

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



Faktory inhibující aktivitu žížal v čistírenském kalu

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Barbora Tojflová

Obor studia: Technologie zpracování a využívání odpadů

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

Konzultant: Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Faktory inhibující aktivitu žížal v čistírenském kalu" jsem 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 22.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Aleši Hančovi, Ph.D. a konzultantovi Ing. Pavlu Švehlovi, Ph.D. za trpělivost, velmi cenné rady a připomínky. Diplomová práce byla vytvořena v rámci projektu NAZV č. QK1910095 s názvem „Využití vermikompostování k eliminaci mikropolutantů za účelem bezpečné aplikace čistírenského kalu na zemědělskou půdu.“ Dále bych ráda poděkovala celé své rodině a přátelům za pevné nervy a obrovskou podporu a pomoc.

Faktory inhibující aktivitu žížal v čistírenském kalu

Souhrn

Čistírenský kal je cennou komoditou, která má velký potenciál využití v rámci aplikace na zemědělskou půdu. Obsahuje však velké množství rizikových látek, které znesnadňují jeho aplikaci. Degradace těchto rizikových látek je tedy zásadní a vermikompostování se jeví jako vhodný proces pro odstranění. Tato práce měla za cíl identifikovat právě ty faktory, které působí inhibičně na aktivitu žížal v čistírenském kalu a brání tak jeho úspěšnému vermikompostování. V literární rešerši jsou uvedeny faktory, které způsobují inhibici žížal v procesu vermikompostování a dále pak přehled o čistírenském kalu. Pokus byl založen v červnu 2019 v laboratoři FAPPZ na Suchdole. Byly použity dva kaly z různých čistíren odpadních vod. Kal č.1 byl zpracováván mechanicko-biologickou úpravou, kal č.2 zpracován R-D-N úpravou. Tyto kaly byly dále míseny se slaměnými peletami v poměru zastoupení 100 % kalu nebo 100 % pelet, 50 % kalu a 50 % pelet, 75 % kalu a 25 % pelet či 25 % kalu a 75 % pelet. Celkově bylo pro založení pokusu připraveno 75 baněk. Jednalo se o 25 variant ve třech opakováních a, b, c. Kal č.1 byl upraven pouze na pH 6,0 a 7,0, jelikož $\text{pH} < 8,0$. Oproti tomu kal č.2 měl vstupní $\text{pH} > 8,0$, a proto byl upraven na pH 8,0; 7,0 a 6,0. Celý pokus trval půl roku. Dle zjištěných parametrů bylo potvrzeno, že vysoká koncentrace amoniakálního dusíku při relativně vysoké hodnotě pH kalu, a z ní plynoucí toxický efekt NH_3 , měl negativní vliv na životaschopnost žížal. Což potvrdil úhyn žížal ve variantách se zastoupením 100 % kalu, ale i při zastoupení 50 % kalu a 50 % slaměných pelet. Zvyšující se přídavek slaměných pelet k čistírenskému kalu příznivě ovlivnil počet žížal a množství jejich biomasy, ale jen v některých variantách se zastoupením 25 % slaměných pelet a 75 % kalu, 50 % slaměných pelet a 50 % kalu a 100 % slaměných pelet. Jako nejvhodnější kal byl shledán kal č.1, který zajistil žížalám optimální prostředí z hlediska dostatečného množství organické hmoty, příznivého pH, nízkou koncentrací NH_3 a N-amon a byla zde potvrzena 100% životaschopnost. Oproti tomu kal č.2 vykazoval vysokou počáteční koncentrací NH_3 a N-amon a celkový vzhled žížal nevykazoval optimální podmínky pro život.

Klíčová slova: pH, slaměné pelety, amoniak, úprava kalu, vermikompostování

Factors inhibiting earthworm activity in sewage sludge

Summary

Sewage sludge is a valuable commodity with a huge potential for agricultural soil application. However, it contains a number of hazardous substances uneasy to use. Degradation of these hazardous substances is the most important step and vermicomposting appears to be the effective removal process. The focus in my thesis is to identify the factors that have an inhibitory effect on the activity of earthworms in sewage sludge and prevent successful vermicomposting. The literary summary lists the factors causing the inhibition of earthworms in the process of vermicomposting, and overview of sewage sludge. The experiment was executed in the laboratory of FAPPZ in Suchdol in June 2019. Two sludges were used from different wastewater treatment plants. Sludge No. 1 was utilized by mechanical-biological treatment, sludge No. 2 was utilized by R-D-N treatment. These sludges were further mixed with straw pellets in a ratio of 100 % sludge or 100 % pellets, 50 % sludge and 50 % pellets, 75 % sludge and 25 % pellets or 25 % sludge and 75 % pellets. A total of 75 flasks have been prepared for the experiment. 25 variants in three cycles a, b, c. Sludge No. 1 was adjusted to pH 6,0 and 7,0 only as pH < 8,0. To compare, sludge No. 2 had an input pH > 8,0 and was adjusted to pH 8,0; 7,0 and 6,0. The whole experiment took half a year. Gathered parameters confirmed that the high concentration of ammoniacal nitrogen with relatively high pH value of the sludge and related toxic effect of NH₃, had a negative effect on the viability of earthworms. The death of earthworms in variants with 100 % sludge confirmed it, but the same result was with 50 % sludge and 50 % straw pellets. The straw pellets increase to sewage sludge had a positive effect on the number of earthworms and the amount of their biomass, but only in some variants with 25 % straw pellets and 75 % sludge, 50 % straw pellets and 50 % sludge and 100 % straw pellets. Sludge No. 1 was found the most convenient, provided the earthworms with an optimal environment in terms of a sufficient amount of organic matter, optimal pH, low concentration of NH₃ and N-ammonium and confirmed 100% viability. To compare, sludge No. 2 showed a high initial concentration of NH₃ and N-ammonium and the overall state of earthworms did not show optimal life conditions.

