\text{mol/l/s}$ ). Pro potřeby v praxi je však potřeba mít katalytickou aktivitu vztahenou na celkový objem. Pro potřebu našeho měření byla použita jednotka  $\text{nmol/min/ml}$ .

V roce 1981 zavedl IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) pro katalytickou aktivitu vyjádřenou v katalech název rychlost přeměny substrátu. Používají se i další veličiny – koncentrace katalytické aktivity (jednotka  $\text{kat/dm}^3$ ), specifická katalytická aktivita (aktivita vztahená na kg enzymu, jednotka  $\text{kat/kg}$ ) a molární katalytická aktivita (jednotka  $\text{kat/mol}$ ), (Vodrážka, 1996).

Aktivitu enzymů ovlivňují fyzikální a chemické činitele (Farkaš, 1980). Jak uvádí Musil a kol. (1976) i Káš (1989) enzymově katalyzované reakce probíhají různou rychlostí. Ta je závislá na:

- a) pH prostředí a jeho složení,
- b) teplotě,
- c) přítomnosti efektorů,
- d) množství (aktivitě) enzymu,
- e) koncentraci substrátu.

Jedním z hlavních ovlivňujících faktorů je pH prostředí. Enzymy jsou totiž polyamfolyty (ve své molekule obsahují zároveň kyselé i bazické funkční skupiny). To je hlavním důvodem, proč je právě na pH většina vlastností závislá (Vodrážka, 1996).

Stejně jako pH je i teplota velmi ovlivňujícím faktorem. Působí na biologické, fyzikální a chemické procesy v půdě. Ovlivňuje rychlost dekompozice, aktivitu enzymů, mikrobiální množení a také mění kinetiku enzymových reakcí (Kang a Freeman, 1999). Vždy ovlivňuje reakční rychlost enzymové reakce. Zvyšování teploty zvyšuje reakční rychlost. Nad určitou teplotu se však při enzymově katalyzované reakci začíná uplatňovat i denaturační působení teploty na bílkovinnou molekulu enzymu (Musil a kol., 1976). Horák a Kotyk (1977) uvádějí, že zvyšování rychlosti enzymové reakce s teplotou je nejpatrnější v rozmezí zhruba od 10 do 40 °C. Farkaš (1980) s těmito hodnotami nesouhlasí a uvádí optimální teplotu mezi 25 – 45 °C. Dále doplňuje, že při 0 °C je účinek většiny enzymů nepatrný a za vysokých teplot od 50 do 80 °C se většina enzymů inaktivuje.

Dalším ovlivňujícím faktorem je přítomnost efektorů. Efektory se dělí do dvou skupin, ty které zvyšují aktivitu a ty které naopak aktivitu snižují. Mezi ty, které aktivitu zvyšují, patří pozitivní efekty neboli aktivátory. Mezi ty, které aktivitu naopak snižují, patří negativní efekty neboli inhibitory (Vodrážka, 1992). V systémech s vysokými dávkami živin a se značným používáním pesticidů, bývá v řadě výzkumů popisován pokles biologické a biochemické aktivity. Pesticidy se tak mohou stát spolu s dalšími cizorodými látkami (např. těžkými kovy) inhibitory aktivity půdních enzymů (Šarapatka, 1992).

Aktivita (množství) enzymů se v půdním prostředí mění. Půdní profil má složitou prostorovou heterogenitu, tj. odlišné množství půdního vzduchu, vody a různé množství mikrobiální biomasy (Burns, 1986). Enzymatická aktivita i mikrobiální biomasa v půdě se může zvyšovat po dodání energetického zdroje. Obecně je možné konstatovat, že tato aktivita může být vyšší v systémech s vyšší dodávkou organických látek do půdy. Tato hmota se může dostávat do půdního prostředí buď zvýšeným přísunem posklizňových zbytků, nebo organickými hnojivy (Šarapatka a kol., 1995).

Využitelnost minerálních látek v půdě se běžně pohybuje mezi 40 – 50 %. S obsahem enzymů z vermikompostu se jejich využitelnost v půdě zvyšuje na 80 – 90 %. Obsažené enzymy umožní také lepší využitelnost minerálních látek již obsažených v půdě. Obsažené enzymy přispívají ke zvýšení hnojných účinků a ošetřené rostliny jsou odolnější proti chorobám a škůdcům (Marcinčák, 2015).

#### 3.3.4. $\beta$ -D-glukosidáza, kyselá fosfatáza, arylsulfatáza, lipáza

##### **$\beta$ -D-glukosidáza:**

Celulóza je polymer  $\beta$ -glukózy a je nejrozšířenější organickou molekulou na Zemi. Jejím základním kamenem je cellobióza (Šarapatka a Čáp, 2013). Celulóza obsažená v rostlinných surovinách podléhá v přírodě rozkladu pomocí nejrozličnějších organismů (Slávik, 1953) a je obvyklým strukturálním polysacharidem ve stěnách rostlinných buněk. Mikrobiální degradace celulózy patří k významným přírodním procesům, které se podílejí na likvidaci rostlinných zbytků. Po chemické stránce je celulóza lineárním polymerem D-glukózy s  $\beta(1-4)$  glukosidickými vazbami. Enzym celulóza katalyzuje hydrolýzu celulózy na

D-glukózu a je tvořena nejméně třemi enzymy: endo- $\beta$ -1,4-glukanáza (EC 3.2.1.4), exo- $\beta$ -1,4-glukanáza (EC 3.2.1.91) a  $\beta$ -glukosidáza (EC 3.2.1.21), (Horáková a Němec, 2003).

**Reakce katalyzované enzymem  $\beta$ -glukosidáza (Šarapatka, 2003):**



$\beta$ -D-glukosidáza je triviálním názvem pro  $\beta$ -D-glukosid-glukohydrolázu. Její systematické číslo je 3.2.1.21 (Artimo, 2012). Název enzymu dle zkratky EC je tvořen: EC 3 – hydrolázy; EC 3.2 – glykosylázy, EC 3.2.1 – estery hydrolyzující O- a S-glykosylové sloučeniny; EC 3.2.1.21 –  $\beta$ -glukosidáza (Anonym, 2017).

V praxi tvoří  $\beta$ -glukosidázy velmi heterogenní skupinu enzymů hydrolyzujících glukózové oligosacharidy (Bočková a Kleňha, 1972). Jsou nejčastěji produkovány houbami, např. rodu *Actinomyces* či *Clostridium* (Horáková a Němec, 2003).

### **Kyselá fosfatáza:**

Fosfor je esenciálním (základním) prvkem pro růst rostlin a jejich metabolismus. Určitá část fosforu v půdě je v organických formách. Jejich mineralizace má velký význam pro zásobování rostlin i dalších organismů tímto prvkem. Mineralizace se účastní půdní fosfatázy, které katalyzují hydrolytické štěpení ester – fosfátů (Šarapatka a kol., 1995). Jsou tedy zodpovědné za enzymatickou mobilizaci organicky vázaného fosforu. Odstraňují  $\text{PO}_4^{3-}$  ze substrátu (Šarapatka a Čáp, 2013). Často se rozlišují podle pH na kyselé nebo alkalické. Kyselé fosfatázy jsou zapojeny především do mineralizace fosforu v kyselých půdách (Olander a Vitousek, 2000). Šarapatka a Čáp (2013) doplňují, že kyselá fosfatáza je často přítomna v kořenových exudátech (látky vylučované kořeny rostlin).

Podle vztahu k substrátu lze fosfatázy rozdělit do dvou základních skupin: a) enzymy specifické pro jeden typ substrátu (např. fosfomonoesterázy, fosfodiesterázy a pyrofosfatázy), b) enzymy specifické pro více substrátům (např. adenosintrifosfáty, hexózodifosfatázy), (Horáková a Němec, 2003).

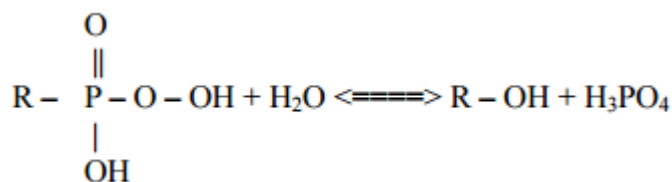
Kyselá fosfatáza je triviálním názvem pro kyselou fosfomonoesterázu. Její systematické číslo je 3.1.3.2 (Artimo, 2012). Název enzymu dle zkratky EC je tvořen: EC 3 – hydrolázy; EC 3.1 – působící na esterové vazby, EC 3.1.3 – fosfomonoesterhydrolázy; EC 3.1.3.2 – kyselá fosfatáza (Anonym, 2017). Pod názvem kyselá fosfatáza se skrývají všechny fosfatázy s optimální aktivitou pod pH 7,0. Nejvyšší fosfatázovou aktivitu vykazují kyselé fosfatázy při hodnotě pH okolo 5.

Fosfatázy štěpí estery kyseliny fosforečné (fosfolipidy, fosfoproteiny, apod.).

**Reakce katalyzované enzymem fosfatáza (Šarapatka a Čáp, 2013):**



Kyselá fosfatáza spadá pod fosfomonoesterázy, které obecně katalyzují hydrolýzu monoesterů kyseliny fosforečné (Horáková a Němec, 2003). Eivazi a Tabatabai (1977) doplňují, že kyselá fosfatáza katalyzuje odštěpení fosforu z organicky vázaného fosforu ve formě esterů.



Obr. č. 1.: Hydrolýza monoesterů kyseliny fosforečné

*zdroj: Horáková a Němec (2003)*

Aktivita fosfatáz v půdě agroekosystému bývá ovlivňována: půdními vlastnosti, sezónními vlivy (klíma), inhibitory a aktivátory, rostlinami (efekt rhizosféry) a živočichy (Šarapatka a kol., 1995). Fosfatázová aktivita katalyzuje hydrolýzu (mineralizaci) organicky vázaného fosforu na anorganický fosfor, který je buňkami asimilován (Enowashu a kol., 2009). Šarapatka a kol. (1995) dodávají, že vedle biologických, chemických a fyzikálně chemických vlastností půdy je aktivita fosfatáz ovlivňována i vlhkostí půdy a hloubkou, kde nejvyšší aktivita je zaznamenávána v horních částech profilu (do cca 20 cm).

### **Arylsulfatáza:**

Sulfatázy jsou zapojeny do biochemické mineralizace organické síry (Tabatabai a Bremner, 1971). Jak uvádí Šarapatka a Čáp (2013), jsou zodpovědné za uvolňování síranových iontů, které mohou být využívány vegetací i mikroorganismy. V přírodě se vyskytují různé typy sulfatáz: arylsulfatázy, alkylsulfatázy, aj. Nejvíce prozkoumaná je arylsulfatáza, která vzniká hlavně z hub a bakterií, ačkoli rostliny a zvířata produkují tento enzym také (Kolektiv autorů, 2007). Arylsulfatáza katalyzuje hydrolýzu arylsulfátového aniontu přerušením vazby O-S (Tabatabai a Bremner, 1970). Předpokládá se, že arylsulfatáza přispívá k mineralizaci organické síry na  $\text{S-SO}_4^{2-}$ , kterou přijímají rostliny (Balík a kol., 2008).

Arylsulfatáza má systematické číslo je 3.1.6.1 (Artimo, 2012). Název enzymu dle zkratky EC je tvořen: EC 3 – hydrolázy; EC 3.1 – působící na esterové vazby, EC 3.1.6 – hydroláza esteru kyseliny sírové; EC 3.1.6.1 – kyselá fosfatáza (Anonym, 2017).

**Reakce katalyzované enzymem arylsulfatáza (Šarapatka, 2003):**



Byla nalezena těsná korelace mezi obsahem humusu v půdách a aktivitou arylsulfatázy. Proto můžeme předpokládat, že dlouhodobá aplikace organických hnojiv zlepšuje některé vlastnosti půdy, nejen zvýšení organické hmoty a celkového obsahu síry v půdě, ale také aktivitu sulfatázy (Balík a kol., 2008).

### **Lipáza:**

Nejrozšířenější skupinou lipidů obsahujících glycerol jsou triacylglyceroly, patřící do skupiny neutrálních tuků. Jsou to estery mastných kyselin a glycerolu (propan-1,2,3-triol). V molekule glycerolu může být esterifikovaná jedna, nebo dvě, či všechny tři hydroxylové skupiny. Vznikají tak mono-, di- a tri-acylglyceroly. Nejdůležitější chemickou reakcí triacylglycerolů je jejich hydrolýza. V organismu je zajišťována specifickými enzymy – lipázami (Matouš, 2010).

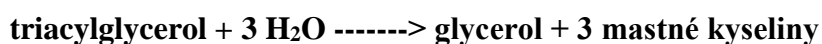


Jak uvádí Alef a Nannipieri (1995), lipázy se dělí do tří skupin. Lipázy první skupiny štěpí ze všech tří pozic acylglycerolu triacylglyceroly a kompletně je hydrolyzují. Druhá skupina lipáz uvolňuje mastné kyseliny z vnějších pozic triacylglycerolu. Třetí skupina lipáz hydrolyzuje pouze určité mastné kyseliny.

Lipáza je triviálním názvem pro triacylglycerol acylhydrolázu. Její systematické číslo je 3.1.1.3 (Artimo, 2012). Název enzymu dle zkratky EC je tvořen: EC 3 – hydrolázy; EC 3.1 – působící na esterové vazby, EC 3.1.1 – hydrolázy esteru karboxylové kyseliny; EC 3.1.1.3 – triacylglycerol lipáza (lipáza), (Anonym, 2017).

Lipázy hydrolyzují acylglyceroly, které obsahují řetězce mastných kyselin s počtem uhlíku  $\geq 10$  (Horáková a Němec, 2003), na mastné kyseliny a glycerol. Zároveň dochází k uvolňování esterových vazeb mezi glycerolem a mastnými kyselinami (Šarapatka a Čáp, 2013). Jelikož jsou lipázy aktivní i v prostředí s nízkým obsahem vody, nejsou problémy s rozpouštěním hydrofobních substrátů (Linek, 2002).

**Reakce katalyzované enzymem lipáza (Šarapatka a Čáp, 2013):**



Nevyžadují ke své činnosti přítomnost nákladných kofaktorů a reakce jimi katalyzované lze provádět za běžných teplot. Fungují však i při vyšších teplotách, pokud to proces vyžaduje (Linek, 2002). Kvantitativní stanovení aktivity lipáz je možné provádět titrimetricky (titrací), fotometricky nebo fluorescenčními metodami (Horáková a Němec, 2003).

Lipázy jsou získávány z rozmanitých zdrojů, např. z bakterie *Pseudomonas fragi*, z kvasinky *Candida lipolytica*, z plísní *Aspergillus niger*, druhy rodu *Mucor*, druhy rodu *Rhizopus*, ze semen řepky olejné, semen tropických rostlin rodu *Vernonia* (*Asteraceae*) a z prasečích slinivek (Molík, 1989).

## 4. Materiál a metodika

### 4.1. Typy bioodpadů

Dle zákona č. 185/2001 Sb. o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění účinném k 1. 1. 2017, je biologicky rozložitelným odpadem (bioodpadem) jakýkoliv odpad, který podléhá aerobnímu nebo anaerobnímu rozkladu (Ministerstvo životního prostředí, 2001).

#### **Matolina (výlisky z révy vinné):**

Matolina vzniká lisováním hroznů révy vinné při výrobě vína, kdy se oddělí kapalný podíl. Je složena ze všech pevných částí, jako jsou slupky, bobule, třapiny a semena (Sedlo, 2015). Kalina (2004) uvádí, že výlisky mají většinou optimální poměr uhlíku a dusíku (25 – 30:1) pro tlení. V důsledku vysokého podílu jader a třapin mají většinou příznivou strukturu, takže je zabezpečeno dobré zásobení vzduchem bez přísad (Kalina, 2004). Paradelo a kol. (2011) dodávají, že obsahuje vysoký podíl organické hmoty a je bohatá na živiny, zejména na dusík a draslík. Výlisky jsou velmi záhřevným materiálem, a v důsledku vysokého podílu zbytkového cukru velmi rychle přecházejí do tlení za předpokladu dostatku vlhkosti a vzduchu. Charakteristický pro tento materiál je také nápadně silný výskyt plísní v okrajových zónách (až do 30 cm hloubky). Jedná se však o houby, které rozkládají celulózu a lignin (Kalina, 2004).

#### **Lihovarské výpalky:**

Mezi hlavní odpady vznikající během výroby lihu patří lihovarské výpalky. Výpalky jsou zbytek zápary, což je tekutý a prokvašený škrob. Tento odpad vzniká v průmyslových lihovarech i pěstitelských pálenicích destilátů (Filip a Oral, 2002).

#### **Kal ze sladoven:**

Při sladovnické výrobě vznikají odpady jako sladový květ, splávky, odpadní a máčecí vody. Sladový květ vzniká při odkličování sušeného sladu. Je tvořen klíčky a kořínky naklíčeného ječmene. Vzhledem k obsahu bílkovin a vitamínů, lze tento odpad využít jako přísadu do krmiv pro dobytek. Ze zavlažování ječmene vznikají odpadní máčecí vody. Při máčení ječmene vyplouvají na povrch ječmenná zrna tvořící tzv. splávky (Filip a Oral, 2002).

#### **Biologicky rozložitelný komunální odpad:**

Biologicky rozložitelný komunální odpad (dále jen BRKO) je pak takový odpad, který lze zařadit do skupiny odpadů 20 tj. odpady komunální a jim podobné odpady ze živností, z úřadů a z průmyslu, včetně odděleně sbíraných složek těchto odpadů, jak je uvedeno ve vyhlášce č. 93/2016 Sb. o Katalogu odpadů (Ministerstvo životního prostředí, 2016).

## 4.2. Zakládání vermikompostů

Pokusy byly prováděny v různých podnicích podle toho, jaký druh odpadu zde vznikal. Pokusy probíhaly ve venkovních prostorách v systému pásových hromad. Jednalo se o 4 lokality a to konkrétně o Češov, kde se vermikompostoval odpad z výroby pálenky (lihovarské výpalky), dále Mikulčice, kde byl vermikompostován odpad z révy vinné (matolina), Uherský Brod, kde byl využit odpad z domácností bytových domů a nakonec Veleliby u Nymburka, kde byl z části (cca 20 %) využit kal ze sladoven, který byl doplněn slámou, štěpkou, jablky, trávou a makovinou. Žížaly byly krmeny tzv. průběžným krmením, kdy byl do vermikompostů v daných intervalech přidáván bioodpad.

### Lihovarské výpalky se slámou a senem – Pěstitelská pálenice, Češov:

Vermikompost byl založen v květnu 2014. Vermikompostování probíhalo ve venkovních podmínkách v systému průběžného krmení. Krmivo pro žížaly zde tvořily lihovarské výpalky se slámou a senem. Nové krmivo se přidávalo od srpna až do května. Celkem byly vytvořeny 4 vrstvy. Výška každé vrstvy činila 20 cm. Vzorokly byly odebrány 4. 5. 2016. Rýčem byly udělány stěny v každé ze 4 vrstev a z ní byly odebrány vzorky ve 4 opakováních.

Tab. č. 5: Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s lihovarskými výpalky, slámou a senem v Češově

Vrstva	Stáří vermikompostu	Hloubka [cm]
IV. vrstva	> 6 měsíců	0 – 20
III. vrstva	12 – 6 měsíců	20 – 40
II. vrstva	18 – 12 měsíců	40 – 60
I. vrstva	< 24 měsíců	60 – 80

### Matolina – zemědělské družstvo Mikulčice:

Vermikompost byl založen v zemědělském družstvu v Mikulčicích firmou Filip a Filip. Vermikompostování probíhalo ve venkovních podmínkách v systému průběžného krmení. Půdorys měl velikost 2,5 m × 50 m. První vrstva, která byla zakládána nejdříve, byla tvořena stelivem z hnoje a trávy s násadou žížal. Další vrstvy, které již byly tvořeny matolinou, byly přidávány po 1 až 2 týdnech v závislosti na ročním období. Vzorokly byly odebírány napříč celým profilem vermikompostovací hromady tak, aby byly reprezentativní pro dané stáří jednotlivých vrstev. V každé vrstvě byl vzorek odebrán ve čtyřech opakováních.

Tab. č. 6: Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s matolinou v Mikulčicích

Vrstva	Stáří vermikompostu	Hloubka [cm]
V. vrstva	2 týdny	0 – 20
IV. vrstva	3 měsíce	20 – 40
III. vrstva	6 měsíců	40 – 60
II. vrstva	9 měsíců	60 – 80
I. vrstva	12 měsíců	80 – 100

**Směs různého bioodpadu (20 % kalu ze sladoven, dále štěpka, sláma, jablka, tráva, makovina) – Vykáň a.s., Veleliby u Nymburka:**

Vermikompost byl tvořen 5 vrstvami. Všechny byly tvořeny směsí různého bioodpadu (cca 20 % kalu ze sladoven, dále štěpka, sláma, jablka, tráva, makovina). Kal ze sladoven je černá rosolovitá hmota. Nelze ji aplikovat samotnou, proto byla smíchána se slámou a dalšími surovinami. Firma Vykáň a.s. získává tento kal ze sladovny v Nymburku. Vermikompostování probíhalo ve venkovních podmínkách v systému průběžného krmení. Výška každé vrstvy činila 20 cm. Vzorky byly odebírány 16. 5. 2016 ve 4 opakováních.