Keywords: pH, straw pellets, ammonia, sludge treatment, vermicomposting

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce.....	2
2.1 Hypotézy.....	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Vermikompostování.....	3
3.1.1 Historie vermikompostování.....	3
3.1.2 Faktory způsobující inhibici aktivity žížal v průběhu vermikompostování	4
3.1.2.1 Teplota.....	4
3.1.2.2 Vlhkost.....	4
3.1.2.3 pH.....	5
3.1.2.4 Dostupnost kyslíku.....	5
3.1.2.5 Predátoři ohrožující žížaly.....	5
3.1.2.6 Klimatické podmínky.....	6
3.1.2.7 Choroby a škůdci.....	6
3.1.2.8 Vstupní surovina.....	6
3.1.2.9 Velikost částic.....	7
3.1.3 Obsah prvků a chemických látek.....	7
3.1.3.1 NH ₃ a N-amon.....	7
3.1.3.2 Rizikové látky.....	8
3.1.3.3 Poměr C:N.....	9
3.1.4 Mikrobiální diverzita.....	10
3.1.5 Mikrobiální procesy.....	10
3.1.5.1 Mineralizace.....	10
3.1.5.2 Denitrifikace.....	10
3.1.5.3 Nitrifikace.....	10
3.1.6 Žížaly vhodné pro vermikompostování.....	11
3.1.7 Metody vermikompostování.....	13
3.1.8 Vermikompost.....	13
3.2 Přínos pro uživatele vermikompostu.....	14
3.3 Čistírenský kal.....	15
3.3.1 Vznik kalu.....	15
3.3.2 Typy kalu.....	18
3.3.3 Složení kalu.....	18
3.3.4 Stabilizace kalu.....	19

3.3.5	Nakládání s kalem.....	20
3.4	Související legislativa	20
4	Metodika	22
4.1	Materiál.....	22
4.1.1	Kaly.....	22
4.1.2	Pelety	22
4.2	Příprava pokusu	23
4.3	Založení pokusu.....	25
4.3.1	Odběry vzorků	25
4.3.2	Analytické postupy	26
4.3.3	Stanovení jednotlivých forem dusíku	26
4.3.3.1	Stanovení koncentrace N-amon.....	26
4.4	Statistická analýza.....	27
5	Výsledky	28
5.1	Čistírenský kal č. 2	28
5.2	Čistírenský kal č. 1	29
5.3	Pelety	29
5.4	Přehled počtu a biomasy žížal v rámci pokusu	30
5.5	Porovnání kalů	36
6	Diskuze	38
7	Závěr.....	41
8	Seznam literatury	42
9	Seznam obrázků	55
10	Seznam tabulek	56
11	Seznam grafů	57
12	Samostatné přílohy	58

1 Úvod

V současném světě je zaznamenána enormní produkce odpadů. Tato skutečnost tvoří významný environmentální problém. Abychom předešli vzniku nových odpadů, je potřeba se zamyslet, zda se všechny odpady musí spalovat či skládkovat. Velmi ukázkovým příkladem je kal z čistírny odpadních vod. Tyto kaly bývají skládkovány či spalovány. Mohly by však být procesem vermikompostování zbaveny rizikových prvků a aplikovány na zemědělskou půdu jako hnojivo. Kaly z čistíren odpadních vod jsou zdrojem organické hmoty, obsahují dále základní živiny a mikroprvky. Kal je také charakteristický vyšším množstvím fosforu, kvůli kterému je na zemědělskou půdu aplikováno nemalé množství hnojiv či pesticidů, které mají negativní dopad na životní prostředí. Můžeme tedy fosfor vnímat jako cenný prvek, který by měl být opětovně využíván a upustit tak od aplikace hnojiv, které zatěžují životní prostředí. Nesmíme opomenout také vysoké finanční náklady, které vyplývají z aplikace kupovaných hnojiv. Z výše uvedených důvodů je nezbytné, aby byly nalezeny vhodné metody, které povedou k eliminaci polutantů, rizikových prvků a těžkých kovů v čistírenském kalu a zároveň k zachování cenných látek v tomto kalu. V posledních letech se tedy výrazněji začíná smýšlet o ekologickém zemědělství, kde jsou uplatňovány právě vermikompostéry v malém měřítku a v měřítku velkém jsou používány např. pásové hromady. V průběhu vermikompostování se do zpracovávaného materiálu nepřidávají žádné chemické látky a výsledný produkt vermikompost je obohacen o základní živiny a mikroprvky. Proces vermikompostování je specifický přítomností žížal, které jsou schopny odbourávat rizikové prvky ze substrátu. Úprava čistírenského kalu v procesu vermikompostování se tedy jeví jako vhodný proces, při kterém by žížaly mohly z kalu degradovat rizikové prvky a těžké kovy a následně by mohl být vermikompostovaný kal aplikován na půdu jako hnojivo. Velmi důležitým faktorem v procesu vermikompostování čistírenského kalu jsou právě žížaly, které je potřeba podrobněji zkoumat a zajistit jim optimální prostředí, díky kterému může dojít k úspěšnému vzniku hnojiva, které nebude obsahovat ony rizikové prvky a těžké kovy. Proto faktory, které jsou klíčové pro inhibici aktivity žížal v čistírenském kalu, se zabývá má práce.

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo identifikovat faktory, které působí inhibičně na aktivitu žížal v čistírenském kalu a brání tak jeho úspěšnému vermikompostování.

2.1 Hypotézy

1. Vysoká koncentrace amoniakálního dusíku při relativně vysoké hodnotě pH kalu a z ní plynoucí toxický efekt amoniaku má negativní vliv na životaschopnost žížal.

2. Zvyšující se přídavek slaměných pelet k čistírenskému kalu příznivě ovlivňuje počet žížal a jejich biomasu.

3 Literární rešerše

3.1 Vermikompostování

Vermikompostování neboli kompostování za pomoci žížal je velmi hojně využíváno v domácnostech a považuje se za pokročilý typ kompostování. Jde o biooxidační a stabilizační proces přeměny organických materiálů, který na rozdíl od klasického kompostování, využívá interakce mezi intenzivní činností žížal a mikroorganismů a nezahrnuje termofilní fázi rozkladu (Dominguez & Edwards 2011). Dle Zhao et al. (2018) jsou žížaly považovány za klíčové v procesu vermikompostování a zdravý růstový stav žížal přímo odráží úspěšný proces vermikompostování. Žížaly zajišťují fragmentaci, aeraci a překopávání (Lores et al. 2006). Zpracovávají organický bioodpad tak, že pozřou organické zbytky, které rozmělní a následně sníží objem bioodpadu. Jsou velmi prospěšné, živí se veškerým organickým odpadem nalezeným v půdě. Běžně je jejich potrava zpestřena různými zbytky z domácností, jako je ovoce a zelenina. Můžeme však do vermikompostéru přidávat i čajové pytlíky, kávovou sedlinu, nadrcené skořápky od vajec. Nedoporučuje se přidávat do vermikompostéru exotické ovoce, zejména citrusové plody. Vermikompost má ve srovnání s klasickým kompostem výrazně lepší vlastnosti (Hanč & Plíva 2013). V průběhu celého kompostovacího procesu dochází ke změnám v teplotě, vlhkosti, pH, poměru uhlíku a dusíku, dále dochází ke změnám v obsahu prvků fosforu, draslíku, hořčíku, vápníku a toxických kovů (Hohenberger 1999). Vermikompost obsahuje velké množství živin, dále se vyznačuje kvalitním humusem, obsahuje růstové hormony, enzymy a látky, které mají schopnost chránit rostliny před škůdci a chorobami (Pandit & Maheshwari 2012; Gajalaskhmi & Abbasi 2004). Jednou z nepřeberného množství možností, jak lze využít vermikompost, je jeho použití při remediaci znečištění půd, odstraňování některých odpadních látek z vod nebo ke zlepšení produktivity plodin. Vermikompostování lze využít i za účelem rozkladu organických polutantů (Contreras-Ramos et al. 2008). Vzhledem k jeho příznivé adsorpční kapacitě (Zhang et al. 2019; Schelfhout et al. 2017) a příznivému působení vermikompostu, mohou rostliny pozvolna přijímat fosfor a zároveň redukovat jeho ztráty (Marina et al. 2014). Tím pádem aplikace vermikompostu na zemědělskou půdu může být nejen ekonomicky výhodná, kvůli ušetření vynaložených prostředků na hnojiva a pesticidy (Sinha et al. 2010), ale zároveň jde o šetrnější přístup vůči životnímu prostředí.

3.1.1 Historie vermikompostování

Dle Zajonce (1992) v průběhu třicátých let dvacátého století v USA docházelo k pokusům s cílem vyšlechtit žížaly pro zpracování odpadů. V roce 1967 putovala nově vyšlechtěná forma žížal do Itálie, kde se uplatnila pod názvem „červená kalifornská žížala“ a dále putovala do celé Evropy.

Dle Kaliny (2004) proniklo vermikompostování do dřívějšího Československa roku 1985. Dle autora Slejška (1999) se po představení vermikompostování na našem území rozjela vlna obchodování se žížalami, která však skončila nevalně. Technologii vermikompostování

znedůvěryhodnila. Z hlediska dnešní doby zažívá kompostování pomocí žížal velký úspěch. Jde o nový trend ve zpracování bioodpadů v domácnostech. Kvalitní vermikompost si může vyrobit snadno doma každý. Lze použít jak designový, tak podomácku vyrobený kompostér, který lze umístit na balkon, terasu či přímo do bytu.

3.1.2 Faktory způsobující inhibici aktivity žížal v průběhu vermikompostování

3.1.2.1 Teplota

Velmi důležitá pro množení a růst je teplota. Většina žížal vhodná pro vermikompostování má relativně velký teplotní rozsah, který je v rozmezí 15 - 25 °C (Rostami 2011). Například pro *Eisenia fetida* (žížala hnojní) je vhodná teplota okolo 25 °C, ale její tolerance je od 0 až do 35 °C (Edwards c2004). V případě, že teplota překročí hranici 48 °C, dochází k rapidnímu úhynu žížal (Garg & Gupta 2009; Tiwari 2014). Pokud teploty dosahují pod bod mrazu, jsou pro žížaly neslučitelné se životem (Garg & Gupta 2009). Niir (2004) uvádí, že pokud se dostane teplota na 4 °C, dochází k neschopnosti rozmnožování žížal. Je tedy nezbytné, aby se dodržovala konstantní teplota a byla tak docílena požadovaná efektivita vermikompostovacího procesu a optimálních podmínek pro život žížal. Jako zdroj tepla je možné také uvést proces exotermních reakcí, ke kterým dochází při rozkladu bioodpadu (Govindappa et al. 2015). Vliv vysokých teplot u žížal dosahuje nejen přímých, ale také nepřímých účinků, jelikož vysoká teplota zvyšuje mikrobiální aktivitu substrátu, což se odráží ve zvýšené spotřebě kyslíku (Hanč & Plíva 2013). Tento jev může negativně ovlivnit přežití žížal. Z hlediska přežití bylo potvrzeno, že kokony rodu *Eisenia* jsou odolnější a dokáží po nějakou dobu přežít i ne zcela příznivé podmínky (Munroe 2007). Je tedy patrné, že teplota velmi významně ovlivňuje inhibici žížal.

3.1.2.2 Vlhkost

Velice důležitým parametrem pro životnost žížaly je vlhkost substrátu. Vermikompost oproti běžnému kompostu potřebuje až o 30 % více vlhkosti. Jak už bylo naznačeno, žížala je vlhkomilný živočich a je schopna čerpat vlhkost i z povrchu vlastního těla, avšak ta je u každého druhu odlišná. Záleží i na substrátu, kde žížaly žijí (Edwards c2004). Nejvíce žížalám vyhovuje substrát se 70 – 80 % vlhkosti. V případě, že vlhkost klesne pod 60 %, dochází ke zpomalení růstu, dospívání a poruchám v rozmnožování žížal. Dolní hranice vlhkosti pro vermikompost se pohybuje okolo 50 % a horní 90 %. Při nízké vlhkosti dochází u žížal k úhynu vysycháním, a naopak při vysoké vlhkosti hynou také (Cai & Gu 2014). Při optimální vlhkosti 70 - 80 % jsou žížaly nejvíce aktivní, nejefektivněji zpracovávají bioodpad a mají vysokou reprodukci (Lim et al. 2016). Při rozkladu bioodpadu vzniká největší množství vody, a to zejména u čerstvé rostlinné biomasy. Jak už bylo zmíněno v kapitole 3.1.2.1, tělo žížaly je tvořeno 75 - 90 % vody. Jsou schopny vodu v těle zadržet a při dočasném poklesu vlhkosti tak nejsou ohroženy (Malińska et al. 2016). Vlhkost je důležitá i pro rychlost mikrobiálních procesů, které jsou ovlivněny množstvím kyslíku v substrátu (Kalina 2016).

3.1.2.3 pH

Hodnota pH určuje kyselost či zásaditost v substrátu. Žížaly jsou schopné přizpůsobit se mírné změně pH. Přežijí při hodnotě pH 4,2 až 8,0. Dle Singh et al. (2005) citlivost žížal významně ovlivňuje jejich výsledný počet, distribuci a druhové zastoupení. Při procesu dekompozice odpadu organického původu dochází ke vzniku meziproductů, mezi které patří například huminové kyseliny nebo amoniak (NH_3). Právě jejich kladně nebo záporně nabitě částice mění pH na kyselé nebo neutrální (Pramanik et al. 2007). Pro šetrnější zacházení a lepší vývoj se vždy doporučuje dodržovat pH v rozmezí 6,8 až 7,2 (Sherman 2003). Dle výzkumu Dayananda et al. (2008) lze kyselé pH (4,5-6) označit jako nepříznivý faktor, který může být pro žížaly smrtelný. Dále má pH rozhodující vliv na dostupnost živin pro rostliny a účinnost, se kterou mohou rostliny absorbovat živiny (Adams 1995). Velký vliv na pH má i typ organických odpadů (Yilmaz Cincin et al. 2019). Snížení pH během procesu vermikompostování se připisuje uvolňování organických kyselin během procesu biokonverze (Yuvaraj et al. 2019; Sharma & Garg, 2018b). Nesmí být opomenuto, že pH velmi zásadně ovlivňuje zastoupení NH_3 v rámci amonného dusíku (N-amon). A tím ovlivňuje inhibici prostředí pro žížaly.