Tab. č. 7: Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s kalem ze sladoven a směsí dalšího různého bioodpadu ve Velelibách u Nymburku

Vrstva	Stáří vermikompostu	Hloubka [cm]
V. vrstva	< 3 měsíce	0 – 20
IV. vrstva	6 – 3 měsíce	20 – 40
III. vrstva	9 – 6 měsíců	40 – 60
II. vrstva	12 – 9 měsíců	60 – 80
I. vrstva	> 12 měsíců	80 – 100

**Biologicky rozložitelný komunální odpad (BRKO) – Rumpold UHB s.r.o.**

Experiment byl proveden v podmínkách velkoprodukčního nakládání s odpady ve společnosti Rumpold UHB s.r.o., Předbranská 415, Uherský Brod, 688 01.

Bioodpad, který zde byl vermikompostován, pocházel z domácností bytových domů a bytových ploch. Jednalo se o typický biologický odpad z domácností, z oblasti mírného pásu (z České republiky), který byl vytvořen během čtyř ročních období.

Na webových stránkách společnosti Rumpold UHB s.r.o., nalezneme schéma řezu zakládkou, kdy 0 = podklad/pevná zem, 1 = biologický odpad, 2 = násada kalifornských žížal, 3 = biologický odpad (viz obr. č. 2). Nejspodnější – podkladová vrstva jsou biologické odpady s vlhkostí 55 % – 70 % a teplotou do 35 °C. Na ni se jako prostřední vrstva rovnoměrně rozprostře násada kalifornských žížal o výšce 5 – 10 cm. Vrchní vrstva jsou opět biologické odpady stejných vlastností, jako má spodní vrstva.



Obr. č. 2: Obecné schéma pro vermikompostování – řez zakládkou

převzato z: <http://www.uhb.rumpold.cz/profil> [cit. 12. 3. 2017]

Pásová hromada byla založena v květnu 2015 o půdorysu 5,6 m × 25,5 m, která byla venku na rovném asfaltovém povrchu. Na plochu byla nejdříve dána vrstva bioodpadu (podestýlka) a na ní vrchní vrstva z předešlé pásové hromady vermikompostu, která obsahovala žížaly. Jednalo se o žížaly druhu *Eisenia andrei* a hustota činila 50 ks žížal na litr.

Další vrstvy byly přidávány každé 3 týdny na jaře, v létě a na podzim. Během zimní sezóny každých 5 týdnů, aby bylo zabráněno chladným podmínkám pro žížaly, které jim neprospívají. Výška přidaných vrstev činila 30 cm, s výjimkou v zimním období, kdy činila 50 cm. Vyšší vrstva, která byla zvolena pro zimní období, lépe držela teplo, a tím pádem sloužila jako tepelná izolace. Bioodpady byly na pásovou hromadu přidávány kontinuálně více než 12 měsíců. Profil vermikompostu byl rozdělen do pěti vrstev o přibližně stejné tloušťce a stáří (viz tab. č. 8).

Použité bioodpady byly vždy předkompostovány, prošly první termofilní fází. Tím pádem měly za sebou hygienizaci, což je fáze, kterou by žížaly kvůli vysokým teplotám nepřežily.

Tab. č. 8: Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s biologicky rozložitelným komunálním odpadem v Uherském Brodě

Vrstva	Stáří vermikompostu	Hloubka [cm]
<b>V. vrstva</b>	< 3 měsíce	0 – 30
<b>IV. vrstva</b>	6 – 3 měsíce	30 – 60
<b>III. vrstva</b>	9 – 6 měsíců	60 – 90
<b>II. vrstva</b>	12 – 9 měsíců	90 – 120
<b>I. vrstva</b>	> 12 měsíců	120 – 150

Vzorky byly odebrány z příčných profilů v různých hloubkách a věkových kategoriích ve 4 opakováních. Každý vzorek byl oddělen, aby charakterizoval příslušný výškový rozsah. Hmotnost každého dílčího vzorku činila cca 5 kg. Vzorek byl zhomogenizován na hmotnost 1 kg a poté rozdělen na 3 části. Žížaly byly odebrány ze všech vzorků. Cílem bylo získat samotné žížaly, které byly poté sečteny, zváženy a zlyofilizovány.

Výsledný vzorek vermikompostu byl zpracován pro požadované laboratorní analýzy. Jedna část vermikompostu byla uchována v ledničce při teplotě 4 °C, z ní pak bylo určeno pH a vodivost. Druhá část vermikompostu byla vysušena při teplotě 30 °C do konstantní hmotnosti. Třetí část vermikompostu byla použita pro stanovení mikrobiální a enzymatické aktivity. Tato část byla zmrazena (při teplotě -20 °C), následně zlyofilizována.

## 4.3. Analýzy

### 4.3.1. Agrochemické analýzy

#### Sušina:

Bylo naváženo 300 g čerstvého vermikompostu, který byl sušen při 30 °C do konstantní hmotnosti. Procento sušiny je dáno podílem suché a čerstvé hmoty.

#### pH:

Vzorky pro měření pH byly smíchány s demineralizovanou vodou v poměru 1:5 (10 g vzorku, ke kterému bylo přidáno 50 ml demineralizované vody). Suspenze se 10 minut třepala na třepačce a poté bylo změřeno pH za použití pH metru WTW ION 340i. pH bylo měřeno v nefiltrovaném vzorku, dle normy ČSN 46 5735.



Foto č. 1: Měření pH v suspenzi

### **Měrná vodivost (konduktivita):**

Vzorky pro měření měrné vodivosti byly smíchány s demineralizovanou vodou v poměru 1:5 (10 g vzorku, ke kterému bylo přidáno 50 ml demineralizované vody), poté přefiltrovány a nakonec měřeny pomocí konduktometru WTW inoLab® Cond 730. Měrná vodivost byla měřena ve filtrovaném vzorku dle normy ČSN 46 5735.



Foto č. 2: Měření vodivosti ve filtrátu



### 4.3.2. Biologické analýzy

#### **Biomasa a počet žížal:**

Žížaly byly z jednotlivých vzorků oddělovány ručně a byl zjištěn jejich počet. Poté byly omyty vodou a zváženy.



Foto č. 3: Stanovování počtu žížal v jednotlivých vrstvách vermikompostu

### 4.3.3. Stanovení mikrobiální aktivity

Mikrobiální aktivita byla stanovována ve spolupráci s Mikrobiologickým ústavem akademie věd ČR se sídlem na Praze 4 (Krč), v ulici Vídeňská 1038.

Vzorky pro analýzu mastných kyselin fosfolipidů (PLFA) byly extrahovány 3× za použití směsi chloroformu, methanolu a fosfátového pufru v poměru 1:2:0,8. Extrakty byly analyzovány plynovou chromatografií v tandemu s hmotnostní spektrometrií (GC-MS, GC-450, MS-240, Varian, Walnut Creek, CA, USA). Methylované mastné kyseliny byly identifikovány dle jejich hmotnostního spektra za použití směsi chemických standardů od firmy Sigma. Bakterie byly stanoveny na základě 17:0, 16:1 $\omega$ 9, 15:0 a 16:1 $\omega$ 7. Gram pozitivní (G+) bakterie byly vyčísleny jako součet I14:0, I15:0, A15:0, I16:0, I17:0 a A17:0. Gram negativní (G-) bakterie byly stanoveny na základě 16:1 $\omega$ 7, 18:1 $\omega$ 7, cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 5. 10Me-16:0 byly použity pro aktinobakterie a 18:2 $\omega$ 6 pro houby. Celková biomasa byla kvantifikována jako součet všech znaků spolu s poměrem 16:0 a 18:1 $\omega$ 9 (Šnajdr a kol., 2011).



#### 4.3.4. Stanovení enzymatické aktivity

Enzymy byly stanovovány ve spolupráci s Mikrobiologickým ústavem AV ČR se sídlem na Praze 4 (Krč), v ulici Vídeňská 1038.

V našem případě byla použita fluorescenční metoda. Je citlivější, než spektrofotometrická metoda, a je založena na tvorbě fluoreskující sloučeniny v průběhu enzymové reakce. Hlavní činidlo zde tvoří 4-methylumbelliferone (dále jen MUF), což je fluorogenní činidlo (substrát hydroláz), který využívá fluorescenční detekci. Je velmi citlivé, ačkoli fenolové sloučeniny (např. huminové látky) mohou způsobovat zhášení fluorescence (Baldrian, 2009). Šnajdr a kol. (2008) uvádí, že vyšší účinnost extrakce byly nalezeny v horizontech bohatých na organickou hmotu v lesních půdách a v rostlinných odpadech, proto je právě tato metoda vhodná pro naše pokusy. Principem je, že volný fluorofor má jiné luminiscenční vlastnosti, než když je navázaný na biomolekulu. Fluorofor je na biomolekulu navázan vazbou, kterou štěpí stanovovaný enzym.

Pro stanovení jednotlivých enzymů bylo vždy naváženo 0,2 g zlyofilizovaného vermikompostu do 50 ml Erlenmeyerovy baňky. K němu bylo přidáno 20 ml 50 mM octanového pufru s hodnotou pH = 5 (tento pufr byl vytvořen smícháním 2,78 g octanu sodného, 900  $\mu$ l kyseliny octové a 1000 ml destilované vody). Vzorek byl poté zhomogenizován po dobu 30 sekund pomocí přístroje Ultra-Turrax („homogenizační mixér“ – IKA Labortechnik, Germany). Do každé destičky bylo napipetováno 200  $\mu$ l zhomogenizované vzorku a poté byl přidán příslušný MUF (viz tab. č. 9 i tab. č. 10). Destičky byly poté vloženy do inkubátoru, který měl teplotu 40 °C na dobu 5 minut a poté změřeny pomocí přístroje Tecan Infinite<sup>®</sup> M200. Poté byly opět vloženy do inkubátoru, tentokrát však na 2 hodiny a znovu změřeny.



Foto č. 4: Přístroj Tecan Infinite<sup>®</sup> M200 na měření enzymů

### Standardní roztoky:

K vytvoření 1,0 mM MUF standardů bylo potřeba rozpustit 0,00176 g MUF v 10 ml dimethylsulfoxidu (dále jen DMSO). Následným zředěním v DMSO byly připraveny 0,1 mM MUF (1:10) a 0,01 mM MUF (1:100).

Tab. č. 9. Využité substráty při stanovování enzymů

Enzym	Substrát
<b><math>\beta</math>-D-glukosidáza</b>	2,75 mM 4-methylumbellyferyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (dále jen MUFG)
<b>Kyselá fosfatáza</b>	2,75 mM 4-methylumbellyferyl-phosphate (dále jen MUFP)
<b>Arylsulfatáza</b>	2,50 mM 4-methylumbellyferyl soli síranu draselného (dále jen MUFS)
<b>Lipáza</b>	2,50 mM 4-methylumbellyferyl-caprylate (dále jen MUFY)

Pro stanovení  $\beta$ -D-glukosidázy byl použit 2,75 mM MUFG a DMSO. K vytvoření 2,75 mM MUFG je potřeba rozpustit 0,00930 g MUFG v 10 ml DMSO. Takto připravený roztok je nutné skladovat v tmavé lahvičce při teplotě 4 °C.





Pro stanovení kyselé fosfatázy byl použit 2,75 mM MUFP a DMSO. K vytvoření 2,75 mM MUFP je potřeba rozpustit 0,00704 g MUFP v 10 ml DMSO. Takto připravený roztok je nutné skladovat v tmavé lahvičce při teplotě 4 °C.

Pro stanovení arylsulfatázy byl použit 2,50 mM MUFS. K vytvoření 2,50 mM MUFS je potřeba rozpustit 0,00736 g MUFS v 10 ml DMSO. Takto připravený roztok je nutné skladovat v tmavé lahvičce při teplotě 4 °C.

Pro stanovení lipázy bylo použito 40  $\mu$ l 2,50 mM MUFY. K vytvoření 2,50 mM MUFY je potřeba rozpustit 0,00756 g MUFY v 10 ml DMSO. Takto připravený roztok je nutné skladovat v tmavé lahvičce při teplotě 4 °C.

Tab. č. 10: Destička pro stanovení enzymů

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	bG	bG	bG	bG	bG	bG						
<b>B</b>	P	P	P	P	P	P			10 µl 1:100	10 µl 1:100	10 µl 1:100	10 µl 1:100
<b>C</b>	S	S	S	S	S	S			20 µl 1:100	20 µl 1:100	20 µl 1:100	20 µl 1:100
<b>D</b>	Y	Y	Y	Y	Y	Y			50 µl 1:100	50 µl 1:100	50 µl 1:100	50 µl 1:100
<b>E</b>	bG	bG	bG	bG	bG	bG			20 µl 1:10	20 µl 1:10	20 µl 1:10	20 µl 1:10
<b>F</b>	P	P	P	P	P	P			50 µl 1:10	50 µl 1:10	50 µl 1:10	50 µl 1:10
<b>G</b>	S	S	S	S	S	S			10 µl 1	10 µl 1	10 µl 1	10 µl 1
<b>H</b>	Y	Y	Y	Y	Y	Y			20 µl 1	20 µl 1	20 µl 1	20 µl 1

	vzorek č. 1
	vzorek č. 2
	vzorek č. 3
	vzorek č. 4

bG 40 µl MUFG + 20 µl DMSO + 200 µl vzorku

P 40 µl MUFP + 20 µl DMSO + 200 µl vzorku

S 40 µl MUFS + 200 µl vzorku

Y 40 µl MUFY + 200 µl vzorku

1 1,0 mM MUF

1:10 0,1 mM MUF (1:10)

1:100 0,01 mM MUF (1:100)

#### 4.3.5. Statistické analýzy

Výsledky byly statisticky zpracovány jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) za použití programu STATISTICA (data analysis software system), verze 12 (Statsoft, Inc., USA), [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). Výsledky byly vyhodnoceny v závislosti na druhu bioodpadu a stáří vermikompostovaného materiálu.

## 5. Výsledky

### 5.1. Výsledky agrochemických a biologických analýz

Sušina se průměrně pohybovala u všech druhů vermikompostů mezi 20 – 40 %. Nejnížší ze všech vzorků a vrstev byla naměřena u lihovarských výpalků se slámou a senem a to konkrétně v IV. vrstvě, kde činila pouhých 15 %. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u kalu ze sladoven se směsí různého dalšího bioodpadu, kde byly ve všech vrstvách přes 40 %.

pH se u všech variant pohybovalo mezi 7 – 9, tedy neutrální až lehce zásadité. Nejnížší pH bylo naměřeno u lihovarských výpalků se slámou a senem, kde se hodnoty pohybovaly mezi 7 – 8. BRKO vykazovalo hodnoty v průměru mezi 7,5 – 8,5 (viz tab. č. 11). U matoliny se pH lehce lišilo u I. vrstvy oproti ostatním, jelikož tato vrstva nebyla tvořena matolinou, ale podestýlkou z hnoje a trávy. U kalu ze sladoven se směsí různého dalšího bioodpadu bylo pH naměřeno nejvyšší a to mezi 8 – 9.

Měrná vodivost se mezi bioodpady velmi lišila. Nejvyšší hodnoty vykazoval BRKO, kde byly hodnoty okolo 2 000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , ve III. vrstvě dokonce přes 3 500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (viz tab. č. 11). Nejnížší pak byly u matoliny (kromě I. vrstvy, která byla dvojnásobně vyšší oproti ostatním, opět z důvodu, že byla tvořena podestýlkou z hnoje a trávy) a u lihovarských výpalků. Všechny tyto hodnoty se pohybovaly okolo 1 000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

Počet žížal byl u všech variant nejvyšší v „nejmladší“ vrstvě, což souhlasí s tvrzením, že žížaly postupují vermikompostem směrem nahoru k ještě nezpracovanému bioodpadu. Nejvyšší počet žížal byl u matoliny - cca 200 ks žížal na 1 kg substrátu. Nejméně žížal pak bylo v lihovarských výpalcích.

#### **Podrobnější porovnávání vrstev u BRKO:**

Výsledný vermikompost se vzhledově mezi vrstvami nelišil. Barva byla vždy tmavě hnědá až černá. Při dotyku byla nejvlhčí IV. vrstva, která dokonce při stisku uvolňovala v menším množství tekutinu (což odpovídá i výsledným zprůměrovaným hodnotám sušiny, která je v IV. vrstvě nejnižší). I. až III. vrstvy byly již homogenní, IV. a V. vrstvy v sobě měly ještě znatelné kousky nerozloženého BRKO (kousky slámy, peciček, skořápky, apod.), což je důsledkem stáří vermikompostu, jelikož se jedná o nejmladší vrstvy, kde žížaly teprve bioodpad zpracovávají.

Sušina byla shodná mezi I. a V. vrstvou, kde činila cca 40 % a pro II. a III. vrstvu, kde byla mezi 43 – 46 %. IV. vrstva vykazovala statisticky průkazné rozdíly oproti ostatním vrstvám, jelikož činila pouze 35 %. Oproti ostatním bioodpadům byla procentuální hodnota sušiny (kromě kalu ze sladoven, který byl smíchán s dalšími různými druhy bioodpadů) vyšší. pH se pohybovalo mezi hodnotami 7,5 – 8,5 (viz tab. č. 11), což se výrazně nelišilo od ostatních bioodpadů. Statisticky významné rozdíly mezi sebou nevykazovala I. a III. vrstva a poté IV. a V. vrstva. II. vrstva vykazovala statisticky významné rozdíly se všemi vrstvami. Vodivost byla oproti ostatním bioodpadům v každé vrstvě výrazně vyšší. Nejvyšší byla ve III. vrstvě, kde dosahovala hodnot přes 3 500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a také nevykazovala s ostatními vrstvami shodu. Mezi vrstvami I., II., IV. a V. nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.

Tab. č. 11: Základní agrochemické parametry vermikompostu z BRKO

Vrstvy	Sušina [%]	pH	Vodivost [ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ]
<b>V. vrstva</b>	40,2 $\pm$ 2,19 <sup>a</sup>	8,70 $\pm$ 0,131 <sup>b</sup>	1824 $\pm$ 139 <sup>a</sup>
<b>IV. vrstva</b>	34,9 $\pm$ 1,64 <sup>c</sup>	8,75 $\pm$ 0,069 <sup>b</sup>	2041 $\pm$ 368 <sup>a</sup>
<b>III. vrstva</b>	46,6 $\pm$ 1,09 <sup>b</sup>	7,49 $\pm$ 0,109 <sup>a</sup>	3640 $\pm$ 318 <sup>b</sup>
<b>II. vrstva</b>	43,8 $\pm$ 0,69 <sup>b</sup>	8,11 $\pm$ 0,094 <sup>c</sup>	2076 $\pm$ 320 <sup>a</sup>
<b>I. vrstva</b>	40,4 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	7,45 $\pm$ 0,095 <sup>a</sup>	2318 $\pm$ 198 <sup>a</sup>

Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

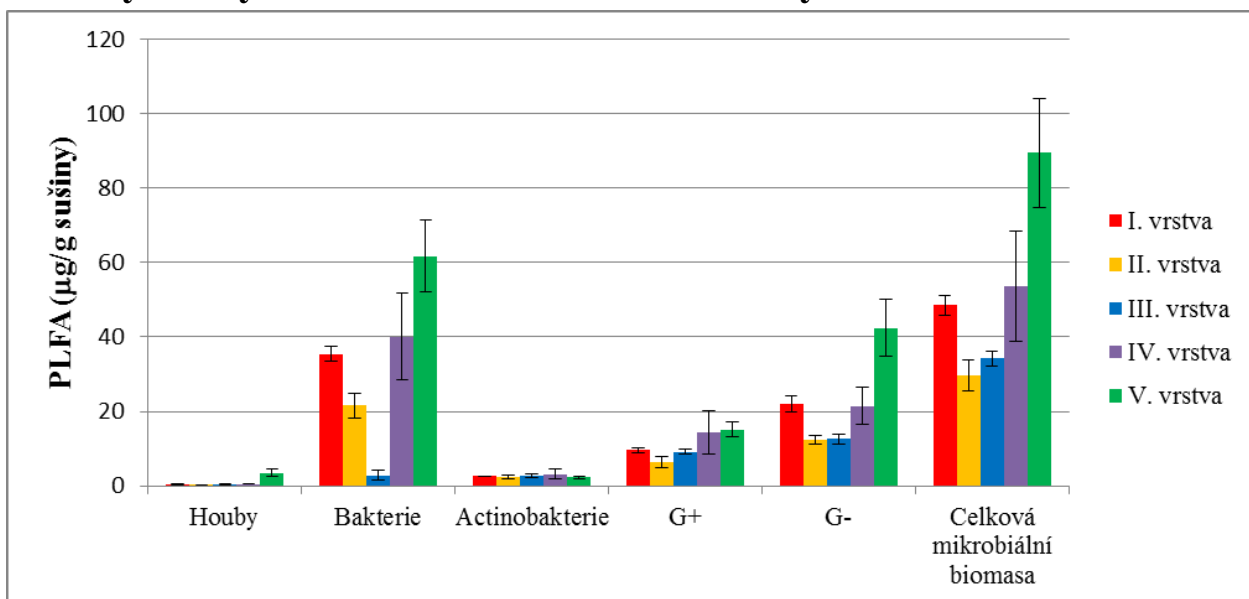
U počtu a biomasy žížal nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi vrstvami I. – IV. Pouze V. vrstva vykazovala statisticky významné rozdíly, jelikož zde byl nalezen výrazně vyšší počet žížal a hmotnost biomasy.

Tab. č. 12: Průměrné hodnoty počtu žížal [ks] a biomasy žížal [g] přepočtené na 1 kg vermikompostu

Vrstvy	Počet žížal v 1 kg	Biomasa žížal [g/kg]
<b>V. vrstva</b>	125,0 $\pm$ 81,9 <sup>b</sup>	14,9 $\pm$ 8,9 <sup>b</sup>
<b>IV. vrstva</b>	5,4 $\pm$ 7,9 <sup>a</sup>	0,7 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>
<b>III. vrstva</b>	2,5 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
<b>II. vrstva</b>	8,3 $\pm$ 13,5 <sup>a</sup>	0,8 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>
<b>I. vrstva</b>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>

Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

## 5.2. Výsledky stanovení mikrobiální aktivity

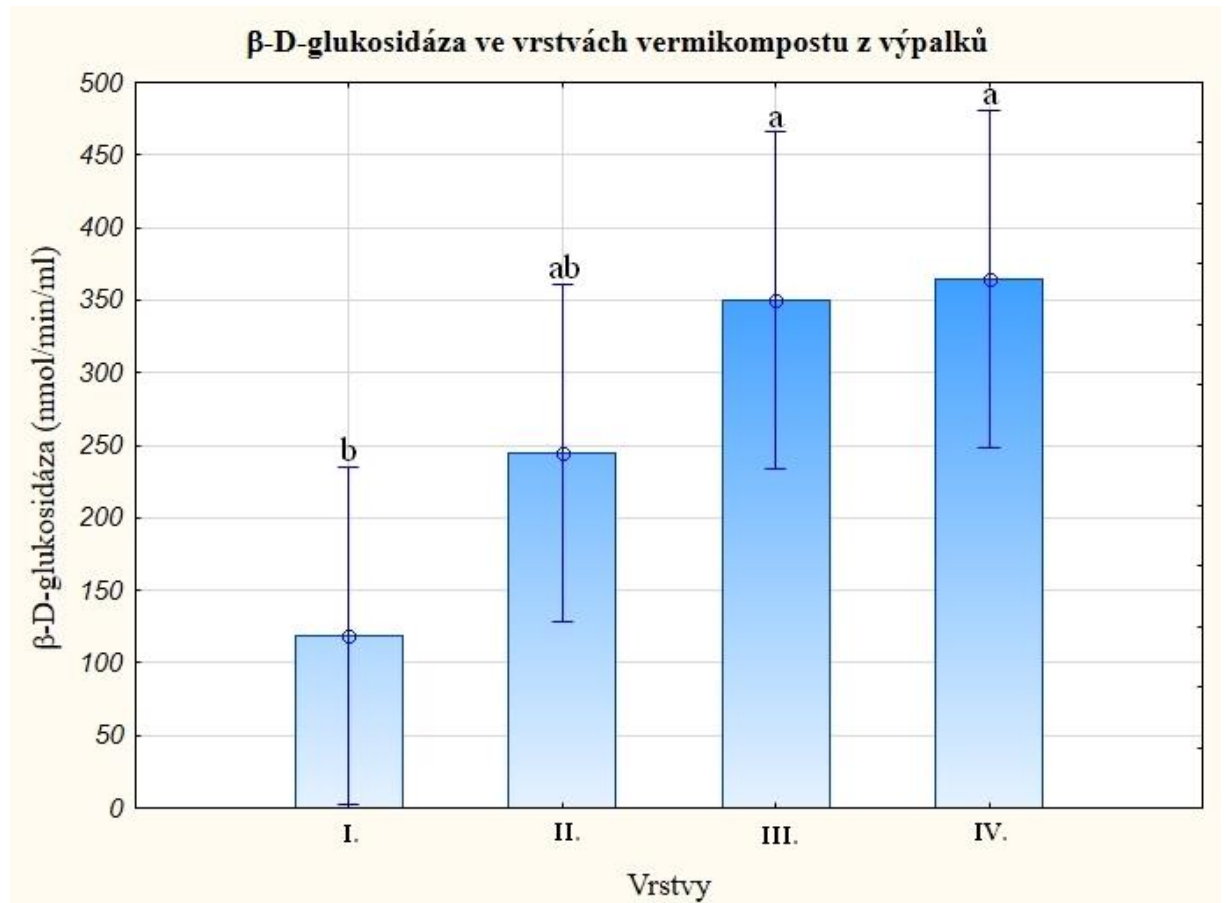


Graf č. 2.: Změny mikrobiální aktivity [ $\mu\text{g/g}$  sušiny] napříč profilem vermikompostu z BRKO  
Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4)

Hodnoty mikroorganismů se mezi vrstvami výrazně lišily, jak bylo zjištěno pomocí analýzy PLFA (analýza fosfolipidů mastných kyselin) a je to patrné z grafu č. 2. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny v IV. a V. vrstvě, nejnižší pak byly naměřeny převážně ve II. vrstvě.

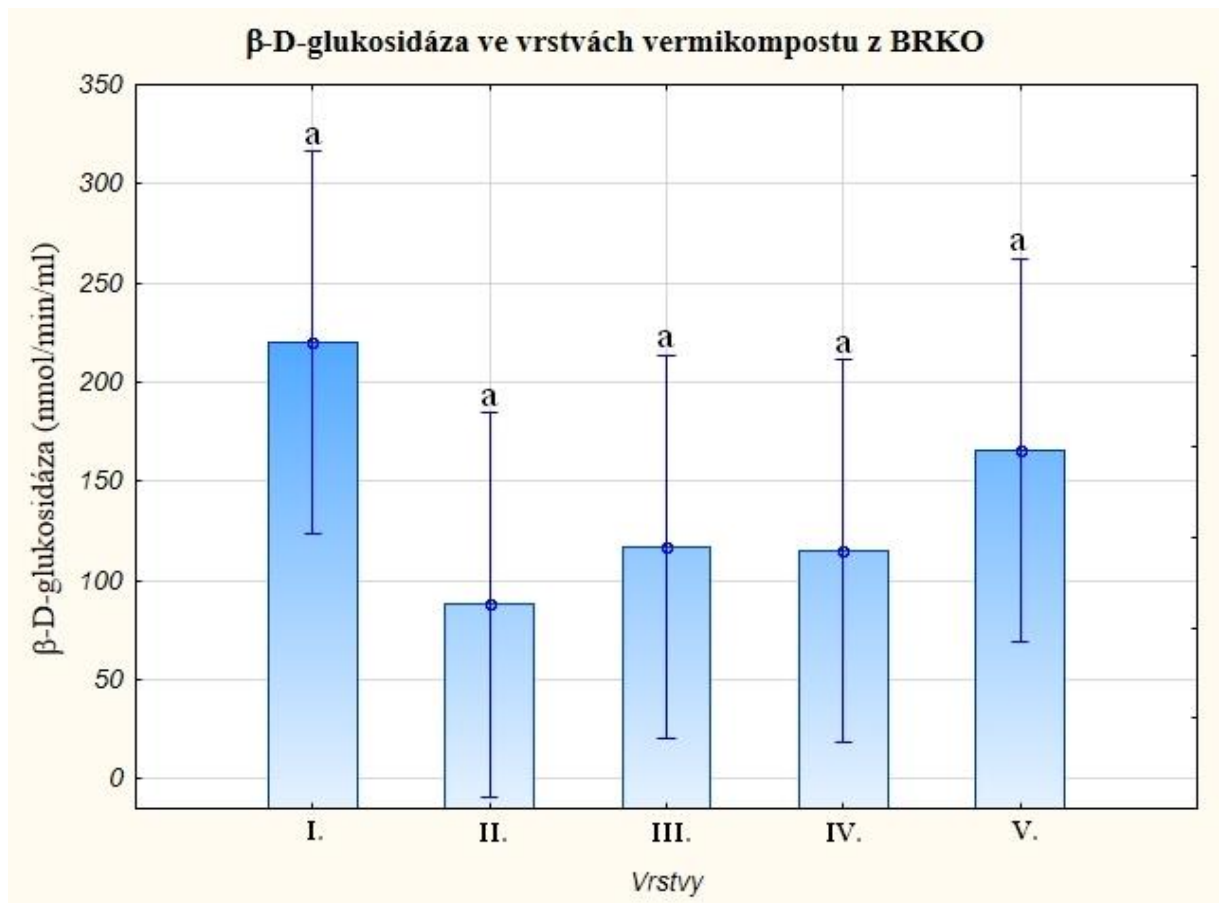
## 5.3. Výsledky stanovení enzymatické aktivity

### 5.3.1. $\beta$ -D-glukosidáza



Graf č. 3:  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z lihovarských výpalků  
Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

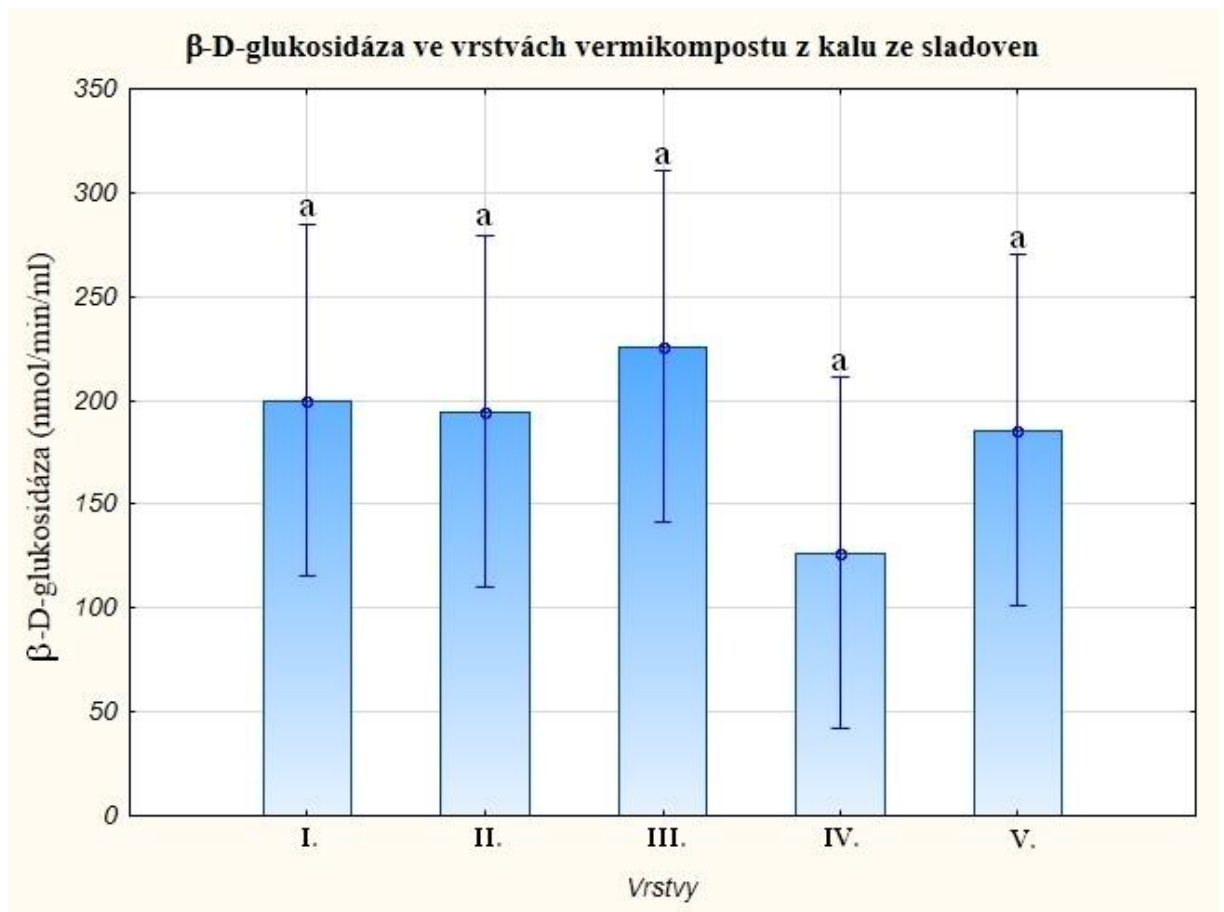
Nejvyšší hodnota enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy byla naměřena u vermikompostu z výpalků, konkrétně 364,5 nmol/min/ml ve IV. vrstvě. Průměr všech vrstev činil také nejvyšší enzymatickou aktivitu ze všech zkoumaných bioodpadů (hodnota 276,2 nmol/min/ml). Mezi vrstvami II., III. a IV. nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. U I. vrstvy statisticky významný rozdíl nalezen byl, vykazoval ho však pouze s III. a IV. vrstvou. II. vrstva statisticky významné rozdíly nevykazovala.



Graf č. 4:  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO  
 Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4).

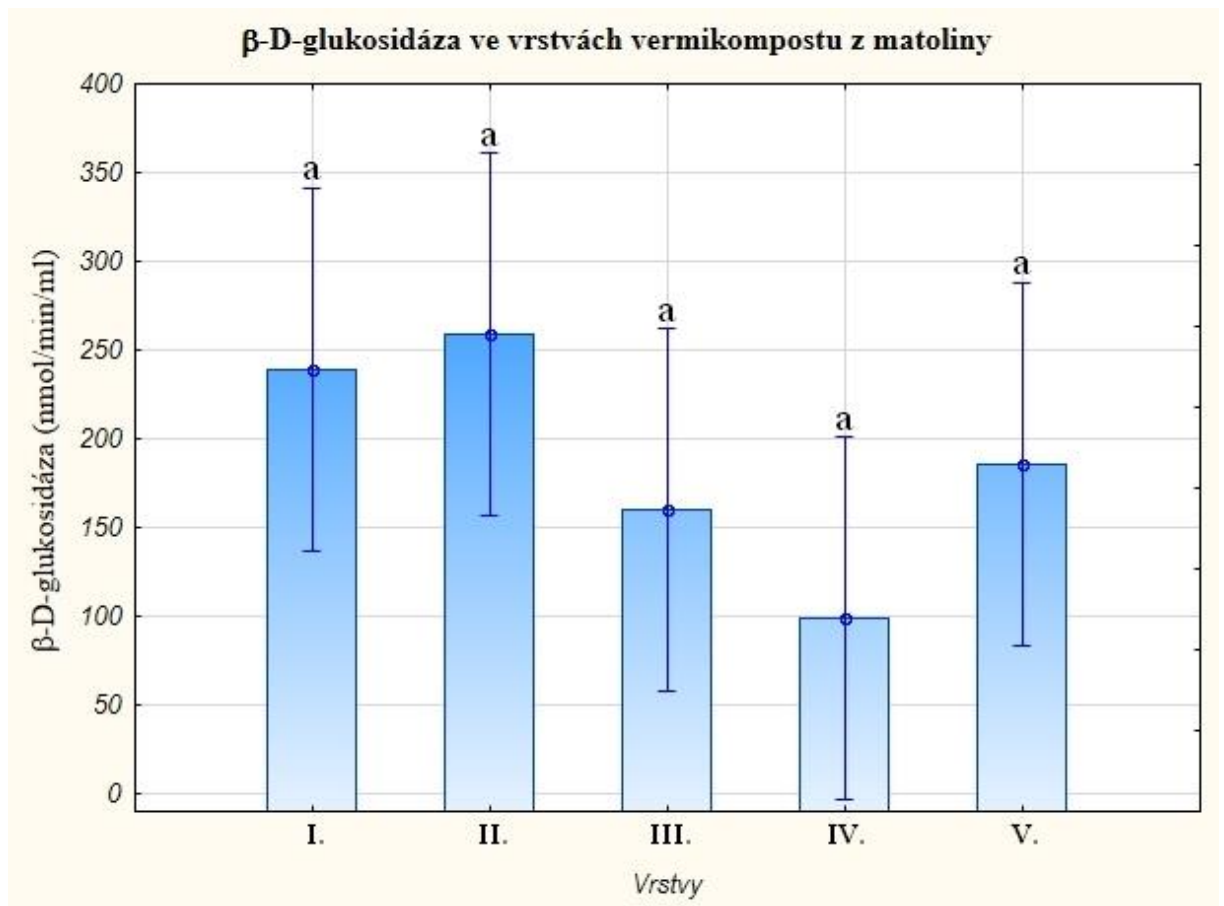
Nejnižší hodnota enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy byla naměřena u vermikompostu z BRKO. Konkrétně ve II. vrstvě s hodnotou pouhých 87,7 nmol/min/ml. Průměr vrstev byl ze všech bioodpadů také nejnižší. Konkrétně 141 nmol/min/ml. U žádné z vrstev u vermikompostu z BRKO nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.





Graf č. 5:  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven  
Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4).

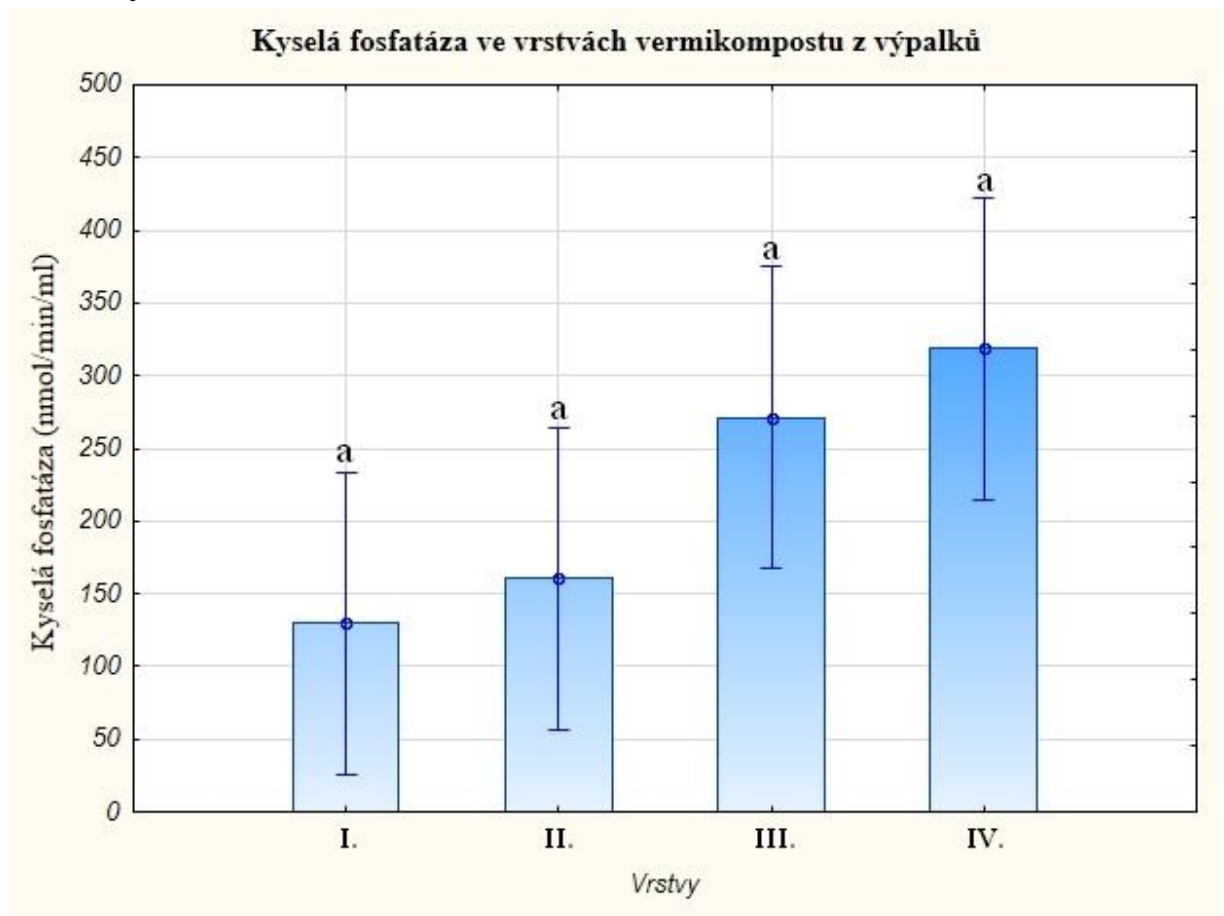
Hodnoty u aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy u vermikompostu z kalu ze sladoven se průměrně pohybovaly okolo 186,5 nmol/min/ml. Byly velmi podobné s průměrnými hodnotami vermikompostu z matoliny (188,4 nmol/min/ml). Mezi jednotlivými vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf č. 6:  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny  
 Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4).