3.1.2.4 Dostupnost kyslíku

Dalším důležitým faktorem je kyslík, který je při vermikompostování nezbytný. Žížaly dýchají celým povrchem těla a při nedostatku kyslíku jim hrozí úhyn (Chakole & Jasutkar 2014). Důležitý je kyslík také pro mikrobiální degradaci materiálu a jeho mineralizaci, která je náročná na spotřebu kyslíku (Munroe 2007). Především se jedná o nitrifikaci, která probíhá za aerobních podmínek čili za přítomnosti kyslíku viz (kapitola 3.1.5.3). Nebo naopak v případě nedostatku, dochází k rozkladu organických látek bez přítomnosti kyslíku. Jedná se tak o rozklad organické hmoty v anaerobním prostředí, ve kterém vznikají mykotoxiny, NH_3 , sirovodík, organické kyseliny. Můžeme však uvést ještě tzv. anoxické prostředí, které je také bez přítomnosti kyslíku a za těchto podmínek probíhá denitrifikace neboli redukce dusičnanů a dusitanů na elementární dusík viz (kapitola 3.1.5.2). Aby nedocházelo k nedostatku kyslíku, žížaly se pomocí chodbiček snaží provzdušňovat celý obsah kompostovaného substrátu (Munroe 2007). Žížaly mnohdy na povrch může vypudit také vysoký obsah CO_2 (nedostatek kyslíku), který může být způsoben uvolňováním z kompostovaného substrátu nebo v případě, když je půda přesycená vodou či jedovatými látkami (Pommeresche 2010).

3.1.2.5 Predátoři ohrožující žížaly

I v uměle vytvořených podmínkách, jakými jsou vermikompostéry, mohou žížaly narazit na přirozené nepřátele. Jde především o predátory, jako je ptactvo, zejména o drozdy, kosačky či havranovitě. Dále o lišky, jezevce či rejsky. Za malé predátory lze považovat různé druhy hmyzu. Zejména stonožky, drabčičky či škvory (Zajonc 1992; Pižl 2018).

3.1.2.6 Klimatické podmínky

Klimatické podmínky mohou také výrazně ovlivnit proces vermikompostování. Sluneční svit může substrát vysušit či přehřát. Dále proces ovlivňuje vítr a déšť. Proto je velmi důležité, kde je vermikompostér umístěn. Měl by být umístěn tak, aby se vyhýbal povětrnostním podmínkám, mrazu či prudkému slunci (Hanč & Plíva 2013).

3.1.2.7 Choroby a škůdci

Žížaly mohou trpět různými typy onemocnění. Mezi hlavní příčiny můžeme uvést například chybné složení substrátu, nedostatečnou výživu, nevhodné pH či prostředí s velkým množstvím exkrementů. Také se může v žížalách objevovat celá řada bakterií a prvoků. Mohou fungovat jen jako mezihostitelé nebo jako hostitelé. Např. výtrusovci, bičíkovci a nálevníci znehodnocují především pohlavní orgány žížal. Dále pak tasemnice a hlístice napadají jejich tělo. Následně může docházet k zánětům na povrchu těla, které mohou vést ke smrti jedince (Zajonc 1992; Edwards & Bohlen 1996).

3.1.2.8 Vstupní surovina

Jak již bylo několikrát zmíněno, žížala je velmi citlivý živočich. Je tedy nezbytné zajistit optimální prostředí pro její vývoj, růst, výživu a rozmnožování. Pokud jsou dodržena všechna kritéria, lze očekávat kvalitní vermikompost. Velmi důležité je, aby vstupní surovina splňovala všechny obecné požadavky, jako je například vlhkost, teplota, provzdušnění či skladba surovin, které do substrátu přidáváme (Hanč & Plíva 2013). Každý substrát je specifický a jsou značné rozdíly mezi substrátem z domácnosti či zemědělství. Pro agronomickou výrobu je různorodá skladba živného substrátu typická. Substrát může být tvořen například vyzrálým chlévským hnojem (dle původu 3–7 měsíců), který by měl dosahovat pH 6,5–8,0. Nejlepším hnojem je hnůj koňský, ovčí nebo od skotu. Za nevhodný je považován trus drůbeží. Substrát může obsahovat i zahradní odpady, ovocné výlisky, kartonový papír, piliny a další. V případě kyselosti substrátu, se přidává mletý vápenec v množství asi 0,7 kg na 1 m³ (Kalina 2004). Domácnosti mohou mít rovněž různé skladby substrátů. Jak uvádí Kalina (2004), podestýlkou může být půda, rašelina, staré listí, tráva, sláma i hobliny. Žížaly dokážou zpracovat i navlhčený skartovaný papír z počítačové tiskárny, kartony od vajec, pruhy lepenky. Do vermikompostéru lze přidat slupky a zbytky z ovoce a zeleniny, zbytky chleba a pečiva, vyluhovaný čaj v sáčkách, kávovou sedlinu včetně papírových filtrů a rozdrcené skořápky z vajec (Sims & Gerard 1985; Kiyasudee 2016). Potraviny nevhodné pro vermikompostování mohou být např: kosti, maso, ryby, mléčné výrobky a zbytky mastných jídel. Za nepřijatelné suroviny pro vermikompostování můžeme označit všechny, které obsahují toxické látky. Dle Gunadi & Edwards (2003) se v odpadních materiálech sleduje obsah solí, který by měl vykazovat hodnoty pod 0,5 %. Obsah N-amon, který by neměl být vyšší než 1 mg/g v substrátu (Dayananda et al. 2008). Takto rizikové a toxické substráty se proto nechávají předkompostovat (Dominguez & Edwards 2011b). Dále by neměly být přidávány slupky z banánů, pomerančů a dalších citrusových plodů, jelikož mohou obsahovat zbytky po chemickém ošetření, jako jsou například pesticidy. Žížaly nedokážou přijímat jednoduché živiny bílkovinného charakteru např. albumin,

kasein, vaječný bílek a žloutek, případně sacharidy (čistá celulóza, škrob, sacharóza) či tuk (Zajonc 1992).