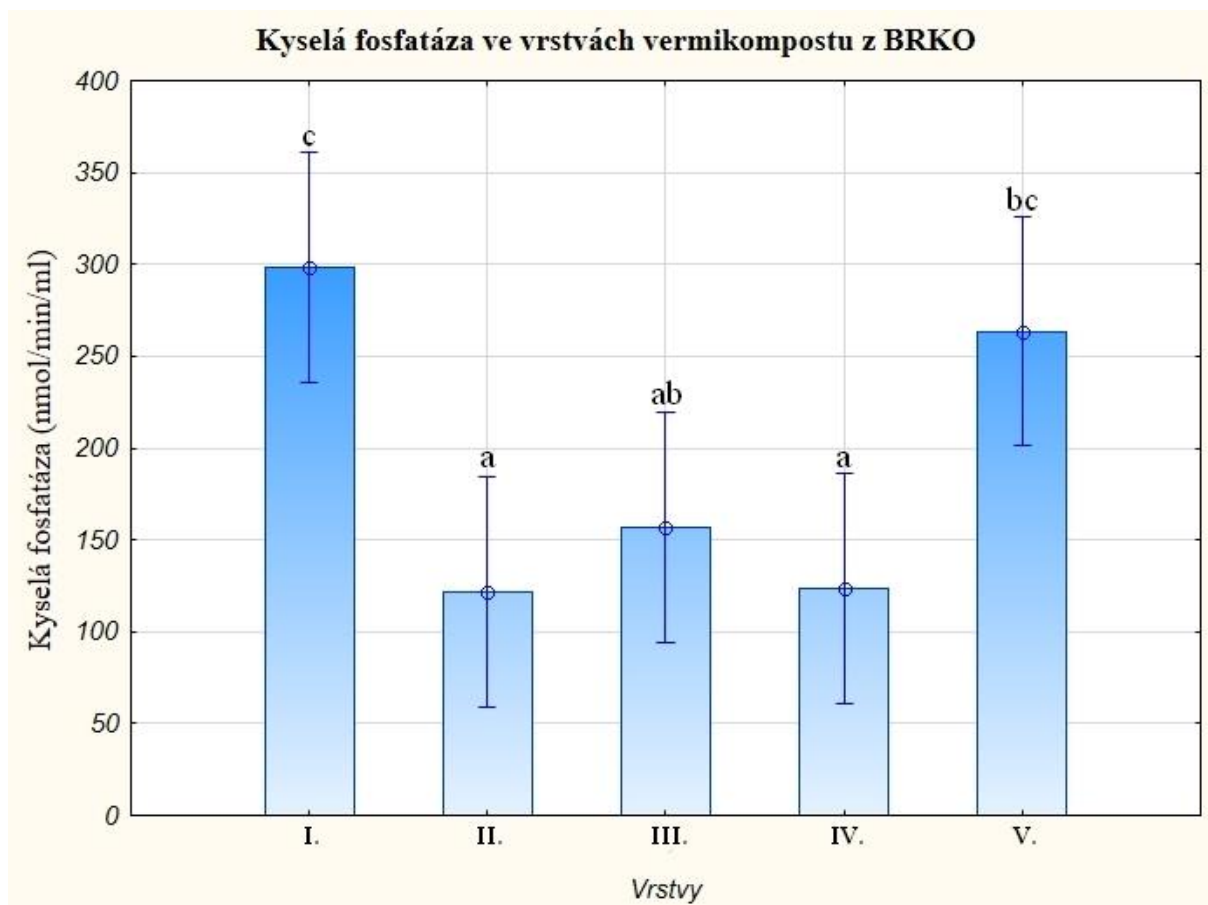
Hodnoty aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy u vermikompostu z matoliny se průměrně pohybovaly okolo 188,4 nmol/min/ml. Tato průměrná hodnota byla velmi podobná průměrné hodnotě u aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy u vermikompostu z kalu ze sladoven (186,5 nmol/min/ml). Mezi jednotlivými vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.

### 5.3.2. Kyselá fosfatáza



Graf č. 7: Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z lihovarských výpalků  
Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

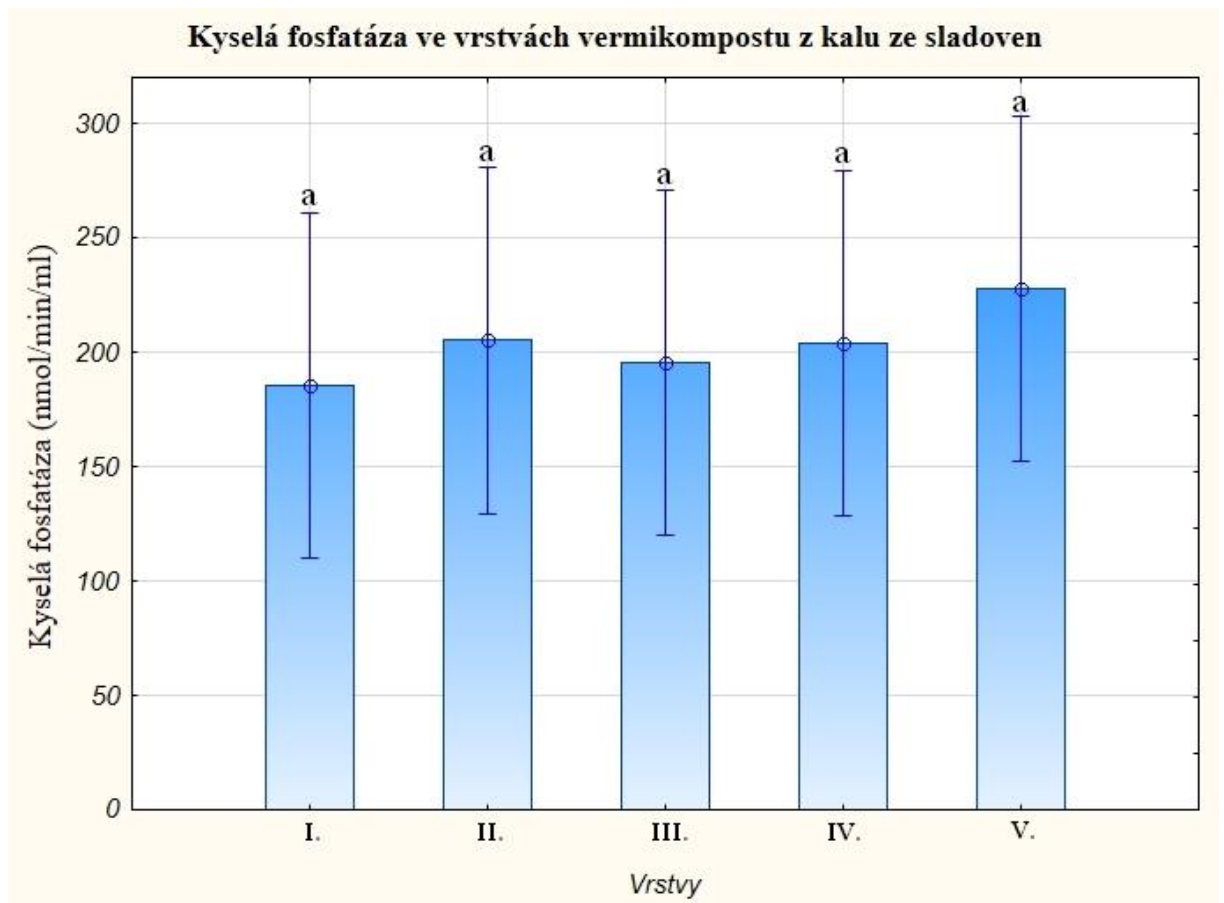
Hodnota enzymatické aktivity u kyselé fosfatázy činila u vermikompostu z lihovarských výpalků v průměru 220,2 nmol/min/ml, což byla nejvyšší hodnota v průměru mezi všemi námi zkoumanými bioodpady. Mezi jednotlivými vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf č. 8: Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO

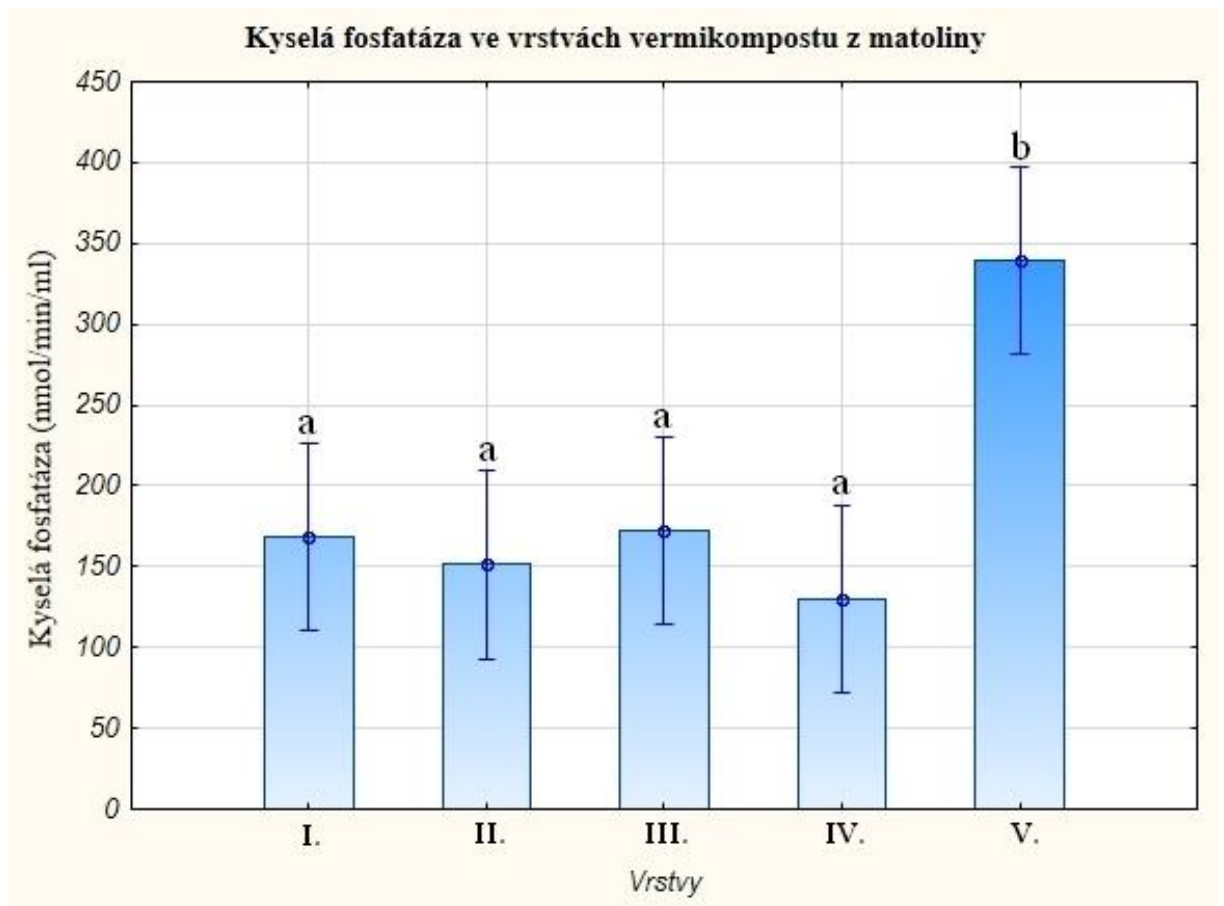
Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

U vermikompostu z BRKO byla nalezena nejnižší enzymatická aktivita kyselé fosfatázy mezi všemi námi sledovanými bioodpady. Hodnota činila 121,6 nmol/min/ml a byla naměřena ve II. vrstvě. Průměrná hodnota tohoto enzymu byla 192,7 nmol/min/ml (byla velmi podobná průměrné hodnotě enzymatické aktivity kyselé fosfatázy u matoliny – 192,4 nmol/min/ml). Mezi vrstvami byly nalezeny statisticky významné rozdíly. U I. vrstvy byl nalezen statisticky významný rozdíl s vrstvami II. – IV. U II. vrstvy s vrstvami I. a V. III. vrstva nebyla shodná pouze s I. vrstvou. IV. vrstva vykazovala statisticky významné rozdíly s vrstvami I. a V. (stejně jako II. vrstva) a u V. vrstvy byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi vrstvami II. a IV.



Graf č. 9: Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven  
 Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

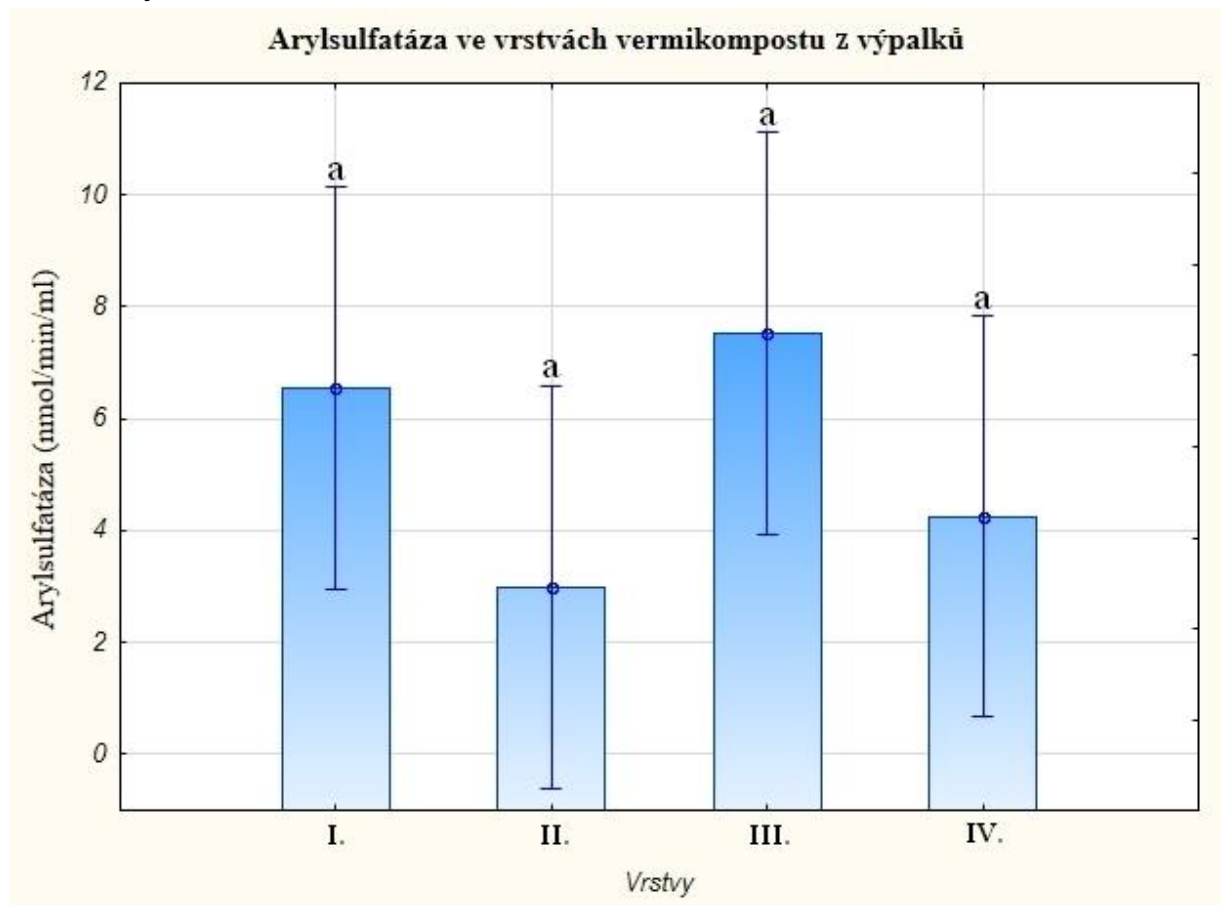
Hodnota enzymatické aktivity kyselé fosfatázy byla u kalu ze sladoven v průměru 203,4 nmol/min/ml. Mezi jednotlivými vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf č. 10: Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny  
 Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

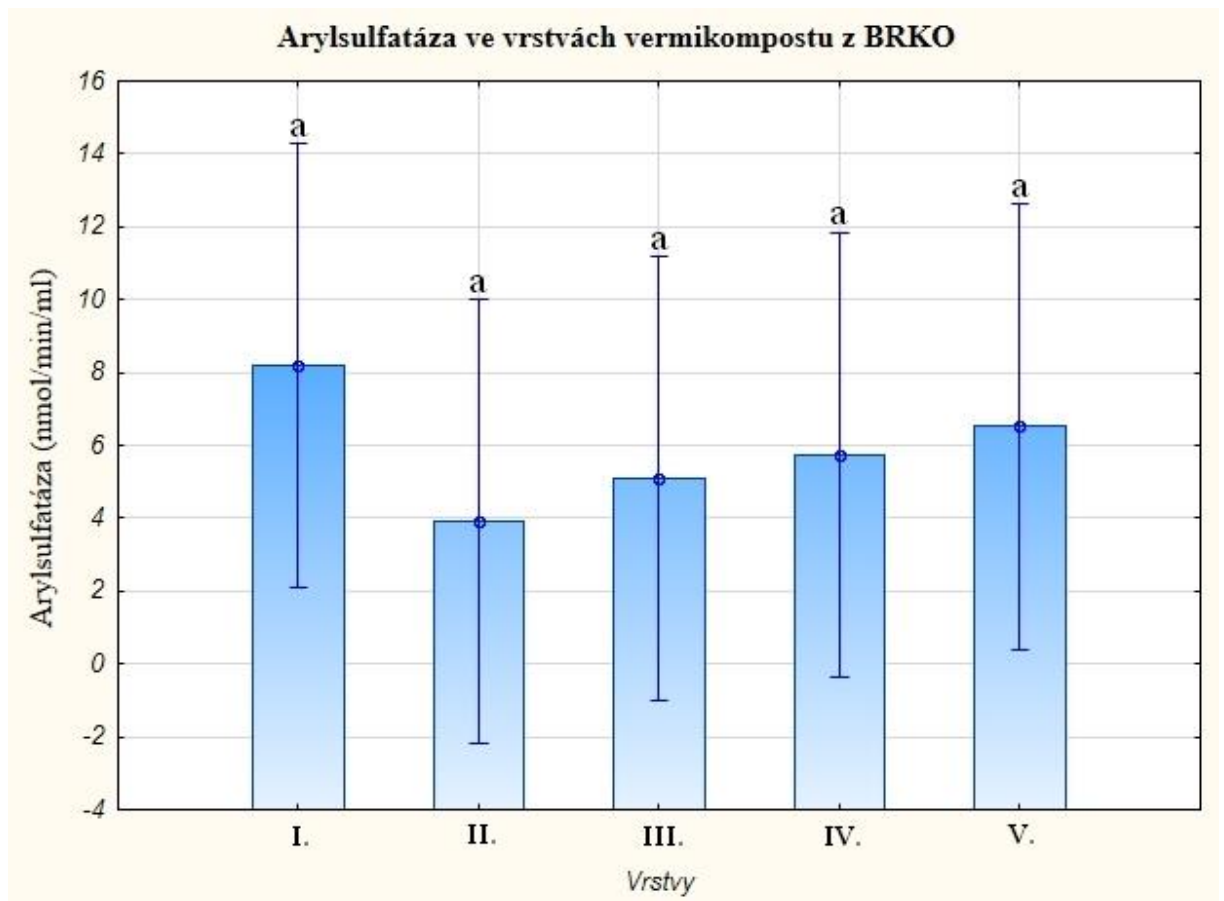
U vermikompostu z matoliny byla naměřena nejvyšší hodnota enzymatické aktivity kyselé fosfatázy mezi všemi sledovanými bioodpady. Činila 339,3 nmol/min/ml a byla naměřena v V. vrstvě. Průměrná hodnota tohoto enzymu byla 192,4 nmol/min/ml, to je nejnižší průměrná hodnota mezi průměry ostatních námi měřených bioodpadů. Mezi vrstvami I. – IV. nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. V. vrstva statisticky významné rozdíly vykazovala.

### 5.3.3. Arylsulfatáza



Graf č. 11: Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z lihovarských výpalků  
Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

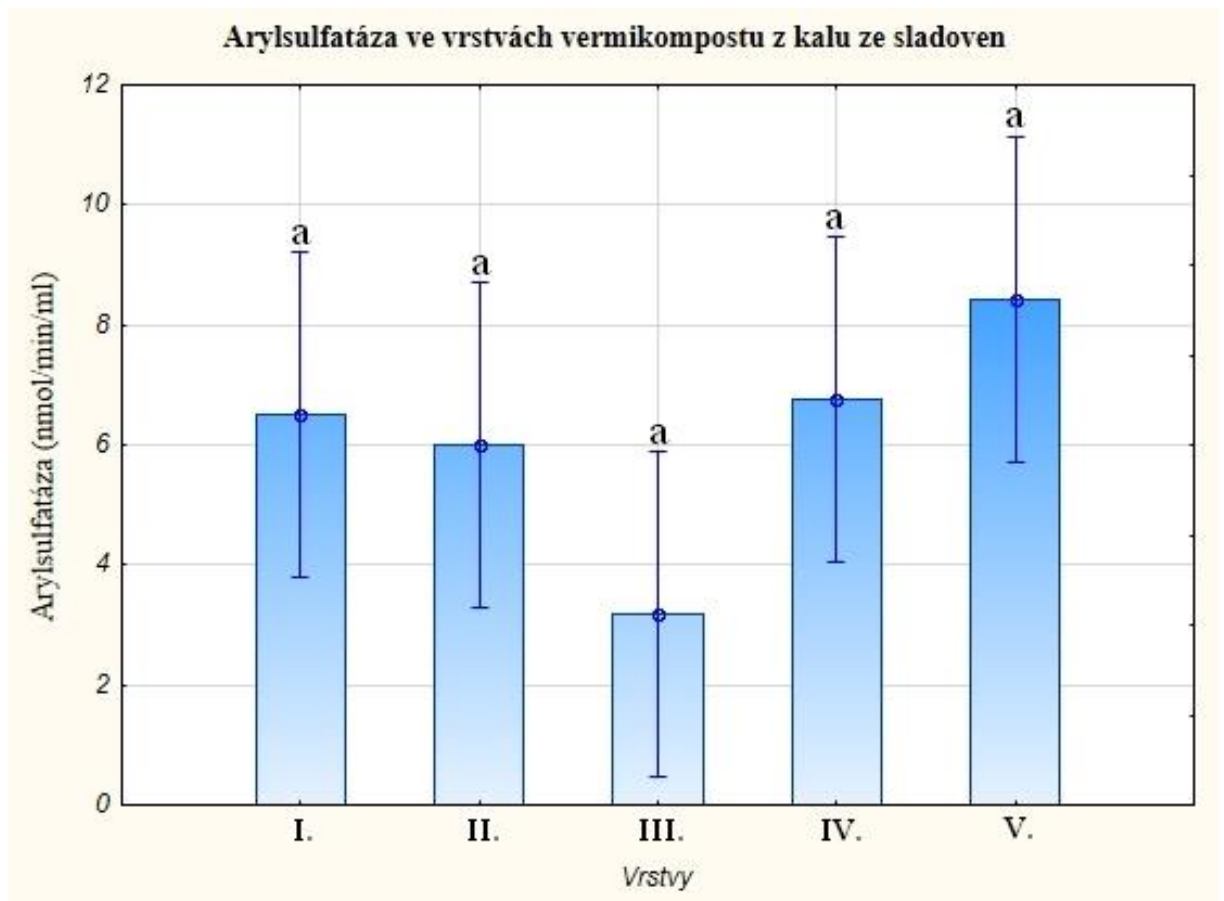
Hodnota aktivity enzymu arylsulfatázy byla ve vermikompostu z lihovarských výpalků v průměru 5,4 nmol/min/ml. Mezi jednotlivými vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf č. 12: Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO  
 Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

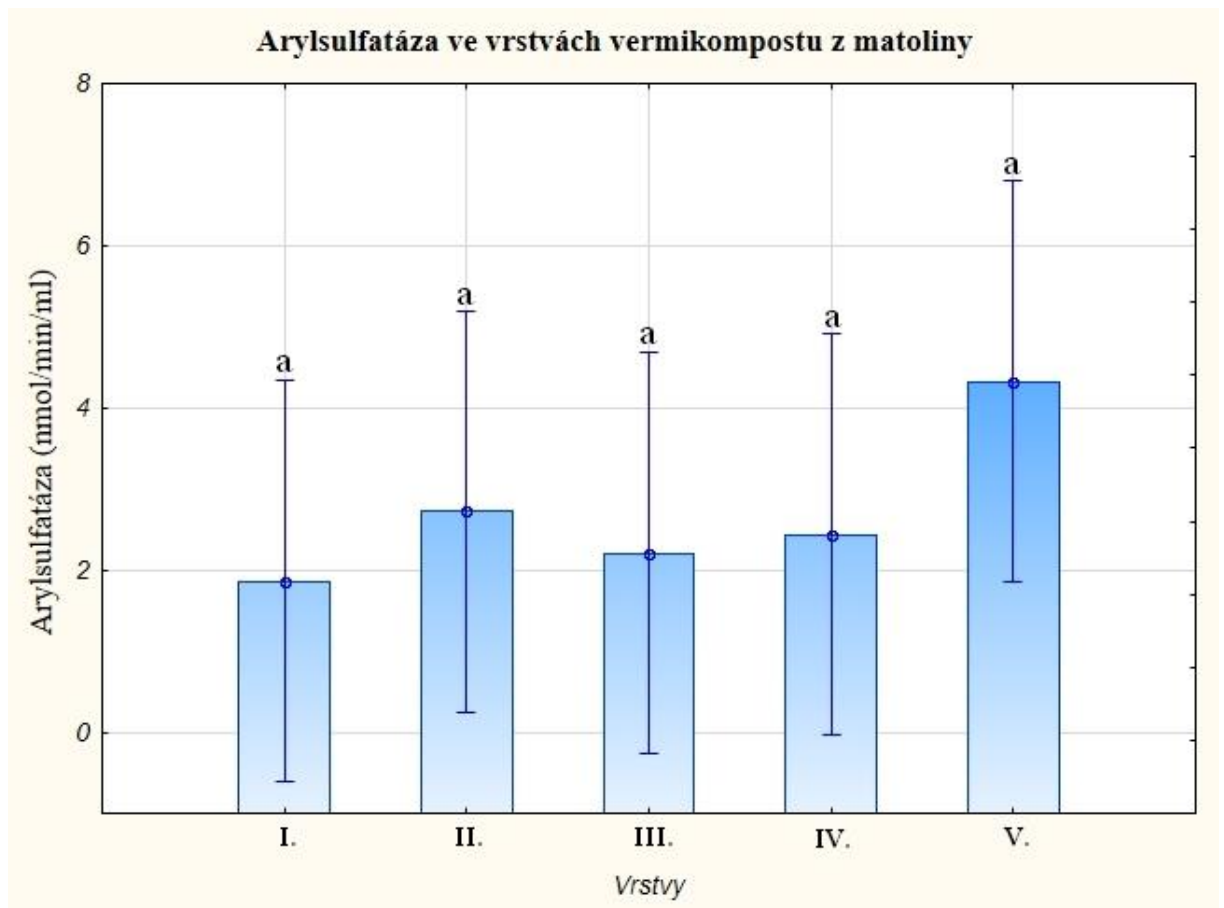
Průměrná hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy ve vermikompostu z BRKO činila 5,9 nmol/min/ml. Mezi jednotlivými vrstvami nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.





Graf č. 13: Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven  
 Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

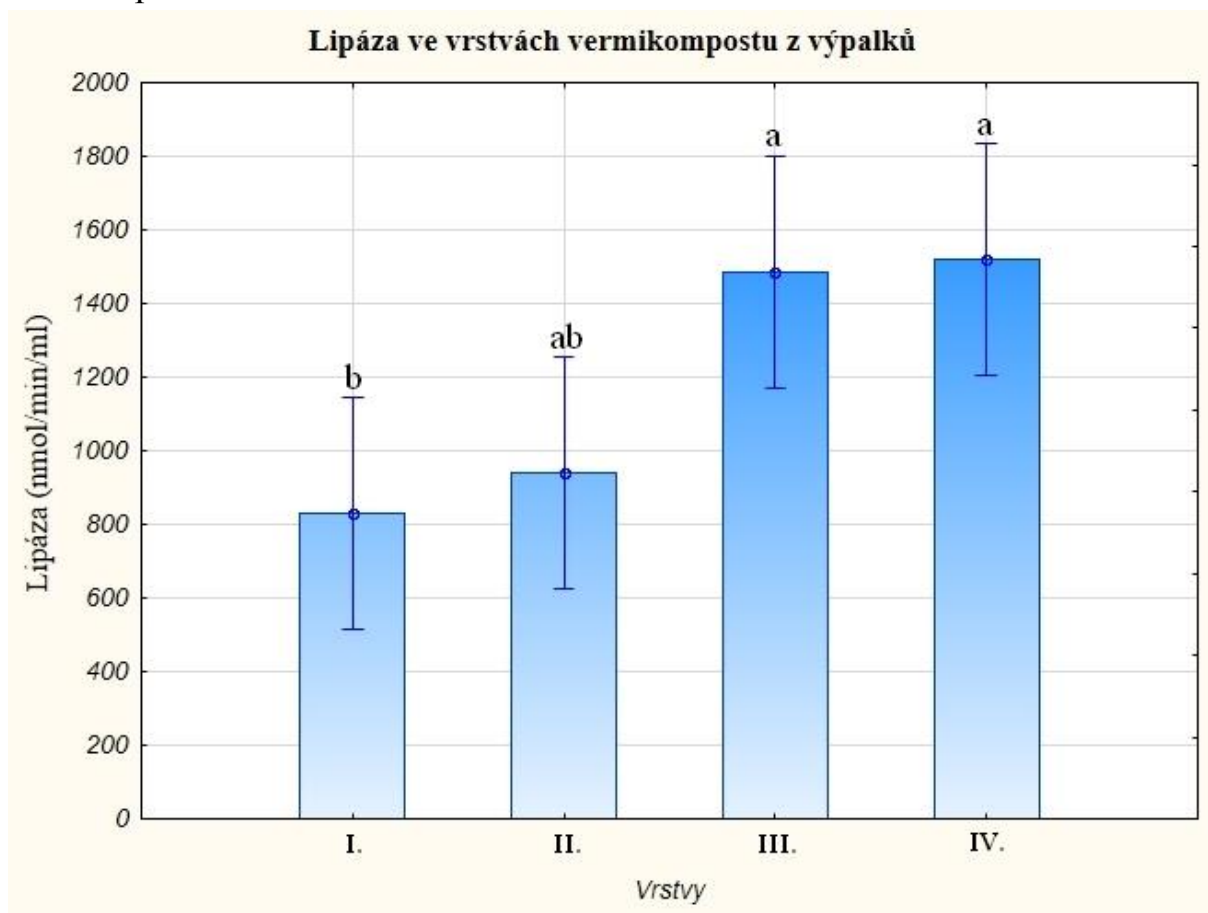
U vermikompostu z kalu ze sladoven byla naměřena nejvyšší hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy mezi všemi sledovanými vermikomposty z různých bioodpadů. Hodnota činila 8,4 nmol/min/ml a byla zjištěna v V. vrstvě. Statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými vrstvami nalezeny nebyly. Průměrná hodnota, která byla naměřena mezi všemi vrstvami vermikompostu z kalu ze sladoven, byla také nejvyšší (6,2 nmol/min/ml) mezi všemi měřenými bioodpady.



Graf č. 14: Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny  
 Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

Nejnižší hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy mezi všemi námi měřenými vermikomposty z různých bioodpadů byla naměřená v I. vrstvě u vermikompostu z matoliny (1,9 nmol/min/ml). Statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými vrstvami nalezeny nebyly. Průměrná hodnota zde byla také nejnižší ze všech námi zkoumaných bioodpadů, konkrétně 2,7 nmol/min/ml.

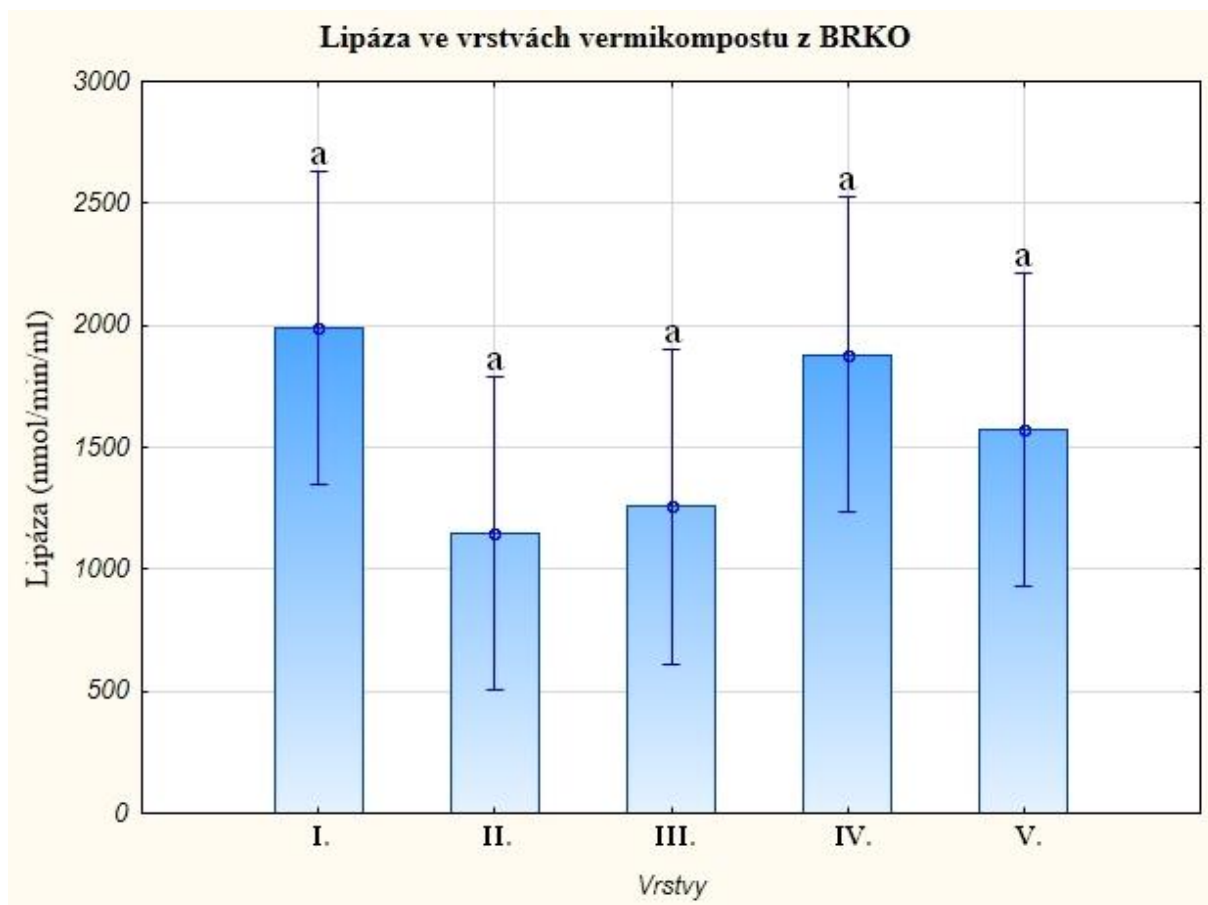
### 5.3.4. Lipáza



Graf č. 15: Lipáza ve vrstvách vermikompostu z lihovarských výpalků

Hodnoty: průměr  $\pm$  smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

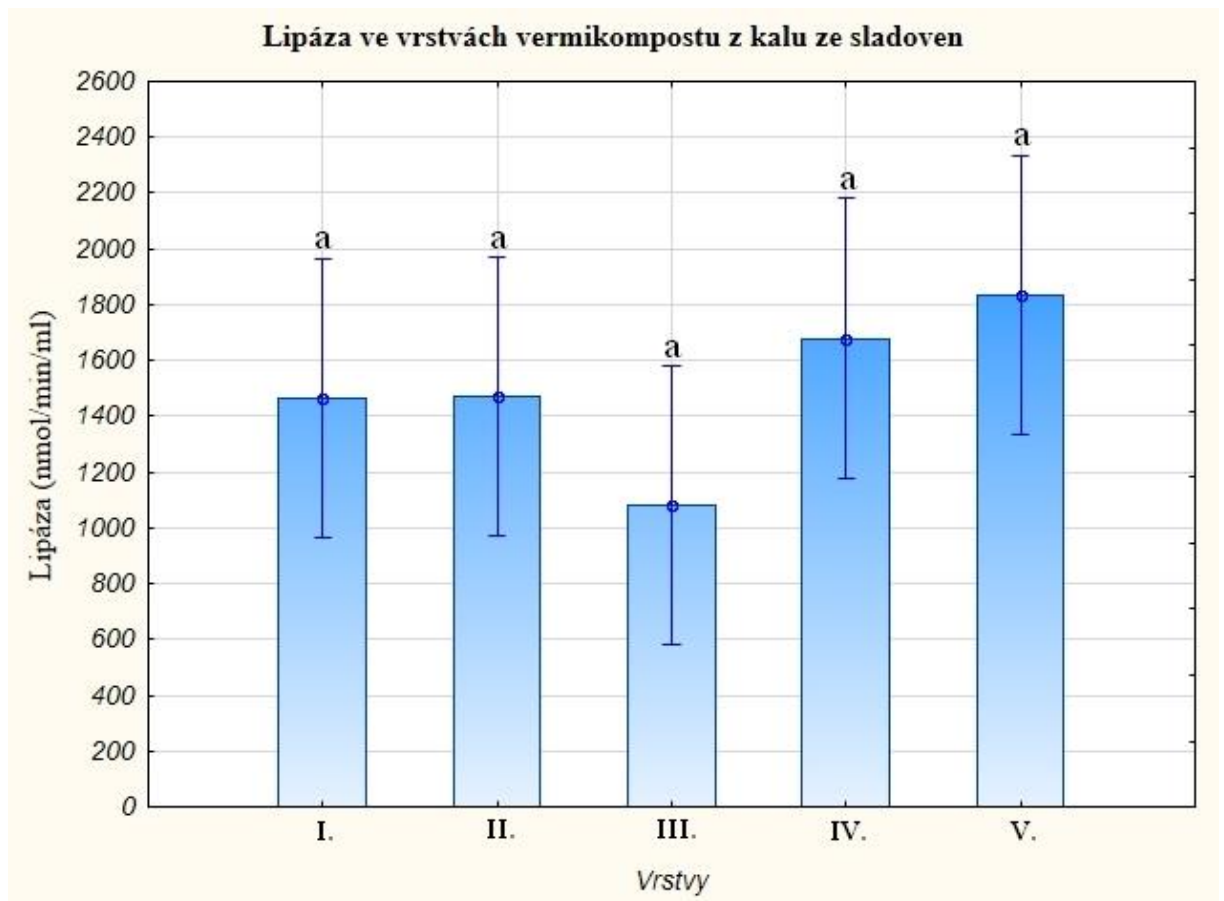
Mezi všemi námi sledovanými bioodpady byla naměřena nejnižší enzymatická aktivita lipázy ve vermikompostu z lihovarských výpalků. Jednalo se o I. vrstvu a hodnota činila 832,2 nmol/min/ml. Průměrná hodnota mezi vrstvami byla 1194,5 nmol/min/ml, což byla nejnižší hodnota mezi námi měřenými bioodpady. Mezi jednotlivými vrstvami byly nalezeny statisticky významné rozdíly. I. vrstva se lišila od III. a IV., pouze II. vrstva nevykazovala statisticky významné rozdíly s žádnou vrstvou ve vermikompostu.



Graf č. 16: Lipáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO

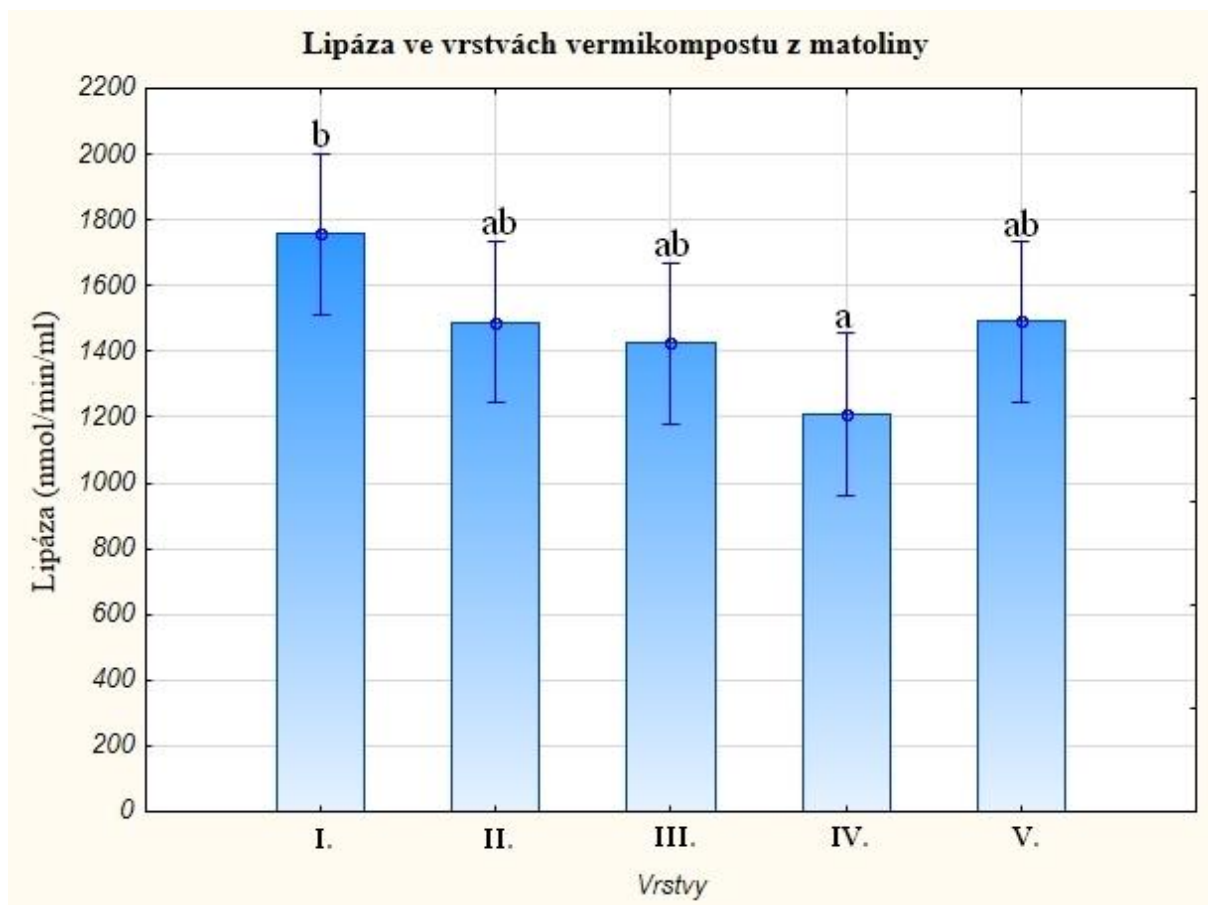
Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

Zde byla naměřena nejvyšší hodnota enzymatické aktivity lipázy mezi všemi námi měřenými bioodpady. Konkrétně v I. vrstvě a to 1989,7 nmol/min/ml. Průměrná hodnota enzymatické aktivity mezi vrstvami z vermikompostu z BRKO činila 1570 nmol/min/ml a byla mezi námi měřenými bioodpady také nejvyšší. Mezi vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf č. 17: Lipáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven  
 Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4).