3.1.2.9 Velikost částic

Ideální velikost částic, kterou je žížala schopna pozřít, by neměla přesahovat 0,5 mm. V případě větší velikosti, jsou žížaly schopny jednotlivé částice rozmělnit (Plíva et al 2006).

3.1.3 Obsah prvků a chemických látek

3.1.3.1 NH₃ a N-amon

V průběhu vermikompostování dochází k uvolňování skleníkových plynů (Lim et al. 2016), dále dochází k nižším emisím oxidu dusného a metanu než při kompostování a zároveň také k menším ztrátám dusíku (Nigussie et al. 2016). Vermikompostování oproti běžnému kompostování zabraňuje ztrátě živin, jako je NH₃. Podle autorů Contreras-Ramos et al. (2005) to má souvislost s hodnotou pH a synergií mezi žížalami a mikroorganismy, které zvyšují rychlost rozkladu organických látek a dále urychlují změnu organického dusíku na dusík dostupný, a tím také zvyšují např. kvalitu vermikompostovaných kalů z čistíren odpadních vod (Liu et al. 2005). Najjari & Ghasemi (2018) uvedli, že dusík může být také uvolňován z metabolických produktů žížal, jako jsou mrtvé tkáně a hormony. Dle Pommeresche (2010) téměř polovina půdních mikroorganismů, které poutají vzdušný dusík (aerobních fixátorů), se nachází ve stěnách žížalých chodeb. Jak uvádí Zajonc (1992), dostatečné zásoby bílkovin nutných pro život, rozmnožování a růst žížal jsou udávány obsahem dusíku v substrátu (zakládce). Vysoký obsah bílkovin, ve kterých je vázán dusík (vysoký podíl dusíku v zakládce), je nežádoucí, protože bílkoviny podléhají rychlému rozkladu za vzniku NH₃, který je pro žížaly toxický. Podle Carbonella et al. (2009) je důležité, aby nedocházelo k intoxikaci NH₃, který je pro žížaly smrtelný. Je dokázáno, že NH₃ vykazuje zvláště silný inhibiční efekt nejen vůči žížalám, ale i vůči řadě dalších organismů (Anthonisen et al. 1976; Ip et al. 2001; Hill et al. 2013). Inhibiční efekt NH₃ byl pozorován ve změně buněčné morfologie a narušení metabolismu. Dle autorů Kathyayani et al. (2019) došlo při intoxikaci NH₃ k otokům, poškození epitelu, buněčnému edému či hyperplazii buněk. Celkově tedy mírné až závažnější poškození tkáně vede k úhynu žížal. Dle Pommeresche (2010) mají žížaly velmi tenkou pokožku, a jsou proto citlivé na rychlé změny iontové koncentrace (např. právě NH₃, kromě něj i dusičnanů atd.) v roztoku substrátu. I nízké koncentrace těchto látek mohou být pro žížaly nepříznivé. U mnoha druhů žížal jsou v trávicím traktu běžné mikroorganismy, které pomáhají štěpit lignin a celulózu z rostlinných zbytků, a navíc mikroorganismy, které poutají vzdušný dusík a vytvářejí aminokyseliny. Například statková hnojiva, která bývají běžně aplikována na zemědělskou půdu, obsahují vyšší koncentrace NH₃. Jedním z běžně používaných druhů substrátů pro vermikompostování může např. být kravská kejda. Ta je však pro žížaly nebezpečná, pokud se aplikuje v příliš velkém množství. Může žížalám ucpat póry v půdě a žížaly se následně udusí nebo se mohou otrávit. Toxicita kejdy je způsobena vysokým obsahem NH₃, kyseliny benzoové a sulfidu sodného. Pokud se do kejdy přimíchává silážní

šťáva, negativní vliv na žížaly se ještě zvyšuje v důsledku snížení pH a uvolňování toxických sloučenin při rozkladu bílkovin v silážní tekutině. Negativní efekt je nejvyšší bezprostředně po aplikaci. Další důležitou formou dusíku je N-amon, který bývá pro žížaly smrtelný. Toxicita N-amon vůči živým organismům je kromě jeho celkové koncentrace také silně závislá na aktuální hodnotě pH a na teplotě (Hill et al. 2013). Inhibiční vliv N-amon se může projevit v důsledku vyšší rychlosti mineralizace organického dusíku na N-amon, než je součet rychlostí odstranění N-amon nitrifikací a těkáním NH₃ do ovzduší. Následně pak může být N-amon v systému akumulován, což může znemožnit přežití žížal při vermikompostování (Míchal et al. 2019).

3.1.3.2 Rizikové látky

Za rizikové látky se považují látky takové, které mohou negativně ovlivňovat kvalitu vermikompostu. Zároveň snižují výnosnost a kvalitu hnojených rostlin a kvůli schopnosti akumulace v rostlinných tkáních také zdravotní stav konečných konzumentů. Za rizikové látky jsou považovány například deriváty ropy, pesticidy, těžké kovy a halogenidy aromatických uhlovodíků. Je patrný negativní účinek také u zinku a mědi ve vysokých koncentracích. Měď je zároveň velmi toxickým prvkem pro žížaly (Váňa 1994; Heggelund et al. 2014). Žížaly ve svém těle akumulují měď a jsou proto někdy využívány k remediaci substrátů. Jsou proto i poměrně tolerantní k vyšším obsahům mědi. Je pro ně ovšem méně toxická měď ve formě nanočástic nerozpustných ve vodě než ve vodě rozpustných (Heckmann et al. 2011). Čím více má v sobě žížala mědi, tím klesá její reprodukční schopnost (Heggelund et al. 2014, Velicogna et al. 2017). Nejvyšší přípustné koncentrace vybraných rizikových prvků jsou stanoveny vyhláškou 474/2000 Sb. Vyhláška Ministerstva zemědělství o stanovení požadavků na hnojiva.