Průměrná hodnota enzymatické aktivity lipázy u vermikompostu z kalu ze sladoven činila 1507,2 nmol/min/ml. Mezi jednotlivými vrstvami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf č. 18: Lipáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny

Hodnoty: průměr ± smodch. výběr (n=4). Mezi variantami označenými rozdílnými písmeny byly zaznamenány statisticky významné rozdíly ( $p \leq 0,05$ ).

Průměrná hodnota enzymatické aktivity lipázy u vermikompostu z matoliny byla 1474,8 nmol/min/ml. U jednotlivých vrstev byly nalezeny statisticky významné rozdíly. I. vrstva se lišila od IV. vrstvy a naopak. Vrstvy II., III. a V. naopak statisticky významné rozdíly nevykazovaly.

## 6. Diskuze

Zvýšení enzymatické aktivity je způsobeno snadno rozložitelnými biologickými organickými látkami, které jsou součástí kompostu a které stimulují růst půdních mikroorganismů, a tím zvýšení aktivity každého enzymu (Perucci, 1992). S tímto tvrzením souhlasí autoři Parthasarathi a Ranganathan (2000) a doplňují ho, že našli vyšší enzymatickou aktivitu u žížal, které byly krmeny organickými odpady. Aira a kol. (2007) zjistili, že se extracelulární enzymová aktivita zvyšuje s množstvím prasečí kejdy a že přítomnost žížal stimulovala růst mikroorganismů. S tímto tvrzením však nesouhlasí Domínguez (2004), který naopak uvádí, že zpracovávání organického materiálu žížalami může mít negativní vliv na mikrobiální biomasu, jelikož žížaly vyčerpávají zdroje mikrobům. Aira a kol. (2007) ještě dodávají, že enzymatická aktivita je závislá na dostupnosti substrátu. S tímto tvrzením souhlasí García-Sánchez a kol. (2017) a dodávají, že typ materiálu může výrazně ovlivnit rozklad organických látek, a tím výkon žížal. Lze také zaznamenat, že se žížaly silně podílí na stabilizaci organických látek.

Zvýšení enzymatické aktivity během procesu lze také přičíst ochraně extracelulárních enzymů v důsledku tvorby komplexů s huminovými látkami (Cayuela a kol., 2008). Tvorba komplexů mezi huminovými látkami a enzymy v půdě je, jak uvádí Burns (1982) i autoři Nannipieri a kol. (1996), dobře dokumentována ve studiích. Ekologický význam tvorby humo-enzymatických komplexů v půdě je relevantní (důležitý), jelikož extracelulární enzymy mají obvykle krátkou „životnost“, pokud nejsou adsorbovány půdními koloidy (Ladd, 1985). Jsou totiž náchylné k denaturaci (změně struktury), inaktivaci a k degradačním procesům. Půdní koloidy jim poskytují velkou resistenci (odolnost) vůči tepelné denaturaci (Perez-Mateos a Rad, 1989). Burns (1986) doplňuje, že enzymy mohou být velmi silně imobilizovány (zabudovány) v půdě, hlavně v hlubších vrstvách.

### **β-D-glukosidáza:**

Enzymatická aktivita β-D-glukosidázy se v našich pokusech mírně lišila v závislosti na surovinách. S tímto tvrzením souhlasí López a kol. (2010); Fornasier a kol. (2004) i Benítez a kol. (2005). Hodnota enzymatické aktivity β-D-glukosidázy je spojena s množstvím substrátu a obsahem humusu v půdě. Čím vyšší je obsah humusu, tím vyšší je enzymatická aktivita. S tímto tvrzením souhlasí Wittmann a kol. (2004), kteří našli vysokou aktivitu β-D-glukosidázy v humusové vrstvě lesní půdy. Zároveň s tímto tvrzením souhlasí Eivazi a Zakaria (1992), kteří naměřili nižší enzymatickou aktivitu u β-D-glukosidázy, kde byl nižší obsah čistírenského kalu. Nelze říci, zda naše výsledky s tímto tvrzením souhlasí či nikoli, jelikož v našich pokusech humus měřen nebyl. Dá se však předpokládat, že vyšší obsah humusových látek bude růst směrem dolů ke starším (spodnějším) vrstvám (humifikace) a zároveň bude směrem dolů ubývat celkové množství uhlíku (mineralizace). Z výsledků námi naměřených hodnot enzymatické aktivity β-D-glukosidázy lze usuzovat, že je tento předpoklad správný. Konkrétně u vermikompostu z BRKO, z kalu ze sladoven a z matoliny. S tímto předpokladem však nesouhlasí tvrzení autorů Benítez a kol. (2005) a jejich výsledky. V jejich experimentu byla měřena enzymatická aktivita β-D-glukosidázy u kompostu z matoliny, z hnoje a ze směsi (sedlina z výroby vína a výhonky révy vinné). Nejnižší naměřená hodnota byla u kompostu z matoliny. Autoři uvádí, že na počátku byla hodnota enzymatické aktivity v kompostu z matoliny vyšší právě z důvodu většího množství celkového uhlíku. Tato aktivita

poté lineárně klesala během celého procesu kompostování a na konci dosáhla nejnižších hodnot ve všech testovaných substrátech. S tímto tvrzením souhlasí i výsledky autora Fernández-Gómez (2011), který porovnával kompost z odpadu z lisovny olivového oleje, z matoliny a z biomasy. Hodnoty enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy může také snižovat obsah rizikových prvků (Eivazi a Zakaria, 1992).

Benítez a kol. (2005) uvádí, že během svých pokusů ve vermikompostování odpadu z výroby olivových produktů, se hodnota enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy značně zvyšovala během celého procesu vermikompostování. Zvýšenou enzymatickou aktivitu ve svých experimentech naměřili i Mondini a kol. (2004). S tímto tvrzením lze v našem případě souhlasit pouze u vermikompostu z lihovarských výpalků. Naše výsledky enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy u vermikompostu z matoliny, BRKO a kalu ze sladoven naopak souhlasí s výsledky Castaldi a kol. (2008), kteří uvádí, že na počátku byly hodnoty vyšší z důvodu zvýšení snadno rozložitelných organických látek. Po této fázi (fázi zrání) však byla zaznamenána tendence snižování enzymatické aktivity, což naznačuje, že postupně docházelo ke stabilizaci organických látek. Cunha-Queda a kol. (2007) tento pokles enzymatické aktivity přičítají k pravděpodobnému zvýšení obsahu ligninu v městském tuhém odpadu po uvolnění snadno metabolizovaného uhlíku. S tímto tvrzením souhlasí i Echeverria a kol. (2012), kteří k těmto výsledkům došli u kompostu z olivových slupek. V našich měřeních (převážně u vermikompostu z BRKO) k takovému poklesu také došlo. Je tedy možné, že právě toto jsou důvody poklesu enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy v našich experimentech. Někteří autoři také zaznamenali pokles enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy při kompostování čistírenských kalů (Benítez a kol., 1999), komunálního odpadu (García a kol., 1993) a matoliny (García-Sánchez a kol., 2017). Ke konci procesu však došlo u všech hodnot enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy z námi měřených vermikompostů (kromě vermikompostu z lihovarských výpalků) k jejímu zvýšení. To může být dáno jiným složením. Jedná se totiž o spodní vrstvu, která byla tvořena zejména substrátem se žížalami (materiál určený k vermikompostování byl přidáván až na tuto vrstvu).

Platí zde, že vermikompostované bioodpady vykazují vyšší hodnoty enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy, než bioodpady nijak neupravené. Souhlasí s tím výsledky autorů Benítez a kol. (2004), kteří naměřili výrazně vyšší hodnoty enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy ve vermikompostu z odpadu z výroby olivového oleje, než u samotného odpadu z výroby olivového oleje, který nebyl vermikompostovaný. S výše zmíněnými autory nesouhlasí Frankenberger a kol. (1983), ani výsledky pokusu od autorů Eivazi a Zakaria (1992), kteří naopak uvádí, že v jejich výsledcích byla vyšší hodnota enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy naměřena tam, kde bylo více nezpracovaného bioodpadu.

V našich pokusech vykazoval nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy vermikompost z lihovarských výpalků. S tímto tvrzením souhlasí autoři Benítez a kol. (2005). V jejich práci však byly porovnávány výpalky z révy vinné se směsí s jejími výhonky. Dále jimi byla zkoumána enzymatická aktivita  $\beta$ -D-glukosidázy u hnoje, u směsi ze sedliny při výrobě vína a u výhonků révy vinné. U autorů López a kol. (2010) byla nejvyšší hodnota v porovnávaných bioodpadech (čistírenský kal, BRO a BRKO) zaznamenána u čistírenského kalu. García a kol. (2006) naměřili nejvyšší enzymatickou aktivitu  $\beta$ -D-glukosidázy také v čistírenském kalu a ještě i v chlévském hnoji. To může být způsobeno vysokým počtem mikroorganismů a vysokým obsahem organických látek. S tímto tvrzením naopak nesouhlasí



Marcote a kol. (2001), kteří našli nejnižší obsah  $\beta$ -D-glukosidázy v kravském hnoji, nejvyšší naopak v kompostovaném městském tuhém odpadu. Mohlo se však jednat o velmi různorodý městský tuhý odpad, který vykazoval vyšší obsah organických látek, než jaké byly v kravském hnoji.

V experimentu autorů Cayuela a kol. (2008) byl průběh enzymatické aktivity u  $\beta$ -D-glukosidázy zcela odlišný. Byly zde zkoumány dva typy kompostů. První typ kompostu byl složen z odpadu z lisovny olivového oleje (45 %), z ovčí podestýlky (45 %) a z třapin (10 %). Druhý typ kompostu byl složen pouze z odpadu z lisovny olivového oleje (50 %) a z ovčí podestýlky (50 %). U prvního typu kompostu vykazovala enzymatická aktivita  $\beta$ -D-glukosidázy na počátku procesu rapidní nárůst. V polovině kompostovacího procesu však začala výrazně klesat, poté opět znovu výrazně stoupat a až ke konci byla téměř konstantní. Tento průběh enzymatické aktivity byl v našich sledováních zaznamenán u vermikompostování matoliny a kalu ze sladoven. U druhého typu kompostu se enzymatická hodnota  $\beta$ -D-glukosidázy průběžně zvyšovala, poté byla chvíli konstantní a k úplnému závěru ještě více narostla. V našich měřeních byl tento průběh zaznamenán u vermikompostování lihovarských výpalků.

Nejnižší hodnoty enzymatické aktivity  $\beta$ -D-glukosidázy vykazoval v našem případě vermikompost z BRKO, s čímž souhlasí výsledky autorů López a kol. (2010). Ti mezi sebou porovnávali kompost z čistírenského kalu, BRO a BRKO. A nejnižší hodnoty enzymatické aktivity vykazoval kompost z BRKO. K velmi podobným výsledkům došli i García a kol. (2006), u kterých nižší enzymatickou aktivitu  $\beta$ -D-glukosidázy vykazoval také BRKO a BRO. V jejich pokusech byl ještě porovnáván chlévský hnůj a čistírenský kal. U autorů Fornasier a kol. (2004) byla enzymatická hodnota  $\beta$ -D-glukosidázy naopak u BRO nejvyšší. Nejnižší hodnoty zde vykazoval kompostovaný odpad z výroby z bavlny. Důvod vyššího obsahu enzymatické aktivity u BRO může mít za následek různorodost bioodpadu, jelikož v odpadu z výroby z bavlny se jedná o poměrně stejnorodý druh odpadu.

### **Kyselá fosfatáza:**

Enzymatická aktivita kyselé fosfatázy se v našich pokusech výrazně nelišila v závislosti na surovinách. S tímto tvrzením však nesouhlasí García a kol. (2002), kteří našli naopak ve svých pokusech velké rozdíly hodnot enzymatické aktivity v závislosti na surovinách. Porovnávali kompostovaný chlévský hnůj, odpad ze zeleně, BRKO a čistírenský kal. V jejich pokusech byla nejvyšší enzymatická aktivita kyselé fosfatázy zaznamenána u kompostovaného čistírenského kalu. Podobné výsledky pak García a kol. (2006) zaznamenali ve své studii o 4 roky později, kde nejvyšší enzymatickou aktivitu opět vykazoval kompost čistírenského kalu. S tímto tvrzením souhlasí i López a kol. (2010). Ti porovnávali kompostovaný čistírenský kal s BRO a městským tuhým odpadem. Také jim vyšla nejvyšší hodnota kyselé fosfatázy u čistírenského kalu. Banik a kol. (2007) zkoumali enzymatickou aktivitu mezi kompostovaným kravským hnojem, trávou, vodním plevellem a městským tuhým odpadem. Ti uvádí, že nejvyšší hodnotu enzymatické aktivity naměřili v kravském hnoji. Oba tyto odpady (jak čistírenský kal, tak kravských hnůj) mají vysoký obsah mikroorganismů a organických látek, což má významný vliv na vyšší enzymatickou aktivitu tohoto enzymu.

Jak uvádí autoři Albrecht a kol. (2010); Ros a kol. (2006); Tiquia a kol. (2002); García a kol. (2006); Bhattacharyya a kol. (2008); López a kol. (2010); Ayuso a kol. (1996); Benítez

a kol. (1999); García a kol. (1993) i Vuorinen (2000), nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity kyselé fosfatázy jsou většinou naměřeny na počátku procesu a poté se postupně snižují. Tento jev byl zaznamenán u mnoha druhů odpadů, jako jsou například čistírenské kaly, BRO, městský tuhý odpad, ovčí, prasečí či chlévský hnůj. S výše uvedeným tvrzením je shodný experiment autorů Cayuela a kol. (2008). Zde byly měřeny dva typy kompostů. První typ kompostu byl složen z odpadu z lisovny olivového oleje (45 %), z ovčí podestýlky (45 %) a z třapin (10 %). Druhý typ kompostu byl složen pouze z odpadu z lisovny olivového oleje (50 %) a z ovčí podestýlky (50 %). Kyselá fosfatáza byla u obou kompostů na počátku velmi vysoká a poté velmi rapidně klesala. Do konce procesu pak zůstala stabilní. Tento proces je v našich případech velmi podobný u vermikompostu z lihovarských výpalků a z matoliny. U ostatních bioodpadů nebyl pokles tak rapidní.

Dále bylo v našich pokusech zjištěno, že nejnižší hodnoty enzymatické aktivity kyselé fosfatázy vykazoval vermikompost z matoliny a z BRKO. S tímto tvrzením García a kol. (2006) souhlasí. V jejich pokusech byla nejnižší hodnota právě v kompostovaném BRKO. Benítez a kol. (2005) souhlasí také. V jejich zkoumaných bioodpadech byla nejnižší enzymatická aktivita naměřena u kompostu z matoliny. Nejnižší hodnotu u městského tuhého odpadu (který lze vlastnostmi přirovnat k odpadu z BRKO) naměřili i Banik a kol. (2007). Významný pokles může být způsoben mikroorganismy a žížalami, tedy hlavními konzumenty v cyklu fosforu (García a kol., 2006). Benítez a kol. (2005) s tímto tvrzením souhlasí a doplňují, že po poklesu byla enzymatická aktivita až do konce procesu stabilní.

Kyselá fosfatáza nejlépe pracuje v kyselém prostředí a je zapojena do mineralizace převážně v kyselých půdách. Fernández-Gómez a kol. (2010) uvádí, že v jejich pokusech došlo ke snížení enzymatické aktivity kyselé fosfatázy, když pH dosáhlo hodnoty přes 9,0. S tímto tvrzením souhlasí García-Sánchez a kol. (2017) i Cayuela a kol. (2008). Speir a Ross (1978) také souhlasí a toto tvrzení doplňují, že optimální pH pro tento enzym je mezi 4 až 6,5. Na základě našich výsledků s tímto tvrzením souhlasíme i nesouhlasíme. pH u vermikompostu z lihovarských výpalků bylo v průměru mezi námi měřenými bioodpady nejnižší (7,7) a průměrná enzymatická aktivita kyselé fosfatázy byla nejvyšší (220,2 nmol/ml/min). Tímto by naše výsledky s tvrzením souhlasily. Avšak vermikompost z kalu ze sladoven měl pH naopak nejvyšší (8,5) a jeho průměrná hodnota enzymatické aktivity kyselé fosfatázy byla (hned po vermikompostu z lihovarských výpalků) druhá nejvyšší, konkrétně tedy 203,4 nmol/min/ml. Což je naopak v rozporu s tvrzením od autorů Speir a Ross (1978). Autoři Alef a Nannipieri (1995) i Fernández-Gomez a kol. (2010) uvádí, že aktivitu fosfatázy inhibuje vysoký obsah anorganických sloučenin fosforu, které jsou uvolňovány při mineralizaci organického fosforu a vznikají důsledkem mikrobiální aktivity.

Jak uvádí Burns (1982), enzymatická aktivita fosfatázy měřená v půdě, která byla doplněna kompostem, přetrvala mnohem déle, než tam, kde byla půda doplněna pouze čerstvým nepředkompostovaným bioodpadem. To zdůrazňuje důležitost kompostování pro ochránění enzymů před degradací. K těmto výsledkům došli i autoři Benítez a kol. (2005), kteří hodnotili odpad z lisovny olivového oleje. V jednom pokusu byl použit vermikompostovaný odpad z lisovny olivového oleje, v druhém se jednalo o nijak neupravený odpad z lisovny olivového oleje. U vermikompostovaného bioodpadu byla naměřena výrazně vyšší enzymatická aktivita kyselé fosfatázy než u neupraveného bioodpadu. K vyšším hodnotám u kompostovaného bioodpadu došli ve svých experimentech i García a kol. (2002).

Autoři Dick a kol. (1988); Martens a kol. (1992) či Perucci (1992) uvádí, že obecně platí, že přídavek organického materiálu zvyšuje enzymatickou aktivitu fosfatázy i mikrobiální aktivitu v půdě. Naopak aktivitu fosfatázy inhibují rizikové prvky (Reddy a kol., 1987).

Bo-Kyoon a kol. (2004) zkoumali enzymatickou aktivitu kyselé fosfatázy u kompostovaného odpadu z BRKO, komerčně prodáváného kompostu a u minerálního hnojiva. Z jejich výsledků je patrné, že enzymatická aktivita kyselé fosfatázy u kompostovaného odpadu z BRKO více než 10× převyšovala hodnoty oproti ostatním hnojivům. Marcote a kol. (2001) však došli k jiným výsledkům. Ve svém pokusu zkoumali hodnoty enzymatické aktivity kyselé fosfatázy u kompostu z kravského hnoje, kompostovaného městského odpadu a u minerálního hnojiva. Měřené hodnoty u jednotlivých hnojiv se naopak nijak výrazně nelišily. Benítez a kol. (2004) zkoumali odpad z výroby olivového oleje. Jeden vzorek prošel vermikompostovacím procesem, druhý ne. Zde byla nalezena vyšší enzymatická aktivita v bioodpadu, který nebyl vermikompostován. Je tedy otázkou, zda je pro všechny odpady vermikompostování (či kompostování) výhodné.

### **Arylsulfatáza:**

Jak uvádí Cayuela a kol. (2008), studie zaměřené na sledování enzymatické aktivity arylsulfatázy jsou velmi vzácné. Porovnávání enzymatické hodnoty arylsulfatázy bylo tedy poněkud obtížnější, než u předchozích dvou enzymů.

V našich pokusech se enzymatická aktivita arylsulfatázy lišila v závislosti na surovinách. Především hodnoty u vermikompostu kalu ze sladoven (6,2 nmol/min/ml) byly výrazně odlišné oproti hodnotám z vermikompostu matoliny (2,7 nmol/min/ml). Nejnížší hodnoty enzymatické aktivity arylsulfatázy tedy vykazoval vermikompost z matoliny.

V pokusech Lagomarsino a kol. (2011) byla porovnávána hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy v půdě, do které byl přidán pro její zlepšení buď kompost (z drůbežního trusu, borové kůry a třísek), nebo dolomitický vápenec, nebo směs těchto dvou přísad. Hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy byla výrazně vyšší v pokusu s kompostem. Výrazně nižší byla naopak ve směsi kompostu a dolomitického vápence. Nejnížší hodnotu vykazovala při použití pouze dolomitického vápence. Z tohoto pokusu je patrné, že hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy vykazuje výrazně vyšší hodnoty v materiálech s vyšším obsahem organických látek. S těmito výsledky souhlasí i nesouhlasí výsledky zjištěné u autorů Bayrakli a Kizilkaya (2005). Ti porovnávali hodnoty enzymatické aktivity arylsulfatázy v půdách, do kterých byl přidáván kompost z čistírenského kalu v různých dávkách. Je známo, že v kompostu z čistírenského kalu je vysoký obsah organických látek. Čím vyšší dávka kompostu byla přidána do půdy, tím byla hodnota enzymatické aktivity vyšší. Pouze však na začátku procesu. Zhruba v polovině procesu začala klesat. A čím byl vyšší vzrůst hodnoty enzymatické aktivity na počátku, tím byl rapidnější a větší pokles na konci procesu. Z tohoto pokusu je tedy patrné, že obsah organického materiálu sice hodnotu enzymatické aktivity arylsulfatázy zvyšuje, avšak je potřeba ho aplikovat s mírou. Tento jev lze přisuzovat zvýšení mikrobiální aktivity, a tím pak většímu a rychlejšímu zpracování mikroorganismy.

Kolektiv autorů (2007) uvádí, že při porovnávání enzymatické aktivity arylsulfatázy u minerálních hnojiv, kompostu z BRO a chlévského hnoje byla nejvyšší hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy stanovena u kompostu z BRO. S tímto tvrzením souhlasí i Mondini a kol. (2004). Ti našli nejvyšší hodnoty arylsulfatázy také v kompostu z BRO. V jejich pokusech byl

dále ještě zkoumán kompostovaný odpad z výroby bavlny a směs kompostu z BRO a odpadu z výroby bavlny. V našich měřeních byla naměřena nejvyšší hodnota enzymatické aktivity arylsulfatázy u vermikompostu z kalu ze sladoven. Přesněji se jednalo o směs několika bioodpadů (kal ze sladoven, štěpka, sláma, jablka, tráva, makovina). Kal ze sladoven zde tvořil pouze cca 20 %. Může to být právě jeden z důvodů, proč byly hodnoty pro tento bioodpad v našich měřeních nejvyšší a v měřeních ostatních autorů to byl kompost z BRO. Oba tyto bioodpady mají totiž velmi podobné složení z hlediska druhů odpadů. U autorů Cayuela a kol. (2008) byly měřeny dva typy kompostů. První typ kompostu byl složen z odpadu z lisovny olivového oleje (45 %), z ovčí podestýlky (45 %) a z třápin (10 %). Druhý typ kompostu byl složen pouze z odpadu z lisovny olivového oleje (50 %) a z ovčí podestýlky (50 %). První typ kompostu vykazoval výrazně vyšší hodnoty enzymatické aktivity než druhý typ kompostu. Důvod může být stejný, jako v předešlých případech.

Lze předpokládat, že dlouhodobá aplikace chlévského hnoje a kompostu zlepšuje některé vlastnosti půdy, jako například zvýšení organické hmoty a celkového obsahu síry v půdě, ale také aktivity arylsulfatázy. Výzkumy ukázaly, že organická hnojiva jako kompost a chlévský hnůj, jsou „léčebný prostředek“, který zlepšuje dostupnost půdní organické síry (Saranthchandra a Perrott, 1981). S tímto zjištěním souhlasí i autoři Balík a Kužel (2007), kteří našli vyšší hodnoty enzymatické aktivity arylsulfatázy v půdách, které byly hnojeny čistírenskými kaly nebo chlévským hnojem (oproti nehnojeným variantám).

Prietzl (2001) uvádí, že aktivita arylsulfatázy je vyšší ve vrstvách, kde je vyšší obsah humusu. V našich experimentech jsme nejvyšší enzymatickou aktivitu arylsulfatázy v čerstvém vermikompostu z nejsvrchnějších vrstev naměřili pouze u kalu ze sladoven a u matoliny. To však nemusí být v rozporu s tvrzením výše uvedeného autora, jelikož v našich měřeních nebyl stanovován obsah humusu. Dá se předpokládat, že vyšší obsah humusových látek bude růst směrem dolů ke starším (spodnějším) vrstvám (humifikace) a zároveň bude směrem dolů ubývat celkové množství uhlíku (mineralizace). Tomuto předpokladu by pak odpovídala hodnota enzymatické aktivity naměřená ve vermikompostu z BRKO, kde byl její obsah nejvyšší právě v nejspodnější vrstvě.

### **Lipáza:**

V našich pokusech se hodnoty enzymatické aktivity lipázy výrazně neodlišovaly v závislosti na surovinách. To je však nejspíše způsobeno velmi podobným materiálem, co se týče obsahu mastných kyselin v bioodpadech. Jak uvádí Piotrowska-Cyplik a kol. (2013), lipázy jsou enzymy, které vyžadují nerozpustný substrát na fázovém rozhraní tuku a vody. V jejich pokusech byly zkoumány hodnoty enzymatické aktivity lipázy ve dvou kompostovacích procesech. První byl složen z 19 % z odpadní bělicí hlinky po rafinaci olejů (oiled bleaching earth), (tento odpad je tvořen z 55 % mastnými kyselinami), ze 77 % odvodněným čistírenským kalem a 4 % kukuřičnou slámou. Druhý byl složen pouze z 96 % odvodněným čistírenským kalem a 4 % kukuřičnou slámou. Hodnota lipázy byla extrémně vyšší u prvního typu kompostu oproti druhému právě z důvodu vysokého obsahu mastných kyselin. Druhý typ kompostu vykazoval naopak velmi nízké hodnoty enzymatické aktivity lipázy.

Nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity lipázy byly v našich pokusech naměřeny u vermikompostu z BRKO (1570 nmol/min/ml). To lze opět přisuzovat vyššímu obsahu mastných kyselin. Ze všech námi zkoumaných bioodpadů by právě BRKO mohlo mít tento

obsah nejvyšší. Shemekite a kol. (2014) měřili hodnoty enzymatické aktivity lipázy ve třech různých kompostech. První byl tvořen ze slupek a dužin z kávy a chlévského hnoje. Druhý ze směsi ovocného a zeleninového odpadu a třetí pouze ze slupek a dužin z kávy. Nejvyšší hodnota byla naměřena u kompostu ze směsi ovocného a zeleninového odpadu, která se ještě navíc v průběhu procesu zvyšovala. Podobný průběh byl v našem případě u vermikompostu z matoliny. Naopak kompost ze slupek a dužin z kávy a chlévského hnoje byl nejvyšší na počátku procesu, ale ke konci procesu se snižoval. Podobný proces jako u druhého typu kompostu zaznamenali autoři Cunha-Quade a kol. (2007), kteří zkoumali BRO i autoři Chikae a kol. (2006), kteří zkoumali potravinový odpad.

Echeverria a kol. (2012) měřili hodnoty enzymatické aktivity lipázy v kompostu z olivových slupek. Nejvyšší hodnoty naměřili na počátku procesu, kdy byl obsah tuku vyšší. Poté se začal v důsledku rozkladu organické hmoty snižovat, a tím měla i aktivita enzymu tendenci klesat. Stejný průběh byl naměřen i v našem případě u vermikompostu z lihovarských výpalků. K podobným výsledkům došli i autoři Tiquia a kol. (2001), kteří měřili hodnoty enzymatické aktivity lipázy v kompostu ze směsi drůbežního hnoje a odřezků ze zahrady. V jejich případě byl však průběh na počátku pozvolna vzrůstající, až do poloviny procesu a až ke konci začaly hodnoty klesat.

Sánchez a kol. (2007) zkoumali hodnoty enzymatické aktivity lipázy ve směsi čistírenského kalu s tukem zvířat z jatek. Z jejich výsledků vyplynulo, že enzymatická aktivita lipázy je úzce spjata i s teplotou. Nejvyšší hodnoty vykazovala při mezofilních a termofilních teplotách. S tímto souhlasí Piotrowska-Cyplik a kol. (2013) i Mtimkulu a kol. (2017). Ti naměřili nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity v kompostech z révy vinné na jaře a v létě. Naopak v zimě nebyla enzymatická aktivita lipázy naměřena žádná. V našich pokusech však teplota měřena nebyla, proto s tímto tvrzením nemůžeme ani souhlasit ani nesouhlasit.

Autoři Sánchez a kol. (2007) dále uvádí, že nejvyšší hodnotu enzymatické aktivity lipázy naměřili při pH 7,97. Naše výsledky jsou však s tímto tvrzením spíše v rozporu. Nejvyšší enzymatická aktivita lipázy byla naměřena u vermikompostu z kalu ze sladoven a u BRKO. pH u vermikompostu z kalu ze sladoven bylo v průměru 8,5, u BRKO 8,1. K hodnotě pH 7,97 se v našich měřeních nejvíce blížila hodnota v I. vrstvě u lihovarských výpalků (7,92), kde však byla průměrná hodnota enzymatické aktivity lipázy naměřena dokonce nejnižší ze všech hodnot (832,2 nmol/min/ml).

Závěrem diskuze uvádí Trasar-Cepeda a kol. (2000); Prietzel (2001); Andersson a kol. (2004); Wittmann a kol. (2004); Baldrian a kol. (2008) i Šnajdr a kol. (2008), že enzymatická aktivita často klesá se zvyšující se hloubkou kompostu. S těmito tvrzeními lze v některých našich případech souhlasit, v některých jsme však naměřili skoro přesný opak. García a kol. (2006) dále uvádějí, že nejvyšší enzymatická aktivita byla naměřena vždy v 0 – 10 cm nebo v 10 – 20 cm (tedy v nejmladších vrstvách). S tímto tvrzením lze (stejně jako u předešlého tvrzení) v našich případech souhlasit i nesouhlasit. Nicméně není snadné stanovit obecné prahové hodnoty pro využití enzymatické aktivity jako index stability, vzhledem k obrovskému množství organických látek, které se podílejí na procesu (García-Sánchez a kol., 2017).

Perucci (1992) dodává, že je zřejmé, že druh kompostu, typ půdy a environmentální vlivy mohou vytvářet různé podmínky, při kterých mohou některé pokusy selhat, zatímco jiným budou tyto podmínky vyhovovat. Dále také uvádí, že poklesy enzymatické aktivity mohou být způsobeny snížením počtu mikroorganismů, nebo vyčerpáním snadno biologicky

rozložitelných organických látek, popřípadě nežádoucí kontaminací toxickými látkami, které jsou do půdy zavedeny spolu s kompostem. Fernández-Gómez a kol. (2010) na konec dodávají, že enzymatická aktivita je užitečným ukazatelem procesu vermikompostování a měla by být použita v pokusech pro lepší optimalizaci rychlosti přeměny bioodpadů. Zároveň lze díky jejím hodnotám prodloužit vytrvalost žížal, a tím zkrátit proces vermikompostování.

## 7. Závěr

Cílem mé diplomové práce bylo porovnat a vyhodnotit změny enzymatické aktivity u čtyř různých enzymů během vermikompostování čtyř různých bioodpadů. A dále potvrdit či zamítnout uvedené hypotézy.

- Hypotéza č. 1: „**Hodnoty aktivit jednotlivých enzymů se odlišují v závislosti na surovinách**“.

Na základě zjištěných hodnot enzymatické aktivity lze tuto hypotézu potvrdit u  $\beta$ -D-glukosidázy a arylsulfatázy. Zde byly hodnoty aktivit jednotlivých enzymů u použitých surovin poměrně výrazné. Avšak u enzymatické aktivity kyselé fosfatázy a lipázy je tato hypotéza zamítnuta. Zde byly rozdíly mezi enzymatickými aktivitami jednotlivých enzymů u použitých surovin velmi nepatrné nebo žádné.

- Hypotéza č. 2: „**Nejvyšší hodnoty enzymatické aktivity se vyskytují v čerstvém vermikompostu**“.

Stejně jako u první hypotézy, ani tuto nelze jednoznačně potvrdit nebo zamítnout. U enzymatické aktivity kyselé fosfatázy lze hypotézu potvrdit, jelikož byla naměřena u tří bioodpadů ze čtyř (u lihovarských výpalků, u kalu ze sladoven a u matoliny). U  $\beta$ -D-glukosidázy lze hypotézu zamítnout, jelikož tomu tak bylo pouze v jednom ze čtyř případů (u lihovarských výpalků). U enzymatické aktivity lipázy a arylsulfatázy nelze hypotézu ani potvrdit ani zamítnout, jelikož tomu tak bylo v polovině případů. U arylsulfatázy tomu tak bylo u kalu ze sladoven a u matoliny. U lipázy tomu tak bylo u lihovarských výpalků a u kalu ze sladoven.

Enzymatická aktivita je ovlivněna mnoha faktory. Mezi ty nejzásadnější patří typ bioodpadu, množství organických látek, počet mikroorganismů, pH, teplota, hloubka ve vermikompostu (či v půdě), apod.

Právě z důvodu velkého množství ovlivňujících faktorů nelze uvést konkrétní hodnoty pro dosažení nejvyšší a nejúčinnější enzymatické aktivity pro zpracovávání bioodpadů. Pokud u jednoho typu bioodpadu bylo docíleno vysokých hodnot enzymatické aktivity, neznamená to, že u druhého typu tomu bude také tak.

Lze však říci, že všechny námi použité bioodpady vytvářely pozitivní podmínky pro žízály a mikroorganismy a i výsledky poukazují na to, že vermikompostování lze považovat za ekologickou techniku zpracování velkého množství bioodpadu.

## 8. Seznam zkratek

EC	enzyme commission (komise pro enzymy)
BRO	biologicky rozložitelný odpad
BRKO	biologicky rozložitelný komunální odpad
DMSO	dimethylsulfoxid
MUF	4-methylumbellyferyl
MUFG	4-methylumbellyferyl- $\beta$ -D-glucopyranoside
MUFP	4-methylumbellyferyl-phosphate
MUFS	4-methylumbellyferyl sůl síranu draselného
MUFY	4-methylumbellyferyl-caprylate



## 9. Seznam literatury

- Aira, M., Domínguez, J., Monroy, F., 2007, Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry, *Science of the Total Environment*, 385, 252-261, ISSN 0048-9697
- Albrecht, R., Calvert, V., Le Petit, J., Périssol, C., Terron, G., 2010, Changes in the level of alkaline and acid phosphatase activities during green wastes and sewage sludge co-composting, *Bioresource Technology*, 101, 228-233, ISSN 0960-8524
- Alef, K., Nannipieri, P., 1995, Enzyme activities, *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, 576 s, Academic Press, London, ISBN 0-12-513840-7
- Anonym, 2017, EMBL-EBI (European Molecular Biology, Laboratory), UK, [citováno dne: 22. 3. 2017], Dostupné z: <<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/enzymes/>>
- Artimo, P., Jonnalagedda, M., Arnold, K., Baratin, D., Csardi, G., Castro, E., Duvaud, S., Flegel, V., Fortier, A., Gasteiger, E., Grosdidier, A., Hernandez, C., Ioannidis, V., Kuznetsov, D., Liechti, R., Moretti, S., Mostaguir, K., Redaschi, N., Rossier, G., Xenarios, I., Stockinger, H., 2012, ExPASy: SIB bioinformatics resource portal, *Nucleic Acids Res*, 40 (1), 597-603, Dostupné z: <<http://enzyme.expasy.org/>>
- Ayuso, M., García, C., Hernández, T., Pascual, J. A., 1996, Biochemical and chemical structural characterization of different organic materials used as manures, *Bioresource Technology*, 57, 201-207, ISSN 0960-8524
- Baldrian, P., 2009, Microbial enzyme-catalyzed processes in soils and their analysis, *Plant Soil and Environment*, 55 (9), 370-378, ISSN 1214-1178
- Baldrian, P., Cajthaml, T., Frouz, J., Herinková, J., Merhautová, V., Trögl, J., Valášková, V., 2008, Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining, *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 2107-2115, ISSN 0038-0717
- Balík, J., Bazalová, M., Černý, J., Kotková, B., Kulhánek, M., 2008, Vliv aplikace organických hnojiv na aktivitu arylsulfatasy v rhizosféře pšenice a řepky, *Racionální použití hnojiv zaměřené na problematiku výživy a hnojení fosforem – sborník z konference*, 106-109, Česká zemědělská univerzita, Praha, ISBN 978-80-213-1856-4
- Balík, J., Kužel, S., 2007, Rhizosféra jako indikátor změn přístupných živin v půdách s dlouhodobě rozdílnými systémy hnojení, 30 s, Česká zemědělská univerzita, Praha
- Banik, P., Ghosal, P. K., Ghosh, G. K., Pramari, P., 2007, Changes in organic – C, N, P and K enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants, *Bioresource Technology*, 98, 2485-2494, ISSN 0960-8524
- Bayrakli, B., Kizilkaya, R., 2005, Effect of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities, *Applied Soil Ecology*, 30, 192-202, ISSN 0929-1393

- Benítez, E., Ceccanti, B., Elvira, C., Marciandaro, G., Nogales, R., 1999, Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludge composting with *Eisenia foetida*, *Bioresource Technology*, 67, 297-303, ISSN 0960-8524
- Benítez, E., Cifuentes, C., Nogales, R., 2005, Vermicomposting of Winery Wastes: A Laboratory Study, *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 40, 659-673, ISSN 1532-4109
- Benítez, E., Melgar, R., Rogelio, N., 2004, Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities, *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 1615-1623, ISSN 0038-0717
- Benítez, E., Nogales, R., Sainz, H., 2005, Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste, *Bioresource Technology*, 96, 785-790, ISSN 0960-8524
- Blahušová, A., 2016, Výživa a hnojení, *Zahradkář*, 48 (6), 48-49, Český zahradkářský svaz, Praha, ISSN 0139-7761
- Bhattacharyya, J. K., Devota, S., Chakrabarti, T., Prince William, S. P. M., Raut, M. P., 2008, Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste – A compost maturity analysis perspective, *Bioresource Technology*, 99, 6512-6519, ISSN 0960-8524
- Bo-Kyoon, S., Dong-Hyun, Ch., Jae-Han, S., Jae-Jung, L., Kil-Yong, K., Ro-Dong, P., Tae-Hwan, K., Yo-Sup, R., Yong-Woong, K., 2004, Effect of food waste compost on microbial population soil enzyme activity and lettuce growth, *Bioresource Technology*, 93, 21-28, ISSN 0960-8524
- Bočková, J., Kleňha, J., 1972, *Celulázy – jejich biochemie a technologie*, Výzkumný ústav potravinářského průmyslu – středisko technických informací, Praha
- Borkovcová, M., Žáková, M., 2015, *Biologie pro odpadové hospodářství*, 96 s, Mendelova univerzita v Brně, Brno, ISBN 978-7509-240-3
- Burns, R. G., 1982, Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology, *Soil Biology & Biochemistry*, 14, 423-427, ISSN 0038-0717
- Burns, R. G., 1986, Interaction of Enzymes with Soil Mineral and Organic Colloids, in Huang, P. M., Schnitzer, M., *Interaction of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes (17)*, 429-451, Soil Science Society of America Inc., Madison, ISBN 0-89118-778-2
- Brady, N. C., Weil, R. R., 2003, *The Nature and Properties of Soils*, 13. vydání, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 960 s, ISBN 0-13-016763-0
- Castaldi, P., Garau, G., Melis, P., 2008, Maturity assessment of compost from municipal solid waste through the study of enzyme activities and water-soluble fractions, *Waste Management*, 28, 534-540, ISSN 0956-053X

- Cayuela, M. L., Mondini, C., Roig, A., Sánchez-Monedero, M. A., 2008, Chemical properties and hydrolytic enzyme activities for the characterisation of two-phase olive mill wastes composting, *Bioresource Technology*, 99, 4255-4262, ISSN 0960-8524
- Cunha-Queda, A. C., Ribeiro, H. M., Ramos, A., Cabral, F., 2007, Study of biochemical and microbiological parameters during composting of pine and eucalyptus bark, *Bioresource Technology*, 98 (17), 3213-3220, ISSN 0960-8524
- ČSN 46 5735, Průmyslové komposty, 1996, Český normalizační institut, Praha, 18 s
- Dick, R. P., Kerle, E. A., Rasmussen, P. E., 1988, Influence of long-term residue management on soil enzyme activity in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system, *Biology and Fertility of Soils*, 6, 159-164, ISSN 0178-2762
- Dohnal, R., 2012, Žížaly zbavují kompost těžkých kovů, *Odpady*, 22 (10), 26, *Economia*, Praha, ISSN 1210-4922
- Domínguez, J., 2004, State of the art and new perspectives in vermicomposting research, in Edwards, C. A., (Ed.), *Earthworm Ecology*, 2. vydání, CRC Press, Boca Raton, 40-424, ISBN 9780849318191
- Echeverria, M. C., Agnolucci, M., Bedini, S., Cardelli, R., Castagna, A., Colombini, A., Cristani, C., Incrocci, L., Nuti, M., Ranieri, A., Saviozzi, A., 2012, Microbially-enhanced composting of wet olive husks, *Bioresource Technology*, 104, 509-517, ISSN 0960-8524
- Eivazi, F., Tabatabai, M. A., 1977, Phosphatases in soils, *Soil Biology & Biochemistry*, 9 (3), 167-172, ISSN 0038-0717
- Eivazi, F., Zakaria, A., 1992,  $\beta$ -Glucosidase activity in soils amended with sewage sludge, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 43, 155-161, ISSN 0167-8809
- Enowashu, E., Kandeler, E., Lamersdorf, N., Poll, Ch., 2009, Microbial biomass and enzyme activities under reduced nitrogen deposition in a spruce forest soil, *Applied Soil Ecology* 43 (1), 11-21, ISSN 0929-1393
- Farkaš, J., 1980, *Technologie a biochemie vína*, 2. přepracované a opravené vydání, 870 s, SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha
- Filip, J., Oral, J., 2002, *Odpadové hospodářství II.*, 75 s, MZLU, Brno, ISBN 80-7157-682-4
- Fernández-Gómez, M. J., Goberna, M., Insam, H., Nogales, R., Romero, E., 2010, Continuous-feeding vermicomposting as a recycling management method to revalue tomato-fruit wastes from greenhouse crops, *Waste Management*, 30, 2461-2468, ISSN 0956-053X
- Fernández-Gómez, M. J., Goberna, M., Insam, H., Nogales, R., Romero, E., 2011, Role of vermicompost chemical composition, microbial functional diversity, and fungal community structure in their microbial respiratory response to three pesticides, *Bioresource Technology*, 102, 9638-9645, ISSN 0960-8524