Tabulka 1: Nejvyšší přípustné koncentrace vybraných rizikových prvků v hnojivech mg/kg suché hmoty (organická a statková hnojiva se sušinou nad 13 %)

Cd	Pb	Hg	As	Cr	Cu	Mo	Ni	Zn
2	100	1	20	100	150	20	50	600

Autor: Vyhláška 474/2000 Sb. Ministerstva zemědělství o stanovení požadavků na hnojiva

Dle Swati & Hait (2017) se během procesu vermikompostování snížil obsah kovů díky enzymatické aktivitě žížal. Některé studie také poukazují na fakt, že se mohou těžké kovy hromadit ve tkáních žížal během vermikompostovacího procesu (Panday et al. 2014). A takto nahromaděné kovy mohou vyvolat u žížal stresové reakce, které se žížaly snaží udržovat v rovnováze pomocí zvýšené sekrece (Li et al. 2009). Některé hydrolitycké enzymy, které jsou vylučovány žížalami z trávicího traktu, spolu s mikrobiální populací způsobují degradaci organické hmoty, absorpci důležitých živin a omezenou akumulaci těžkých kovů v tkáních žížal. Štěpení organické hmoty žížalami, uvolňuje kovy vázané na ionty a uhličitany, což má za následek vyšší obsah mobilních kovových frakcí (Khan et al. 2019). Tyto mobilní kovové frakce jsou absorbovány v kožních tkáních žížal v tzv. dermálním průchodu a zde se hromadí.

V průběhu procesu trávení organických odpadů se mobilní frakce těžkých kovů buď hromadí v kožních tkáních, nebo se váží na nízkomolekulární, cystein vázající se proteiny, jako jsou metalothioneiny, které mají vysokou afinitu ke kovům jako Hg, Zn, Ni, Co, Cu a Cd (Suthar & Singh 2008).

3.1.3.3 Poměr C:N

Řada odborníků má rozličné názory ohledně optimálního poměru, ale všechny se od sebe liší v řádu jednotek. Poměr C:N je jedním z hlavních předpokladů pro tvorbu kvalitního hnojiva (Ndegwa & Thompson 2000). Dle autorů Garg & Gupta (2009) poměr pro rychlou stabilizaci organického materiálu by měl být v rozmezí 25-30:1. Materiály s poměrem C:N vyšším než 40:1 podléhají dekompozici velice pomalu. Materiály s poměrem C:N pod 20:1 nasvědčují vysokému stupni stabilizace organické hmoty a představují plně vyžralý organický odpad (Garg & Gupta 2009). Poměr C:N se však v kompostu neustále mění, například dýcháním dochází k odvodu uhlíku ve formě CO₂, zatímco metabolické procesy žížal zvyšují obsah dusíku v substrátu (Nagavallema et al. 2004). Ve studii Yadav & Garg (2011) bylo prokázáno, že při průběhu vermikompostování dochází ke snižování poměru C:N, uhlík je spotřebováván a uvolňován ve formě oxidu uhličitého do ovzduší při procesu respirace, zatímco dusík je dodáván ve formě žížalích exkrementů. Při zvýšené koncentraci dusíku se substrát dá upravit pomocí např. plev, slámy či sena. Při zvýšení uhlíku, který však není běžným jevem, se aplikuje do substrátu slepičí trus či chlévský hnůj (Sinha et al. 2009). Autoři Garg & Gupta (2009) doporučují přidat pro snížení poměru C:N např. čistírenský kal či prasečí kejdu.

Obrázek 1: Poměr C:N u jednotlivých surovin



Autor: (http://hgf10.vsb.cz/546/bmzo/pages/Faze_procesu_kompostovani.html)

3.1.4 Mikrobiální diverzita

Žížaly podporují činnost mikroorganismů, které se podílí na tvorbě kvalitního humusu. Dle studie Wang et al. (2019) byl zjištěn, vyšší obsah dostupného fosforu v substrátu oproti běžnému procesu aerobního kompostování. Účinky jsou dle jiné studie přičítány na fosfor solubilizujícím bakteriím a alkalické fosfatáze ve střevech kroužkovců (Le Bayon & Binet 2006). Mikroorganismy mohou být spouštěči zvýšené degradace, rozkladu organických materiálů a uvolňování více živin do systému půda-rostlina (Wang et al. 2019). Zvýšené množství vhodných mikroorganismů ve vermikompostu má také prokazatelně pozitivní vliv na růst, vývoj a výnos rostlin (Villar et al. 2016). Bylo prokázáno, že při průchodu trávicím traktem žížal je desorbován fosfor z pevné složky půdy či odpadu. Žížaly také ovlivňují mineralizaci fosforu v důsledku bakteriální fosfatázové aktivity (Ludibeth et al. 2012). Studie Zhao et al. (2018) naznačuje, že by vermikompostování mohlo do jisté míry snížit počty patogenních mikroorganismů. Což znamená, že přítomnost žížal by mohla zlepšit stabilizaci a kvalitu produktů kompostování.

3.1.5 Mikrobiální procesy

3.1.5.1 Mineralizace

Jedná se o půdní proces, při kterém se rozkládají organické látky a uvolňují živiny. Dochází k uvolňování NH_3 z organických dusíkatých látek. NH_3 ve vodném prostředí přijímá proton a vzniká NH_4 . NH_3 reaguje s kyselinami za vzniku amonných solí.

3.1.5.2 Denitrifikace

Denitrifikace je biochemická redukce dusičnanů a dusitanů na N_2 (elementární dusík), avšak v malém množství může vznikat i NO_2 . Při denitrifikaci dochází k oxidaci organických látek a k redukci dusitanového dusíku. Denitrifikace probíhá v tzv. anoxických podmínkách, ve kterých není přítomen kyslík. Akceptor elektronů je zde dusitanový dusík či dusičnanový dusík, popřípadě jiné látky (Malý & Hlavínek 1996; Dohányos et al. 1998). Řada studií ukázala, že denitrifikace je v exkrementech žížal podstatně vyšší než v okolním substrátu. Exkrementy žížal obsahují více NH_4^+ , NO_3^- , H_2PO_4^- , K^+ , Ca_2^+ , Mg_2^+ a dalších výměnných iontů než okolní substrát (Pižl 2018).

3.1.5.3 Nitrifikace

Nitrifikace se považuje za klíčový proces v mnoha ekosystémech, neboť transformuje relativně nepohyblivou amonnou formu na velmi pohyblivou dusičnanovou formu dusíku. V této formě je dusík využitelný pro rostliny jako živina, může však docházet i k opačnému efektu, a to jeho ztrátě vyplavováním či denitrifikací. Nitrifikace je aerobní proces. Tudíž probíhá pouze za přístupu vzduchu. Akceptorem elektronů je zde molekulární kyslík. Optimální

pH je v rozmezí 6,5-8,5, při pH pod 6,5 intenzita nitrifikace klesá a v případě pH pod 5 se zastavuje. Nitrifikace probíhá ve dvou stupních. V prvním stupni tzv. nitritace se N-amon oxiduje na dusík s využitím činnosti nitrifikačních bakterií *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira* a *Nitrosocystis*. Ve druhém stupni tzv. nitrataci vzniklé dusitaný jsou oxidovány na dusičnany pomocí nitratačních bakterií *Nitrobacter* a *Nitrocystis*. Nitrifikační a nitratační bakterie můžeme označit za chemolitotrofní bakterie, které získávají energii oxidací anorganických látek (Malý & Hlavínek 1996; Dohányos et al. 1998; Švehla et al. 2014). Optimální pH pro rod *Nitrosomonas* se uvádí 7,9-8,2 a pro rod *Nitrobacter* 7,2-7,6. V důsledku toho mohou mít vyšší hodnoty pH za následek hromadění dusitanů, kterou zapříčinila vyšší aktivity organismů produkujících dusitaný než organismů, které dusitaný spotřebovávají a převádějí na dusičnany. Dále Míchal et al. (2019) uvádí, že N-amon může být toxický i pro samotné nitrifikační organismy. Toxicita je kromě jeho celkové koncentrace také silně závislá na aktuální hodnotě pH a na teplotě. Důvodem této skutečnosti je vliv pH a teploty na zastoupení disociovaného NH_4^+ a nedisociovaného volného NH_3 v rámci celkové koncentrace N-amon, která zahrnuje obě formy. Toxicky zpravidla působí nedisociovaná forma (N-NH_3). Její zastoupení při dané celkové koncentraci N-amon roste s rostoucí hodnotou pH s rostoucí teplotou.

3.1.6 Žížaly vhodné pro vermikompostování

Žížaly můžeme dělit dle místa jejich výskytu:

- Epigeické – žijí těsně pod povrchem, živí se rozkladem čerstvě odumřelé organické hmoty, epigeické žížaly jsou nejvhodnější pro vermikompostování
- Anektické – tzv. hlubinné žížaly, mají své nory hluboko v minerálních vrstvách půdy, na povrch se dostávají pouze v noci pro potravu, živí se čerstvě odumřelou organickou hmotou
- Endogeické – žijí v horních minerálních vrstvách půdy, převážně se živí více rozloženou organickou hmotou, která je vázána na půdní částice, na povrch se dostávají výjimečně (Munroe 2007)

Žížaly zastupují velkou část půdní fauny většiny zemědělských ekosystémů a zároveň tedy tvoří velký podíl biomasy půdní makrofauny (Srivastava et al. 2011). Jsou schopny svými chodbičkami zpřístupňovat dusík, který je důležitým prvkem pro růst plodin, provzdušňují a odvodňují různé územní celky (Kiyasudeen 2016). Tělo žížaly obsahuje 75 – 90 % vody. Žížaly jsou schopny dýchat celým povrchem těla. Používání průmyslových hnojiv, pesticidů a kontaminace půdy toxikanty patří mezi další faktory, které rovněž ovlivňují abundanci a strukturu společenstev žížal (Pommeresche 2010; Švarc & Kula 2011). Míra rozkladu závisí na účinnosti žížal a na povaze směsi organických materiálů používaných pro vermikompostování kromě jiných faktorů (Prakash & Karmegam 2010; Sharma & Garg 2018a). Ne však všechny druhy žížal jsou schopny rychle a efektivně přeměnit organické zbytky (Scott 2006). Podle autorů Plívy & Hanče (2011) se pro účely vermikompostování doporučuje zejména *Eisenia fetida* neboli žížala hnojní a její příbuzný druh *Eisenia andrei* neboli žížala

kalifornská. Jedná se o dva druhy žížal, které se běžně vyskytují na našem území, a i po celé Evropě. *Eisenia fetida* a *Eisenia andrei* se rychle rozmnožují i dospívají (Kiyasudeen 2016). Oba druhy kolonizují přirozeně organické substráty. Jejich životní cyklus je krátký, jsou odolné a mají velmi značné teplotní a vlhkostní rozpětí. Dle autora Váňa (1997) je dospělý jedinec schopen spotřebovat denně tolik krmiva, co sám váží. Z toho vyrobí 60 % hlavního produktu vermikompostování, a to biohumusu, a zbylých 40 % využije pro své vlastní potřeby.

Obrázek 2: *Eisenia andrei*



Autor: (<https://alchetron.com/Eisenia-andrei>)

Obrázek 3: *Eisenia fetida*



Autor: (<https://alchetron.com/Eisenia-fetida>)

Z hlediska četnosti užití jednotlivých druhů, je pro vermikompostování častěji doporučován druh *Eisenia andrei* kvůli svému růstu a vyšší reprodukční míře (Dominguez & Edwards 2011). Avšak dle několika studií byla naopak *Eisenia fetida* vybrána jako epigeický druh žížaly z důvodů její široké tolerance vůči několika proměnným. Jedná se převážně o pH, vlhkost a teplotu (Suthar 2009; Fernández-Gómez et al. 2010). *Eisenia andrei* se doporučuje pro vermikompostování z důvodů rychlejší a vyšší reprodukce a zároveň vyšší spotřeby organického materiálu (Dominguez 2004). Zdravý růstový stav žížal přímo odráží úspěšný proces vermikompostování, a především proto jsou žížaly považovány za klíčové indikátory během tohoto procesu (Zhao et al. 2018). Žížalí hmotnost a produkce kokonů jsou dvěma hlavními kritickými ukazateli růstu žížal (Li et al. 2020). Zásadní parametr pro vermikompostování je teplota. Střídání teplot, má nepříznivý účinek přímý ale i nepřímý. Vysoká teplota zvyšuje mikrobiální aktivitu v substrátu, což se odráží ve zvýšené spotřebě kyslíku. Tento jev může negativně ovlivnit přežití žížal (Dominguez & Edwards 2011). Dle Suthara (2009) rychlost růstu žížal závisí na mikrobiální aktivitě a na skladbě živin v substrátu.

3.1.7 Metody vermikompostování

Vermikompostování zahrnuje několik základních technologických typů, které se liší jednotlivými postupy (Hanč & Plíva 2013). Vermikompostéry dělíme na domácí (maloprodukční), které slouží především na kuchyňské zbytky z domácností (Appelhof & Olszewski 2017) či menší množství papíru (staré noviny, karton od vajec). Tento typ vermikompostování může probíhat v domácnostech, kancelářích či například studentských kolejích. Oproti tomu vermikompostování velkoprodukční zahrnuje otevřené systémy, plošné či pásové kompostování (Edwards et al. 2011). Tyto technologie se používají k produkčnímu zpracování většího množství organické hmoty (např. k údržbě zeleně nebo zbytků z rostlinné produkce na farmách) (Hanč & Plíva 2013). Při využívání jakéhokoli z uvedených systémů je nutné zajistit optimální prostředí pro hlavní součást vermikompostování – pro žížaly (Hanč & Plíva 2013). Účinnost vermikompostu je ovlivněná složením substrátu, fyzikálními a chemickými vlastnostmi (Nagar 2007).