- Frankenberger, Jr., W. T., Johanson, J. B., Nelson, C. O., 1983, Urease activity in sewage sludge amended soils, *Soil Science Society of America Journal*, 15 (5), 543-549, ISSN 1435-0661
- García, C., Ceccanti, B., Ciardi, C., Costa, C., Hernández, T., Masciandaro, G., 1993, A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes, *Bioresource Technology*, 44, 17-23, ISSN 0960-8524
- García, C., Hernández, T., Insam, H., Pascual, J. A., Ros, M., 2006, Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts, *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 3443-3452, ISSN 0038-0717
- García, C., Hernández, T., Moreno L. J., Pascual, J. A., 2002, Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic waste, *Bioresource Technology*, 82, 73-78, ISSN 0960-8524
- García-Sánchez, M., Hanč, A., Taušnerová, H., Tlustoš, P., 2017, Stabilization of different starting materials through vermicomposting in a continous-feeding system: Changes in chemical and biological parameters, *Waste Management*, 1-10, ISSN 0956-053X
- Hanč, A., 2017, Vermikompostovat lze na zahradě i doma, *Zahradkář* 49 (2), 52-53, Český zahradkářský svaz, Praha, ISSN 0139-7761
- Hanč, A., Plíva, P., Balík, J., Balíková, M., Bazalová, M., Bedřich, V., Mašátová, R., Najmanová, J., Roy, A., Souček, J., Száková, J., Švehla, P., Vašák, F., 2013, Optimalizace technologie faremního vermicompostování: redakčně upravená závěrečná zpráva projektu NAZV QI91C199, 47 s, Česká zemědělská univerzita, Praha
- Hanč, A., Bouček, J., Dreslová, M., Švehla, P., Tlustoš, P., 2016, Properties od vermicompost aqueous extracts prepared under different conditions, *Environmental Technology*, 37, 1-7, ISSN 0959-3330
- Hanč, A., Plíva, P., 2013, Vermikompostování bioodpadů (certifikovaná metodika), 35 s, Česká zemědělská univerzita, Praha, ISBN 978-80-213-2422-0
- Hejátková, K., Moňok, B., Řezníček, V., Valentová, L., 2008, Komunitní kompostování, 32 s, Zemědělská a ekologická regionální agentura, Náměšť nad Oslavou, ISBN 80-903548-7-4
- Hohenberger, E., 1999, Půda – kompost – hnojení: klíčem k prospívající zahradě je správná péče o půdu, 80 s, Knižní klub a Balios, Praha, ISBN 80-242-0032-5
- Horák, J., Kotyk, A., 1977, Enzymová kinetika, 272 s, Academia, Praha
- Horáková, D., Němec, M., 2003, Laboratorní cvičení z fyziologie bakterií, Masarykova univerzita, Brno, 65 s, [citováno dne: 9. 3. 2017], Dostupné z: <[http://is.muni.cz/do/1499/el/stud/prif/ps06/3074288/Labor.cv.z\\_fyziol.bakterii\\_upravene.pdf](http://is.muni.cz/do/1499/el/stud/prif/ps06/3074288/Labor.cv.z_fyziol.bakterii_upravene.pdf)>
- Chikae, M., Ikeda, R., Kerman, K., Morita, Y., Tamiya, E., 2006, Estimation of maturity of compost from food wastes and agro-residues by multiple regression analysis, *Bioresource Technology*, 97, 1979-1985, ISSN 0960-8524

- Kalina, M., 2004, Kompostování a péče o půdu, 2. vydání, 116 s, Grada Publishing, a.s., Praha, ISBN 80-247-0907-4
- Kalina, M., 2014, Kompostéry a boxy, Zahrádkář, 47 (6), 50-51, Český zahrádkářský svaz, Praha, ISSN 0139-7761
- Kang, H., Freeman, Ch., 1999, Phosphatase and arylsulfatase activities in wetland soils: annual variation and controlling factors, Soil Biology & Biochemistry, 31 (3), 449-454, ISSN 0038-0717
- Karlson, P., 1965, Základy biochemie, 444 s, Academia, Praha
- Káš, J., 1989, Základy enzymologie, in Kotál, V., a kol., Enzymy v zemědělství, Praha, 99 s, 9-26, Státní zemědělské nakladatelství, ISBN 80-209-0022-5
- Klaus-Heinrich, R., Koolman, J., 2012, Barevný atlas biochemie, překlad 4. vydání, 1. české vydání, 512 s, Grada Publishing, Praha, ISBN 978-80-247-2977-0
- Krása, O., 2014, Na bioodpad se žížalami, Odpady 24 (6), 18, Economia, Praha, ISSN 1210-4922
- Kolektiv autorů, 2007, Sborník z mezinárodní konference „Výživa rostlin a její perspektivy“, 438 s, MZLU, Brno, ISBN 978-807375-068-8
- Košťíř, J., 1980, Biochemie známá i neznámá, 384 s, Avicenum – zdravotnické nakladatelství, Praha
- Lagomarsino, A., Grego, S., Marabottini, R., Mench, M., Pignataro, A., Renella, G., Stazi, S. R., 2011, Copper distribution and hydrolase activities in a contaminated soil amended with dolomitic limestone and compost, Ecotoxicology and Environmental Safety, 74, 2013-2019, ISSN 0147-6513
- Ladd, J. N., 1985, Soil Enzymes, in Vaughan, D., Malcom, E., (Eds.), Soil Organic Matter and Biological Activity, Martinus Nijhoff-Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, 175-221, ISBN 978-94-009-5105-1
- Linek, J., 2002, Využití lipas k biokatalýze organických reakcí, Bioprospect 12 (1-2), 8-12, Biotechnologická společnost, Praha, ISSN 1210-1737
- López, M. J., Moreno, J., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M. C., 2010, Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials, Waste Management, 30, 771-778, ISSN 0956-053X
- Marcinčák, P., 2015, Matoliny a žížaly, ideální kombinace, Vinařský obzor, 108 (7/8), 377, Svaz vinařů České republiky, Velké Bílovice, ISSN 1212-7884
- Marcote, I., García, C., Hernández, T., Polo, A., 2001, Influence of one or two successive annual applications of organic fertilisers on the enzyme activity of a soil under barley cultivation, Bioresource Technology, 79, 147-154, ISSN 0960-8524

- Martens, D. A., Frankerberger Jr., W. T., Johanson, J. B., 1992, Production and persistence of soil enzymes with repeated additions of organic residues, *Soil Science Society of America Journal*, 153, 53-61, ISSN 1435-0661
- Maříková, H., 2011, Rekombinantní enzymy používané při zpracování potravin rostlinného původu, *Bioprospect*, 21 (2), 38-40, Biotechnologická společnost, Praha, ISSN 1210-1737
- Masciandaro, G., Calvo-Bado L. A., Ceccanti, B., Doni, S., Macci, C., Maserti, B. E., Wellington, E., 2008, Comparison of extraction methods for recovery of extracellular  $\beta$ -glucosidase in two different forest soils, *Soil Biology & Biochemistry* 40 (9), 2156-2161, ISSN 0038-0717
- Matouš, B., 2010, *Základy lékařské chemie a biochemie*, 540 s, Galén, Praha, ISBN 978-80-7262-702-8
- Ministerstvo životního prostředí, 23. 3. 2016, Vyhláška č. 93/2016 Sb. o Katalogu odpadů, [citováno dne: 6. 2. 2017], Dostupné z: <[http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/0BFE53E10EC910E2C12580A7004BBDA1/%24file/V%2093\\_2016.pdf](http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/0BFE53E10EC910E2C12580A7004BBDA1/%24file/V%2093_2016.pdf)>
- Ministerstvo životního prostředí, 15. 5. 2001, Zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech, [citováno dne: 6. 2. 2017], Dostupné z: <[http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/8FC3E5C15334AB9DC125727B00339581/%24file/Z%20185\\_2001.pdf](http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/8FC3E5C15334AB9DC125727B00339581/%24file/Z%20185_2001.pdf)>
- Molík, P., 1989, *Trendy rozvoje enzymových technologií*, 98 s, ÚVTEI, Praha, ISBN 80-212-0020-0
- Mondini, C., Fornasier, F., Sinicco, T., 2004, Enzymatic activity as a parameter for the characterization of the composting process, *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 1587-1594, ISSN 0038-0717
- Mtimkulu, Y., Meyer, A. H., Mulidzi, A. R., Nchu, F., Shange, P. L., 2017, Assessing and monitoring the effects of filter material amendments on the biophysicochemical properties during composting of solid winery waste under open field and varying climatic conditions, *Waste Management*, 59, 59-69, ISSN 0956-053X
- Musil, J., Nováková, O., Kunz, K., 1976, *Biochemie v obrazech a schématech*, 366 s, Avicenum – zdravotnické nakladatelství, Praha
- Nannipieri, P., Fusi, P., Sequi, P., 1996, Humus and Enzyme Activity, in Piccolo, A., (Ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*, Elsevier Science, Amsterdam, 293-328, ISBN 978-0-444-81516-3
- Olander, L. P., Vitousek, P. M., 2000, Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability, *Biogeochemistry* 49 (2), 175-191, ISSN 0168-2563
- Paradelo, R., Moldes A. B., Barral, M. T., 2011, Carbon and nitrogen mineralization in a vineyard soil amended with grape marc vermicompost, *Waste Management & Research*, 29 (11), 1177-1184, ISSN 0734-242X

- Parthasarathi, K., Ranganathan, L. S., 2000, Aging effect on enzyme activities in pressmud vermicasts of *Lampito mauritii* (Kingberg) and *Eudrilus eugeniae* (Kingberg), *Biology and Fertility of Soils*, 30, 347-350, ISSN 0178-2762
- Perez-Mateos, M., Rad, J. C., 1989, Immobilization of alkaline phosphatase by soil structural units, *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 11, 371-378, ISSN 1470-8744
- Perucci, P., 1992, Enzyme activity and microbial biomass in field soil amended with municipal refuse, *Biology and Fertility of Soils*, 14 (1), 54-60, ISSN 0178-2762
- Piotrowska-Cyplik, A., Cyplik, P., Czarny, J., Dach, J., Chrzanowski, Ł., Lewicki, A., Marecik, R., Olejnik, A., Powierska-Czarny, J., Staninska, J., 2013, Composting of oiled bleaching earth: Fatty acids degradation, phytotoxicity and mutagenicity changes, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 78, 49-57, ISSN 0964-8305
- Pižl, V., 2014, Živočichové na zahradě: žížaly, *Zahradkář*, 46 (2), 48-49, Český zahrádkářský svaz, Praha, ISSN 0139-7761
- Plíva, P., Altmann, V., Hanč, A., Hejátková, K., Roy, A., Souček, J., Valentová, L., 2016, Kompostování a kompostárny, 149 s, Profi Press s.r.o., Praha, ISBN 978-80-86726-74-8
- Pommeresche, R., Hansen, S., Løes, A., 2010, Žížaly a jejich význam pro zlepšení kvality půdy, 23 s, Bioinstitut, Olomouc, ISBN 978-80-87371-02-2
- Prietzel, J., 2001, Arylsulfatase activities in soils of the Black Forest/Germany – seasonal variation and effect of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fertilization, *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 1317-1328, ISSN 0038-0717
- Reddy, G. B., Bennet, Jr., R., Faza, A., 1987, Activity of enzymes in rhizosphere and nonrhizosphere soils amended with sludge, *Soil Biology & Biochemistry*, 19, 203-205, ISSN 0038-0717
- Ros, M., García, C., Hernández, T., 2006, A full-scale study of treatment of pig slurry by composting: kinetic changes in chemical and microbial properties, *Waste Management*, 26, 1108-1118, ISSN 0734-242X
- Saranthchandra, S. U., Perrott, K. W., 1981, Determination of phosphatase and arylsulfatase activities in soils, *Soil Biology & Biochemistry*, 13 (6), 543-545, ISSN 0038-0717
- Sánchez, A., Alvaro, G., Artola, A., Ferrer, P., Gea, T., Valero, F., 2007, Co-composting of sewage sludge:fats mixtures and characteristics of the lipases involved, *Biochemical Engineering Journal*, 33, 275-283, ISSN 1369-703X
- Sinsabaugh, R., 1994, Enzymic analysis of microbial pattern and process, *Biology and Fertility of Soils*, 17 (1), 69-74, ISSN 0178-2762
- Sedlo, J., 2015, Využití specifických „odpadů“ ve vinohradnictví a vinařství, *Vinařský obzor*, 108 (7/8), 375-376, Svaz vinařů České republiky, Velké Bílovice, ISSN 1212-7884

- Shemekite, F., Assefa, F., Franke-Whittle, I. H., Gómez-Brandón, M., Insam, H., Praehauser, B., 2014, Coffee husk composting: An investigation of the process using molecular and non-molecular tools, *Waste Management*, 34, 642-652, ISSN 0956-053X
- Slávik, I., 1953, *Celulóza a jej chemické spracovanie*, Slovenská akadémia vied, Bratislava, 224 s
- Slejška, A., 1999, *Vermikompostování*, Regena, 9 (5), 19, ISSN 1212-2289.
- Speir, T. W., Ross, D. J., 1978, Soil phosphatase and sulphatase, in Burns, R. G., *Soil Enzymes*, Academic Press, London, 197-250, ISBN 0121458504
- Sulzberger, R., 1996, *Kompost – půda – hnojení – praktický rádce*, 99 s, PRÍRODA a.s., Bratislava, ISBN 80-07-00837-3
- Suthar, S., Singh, S., 2008, Vermicomposting of domestic waste by using two epigeic earthworms (*Perionyx excavatus* and *Perionyx sansibaricus*), *International Journal of Environmental Science & Technology*, 5 (1), 99-106, ISSN 1735-1472
- Šarapatka, B., 2003, Phosphatase activities (ACP, ALP) in agroecosystem soils, 103 s, Uppsala, Swedish university of agricultural sciences, ISBN 91-576-6403-X
- Šarapatka, B., Čáp, L., 2013, Uplatněná certifikovaná metodika – Enzymy, jejich význam, funkce a metody stanovení aktivity v půdě, 33 s, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Olomouc, ISBN 978-80-224-3361-5
- Šarapatka, B., Habigerová, A., Hekera, P., Šlezarová, S., 1995, *Studium vybraných půdních enzymů*, 55 s, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Olomouc
- Šarapatka, B., Urban, J., 2003, *Ekologické zemědělství 1. díl – základy ekologického zemědělství agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin: učebnice pro školy i praxi*, Ministerstvo životního prostředí ČR, Praha, 280 s, ISBN 80-7212-274-6
- Šnajdr, J., Baldrian, P., Cajthaml, T., Herinková, J., Merhautová, V., Valášková, V., 2008, Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil, *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 2068-2075, ISSN 0038-0717
- Šnajdr, J., Baldrian, P., Cajthaml, T., Leppänen, K., Merhautová, V., Petránková, M., Spetz, P., Valášková, V., 2011, Transformation of *Quercus petraea* litter: successive changes in litter chemistry are Reflected in differential enzyme activity and changes the microbial community composition, *FEMS Microbiology Ecology* 75 (2), 291-303, ISSN 1574-6941
- Tabatabai, M. A., Bremner, J. M., 1970, Factors Affecting Soil Arylsulfatase Activity, *Soil Science Society of America Journal*, 34 (3), 427-429, ISSN 1435-0661
- Tabatabai, M. A., Bremner, J. M., 1971, Michaelis constants of soil enzymes, *Soil Biology & Biochemistry*, 3 (4), 317-323, ISSN 0038-0717



- Tiquia, S. M., Wam, J. H. C., Tam, N. F. Y., 2001, Extracellular enzyme profiles during co-composting of poultry manure and yard trimmings, *Process Biochemistry*, 36, 813-820, ISSN 0032-9592
- Tiquia, S. M., Wam, J. H. C., Tam, N. F. Y., 2002, Microbial population dynamics and enzyme activities during composting, *Compost Science and Utilization*, 10, 150-161, ISSN 0160-7413
- Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F., Leiros, M. C., 2000, Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): specific parameters, *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 1519-1532, ISSN 0038-0717
- Váňa, J., 1997, *Výroba a využití kompostů v zemědělství*, 2. vydání, 38 s, Institut výchovy a vzdělávání MZe ČR, Praha, ISBN 80-7105-144-6
- Váňa, J., 2015, Kompostování jako optimální prostředek při nakládání s bioodpady, *Odpadové fórum* 16 (11), 17-19, CEMC – České ekologické manažerské centrum, Praha, ISSN 1212-7779
- Vodrášková, Š., 2004, Vermikomposty potlačují choroby a škůdce rostlin, *Biocycle*, 45 (3), 51-54, ÚZEI, [citováno dne: 31. 3. 2017], Dostupné z: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=28617&ids=93>>
- Vodrážka, Z., 1996, *Biochemie*, 2. opravené vydání, 511 s, Academia, Praha, ISBN 80-200-0600-1
- Vodrážka, Z., 1992, *Biochemie I: Živé systémy - jejich složení a organizace*, 180 s, Praha, Academia, ISBN 80-200-0439-4
- Vuorinen, A. H., 2000, Effect of the bulking agent on acid and alkaline phosphomonoesterase and  $\beta$ -glucosidase activities during manure composting, *Bioresource Technology*, 75, 133-138, ISSN 0960-8524
- Wittmann, C., Kahkonen, M. A., Ilvesniemi, H., Kurolo, J., Salkinogja-Salonen, M. S., 2004, A real activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils, *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 425-433, ISSN 0038-0717
- Zajonc, I., 1992, *Chov dážďoviek a výroba vermikompostu*, 59 s, Animapress, Povoda, ISBN 80-85567-00-8

## 10. Seznam příloh

### Seznam tabulek:

- 1) Suroviny s vysokým obsahem uhlíku vs. suroviny s vysokým obsahem dusíku
- 2) Srovnání parametrů dvou metod kompostování
- 3) Podmínky pro chov žížal *E. fetida* a *E. andrei* v organickém odpadu
- 4) Srovnání výhod a nevýhod u vybraných surovin uplatnitelných jako krmivo pro epigeické druhy žížal
- 5) Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s lihovarskými výpalky, slámou a senem v Češově
- 6) Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s matolinou v Mikulčicích
- 7) Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s kalem ze sladoven a směsí dalšího různého bioodpadu ve Velelibách u Nymburku
- 8) Počet vrstev, stáří vermikompostu a hloubka jednotlivých vrstev [cm] pro pokus s biologicky rozložitelným komunálním odpadem v Uherském Brodě
- 9) Využití substrátů při stanovování enzymů
- 10) Destička pro stanovení enzymů
- 11) Základní agrochemické parametry vermikompostu z BRKO
- 12) Průměrné hodnoty počtu žížal [ks] a biomasy žížal [g] přepočtené na 1 kg vermikompostu

### Seznam grafů:

- 1) Procentuální rozdělení enzymů do šesti hlavních tříd podle typu katalyzované reakce
- 2) Změny mikrobiální aktivity [ $\mu\text{g/g dw}$ ] napříč profilem vermikompostu z BRKO
- 3)  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z výpalků
- 4)  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO
- 5)  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven
- 6)  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny
- 7) Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z výpalků

- 8) Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO
- 9) Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven
- 10) Kyselá fosfatáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny
- 11) Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z výpalků
- 12) Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO
- 13) Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven
- 14) Arylsulfatáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny
- 15) Lipáza ve vrstvách vermikompostu z výpalků
- 16) Lipáza ve vrstvách vermikompostu z BRKO
- 17) Lipáza ve vrstvách vermikompostu z kalu ze sladoven
- 18) Lipáza ve vrstvách vermikompostu z matoliny

**Seznam fotografií:**

- 1) Měření pH v suspenzi
- 2) Měření vodivosti ve filtrátu
- 3) Stanovování počtu žížal v jednotlivých vrstvách vermikompostu
- 4) Přístroj Tecan Infinite<sup>®</sup> M200 na měření enzymů

**Seznam obrázků:**

- 1) Hydrolýza monoesterů kyseliny fosforečné
- 2) Obecné schéma pro vermikompostování – řez zakládkou