3.1.8 Vermikompost

Dle Pecla (2007) lze vzniklý vermikompost rozdělit na tři druhy, podle jeho struktury:

- polohrubý (hrubé struktury, je možné s ním nahradit statkový hnůj),
- jemný zahradní (jemné struktury, náhrada za statkový hnůj, vhodný pro pokojové rostliny, sazenice v záhonech, parkové trávníky),
- speciální jemný golfový (přímá aplikace na nově vznikající nebo již vzrostlý trávník)

Jde o výsledný produkt biodegradace organického materiálu díky vzájemnému působení žížal a mikroorganismů při vermikompostování (Joshi & Vig 2010). Považuje se za vyjíměčný

produkt, protože je homogenní, má vyhovující senzorické vlastnosti, sníženou úroveň kontaminantů a má tendenci zadržovat více živin po delší časové období bez negativního vlivu na životní prostředí (Suthar & Singh 2008). Podle Tharmaraj et. al (2011) je výsledný produkt vermikompostování hodnotnější než běžný kompost. Autor Sulzberger (1998) také dodává, že vermikompost má až trojnásobně vyšší zastoupení NPK látek oproti běžnému kompostu. Z hlediska chemického složení závisí, z jakých vstupních surovin byl vermikompost připraven (Marcinčák 2015; Tognetti et al. 2013). Hanč & Plíva (2010) dále uvádí, že vermikompost získaný s pomocí žížal je považován za nejúčinnější organické hnojivo s obsahem až 17 % huminových kyselin v sušině a také zlepšuje odolnost rostlin proti chorobám, zvyšuje nutriční hodnotu produktů a omezuje vstup cizorodých látek do rostlin. Aira et al. (2006) dále uvádí, že kvalita vermikompostu oproti běžnému kompostu je vyšší vzhledem k tomu, že žížalami požíraný substrát prochází trávicím traktem žížaly, ve kterém dochází k hygienizaci zažívacími enzymy a jinými antibakteriálními tekutinami, a to v konečném důsledku snižuje množství patogenů v bihumusu. Autor Kalina (2004) poukazuje na obsah živin v % sušiny vermikompostu a kompostu v tabulce č.2.

Tabulka 2: Obsah živin v % sušiny vermikompostu a kompostu

	Vermikompost	Kompost
Celkový dusík (N)	1,0 - 3,0	0,5 - 1,5
Celkový fosfor (P ₂ O ₅)	0,2 - 3,0	0,1 - 0,8
Celkový draslík (K ₂ O)	0,3 - 2,0	0,3 - 0,8
Vápník (CaO)	1,0 - 12,0	1,0 - 12,0
Hořčík (MgO)	0,3 - 3,3	0,2 - 3,3
Poměr C:N	8 - 15:1	12 - 30:1
Hodnota pH	6,5	6,5
Organická hmota	30 - 55	20 - 40

3.2 Přínos pro uživatele vermikompostu

Dle metodické příručky autorů Hanče & Plívy (2013) je kvalita vyrobeného vermikompostu podstatně vyšší než běžného kompostu. Vermikompost obsahuje nejen živiny, ale i velice kvalitní organické látky (zejména ze skupin huminových kyselin). Dále obsahuje růstové hormony (auxiny, gibbereliny a cytokininy) a v neposlední řadě také enzymy, které se dostávají do výměšků žížal z jejich trávicího ústrojí. Složení vermikompostu se pozitivně odráží v agrochemických a biologických vlastnostech hnojené půdy a následně na růstu výnosů a kvalitě produkce. Rostliny jsou odolnější proti chorobám a škůdcům, proto je možné snížit (nebo i odstranit) dávkování ochranných postřiků. Vermikompost umožní rostlinám lépe využít minerální látky již obsažené v půdě. Čím je vermikompost jemnější (tj. obsahuje více žízalých výměšků), tím je kvalitnější, a tím pádem i dražší. Dále autoři uvádí, že ze zpracování statkových hnojiv vermikompostováním, je výsledným produktem – vermikompost dle Přílohy č. 3 k vyhlášce č. 474/2000 Sb. zařazen mezi typová organická hnojiva, čímž odpadá zdlouhavý

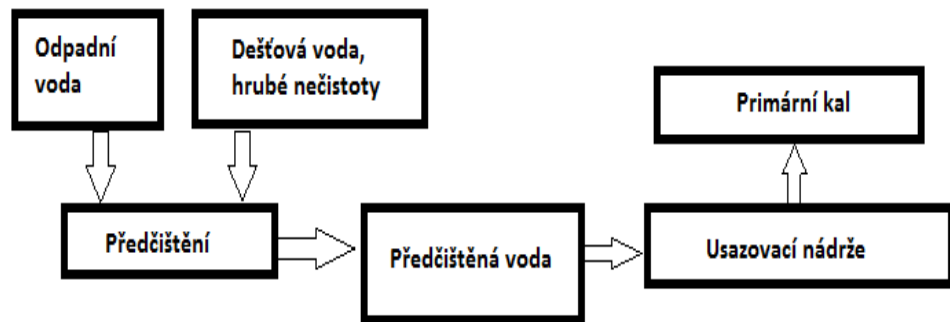
schvalovací proces, nutný pro netypová hnojiva. Velmi důležitým faktem je, že vermikompostování je proces převzatý z přírody. V průběhu vermikompostování se do zpracovávaného materiálu nepřidávají žádné chemické látky. Zařazení technologie vermikompostování pro zpracování bioodpadů a následné využívání vermikompostu je tedy vhodné zejména pro ekologické zemědělce. Délka kompostování je jednou z mála nevýhod. Doba setrvání zpracovávaných surovin je na kompostovací ploše cca 3,3 x delší nežli u klasického kompostování s pomocí překopávače. Z tohoto důvodu je výhodné vermikompostování využívat zejména pro zpracovávání množství biologicky rozložitelného odpadu do 150 t.rok⁻¹, kdy není nutná vodohospodářsky zajištěná plocha (Hanč & Plíva 2013).

3.3 Čistírenský kal

3.3.1 Vznik kalu

Hlavním cílem procesu čištění odpadních vod je snížení rizika znečištění různých složek životního prostředí, zejména vodních toků, které by mohly kvůli vysokému obsahu organických látek v odpadních vodách negativně ovlivnit kvalitu povrchové vody, např. ve formě eutrofizace. Procesem čištění odpadních vod vzniká čistírenský kal. Do areálu ČOV se dostává odpadní voda, která obsahuje velké množství nežádoucích látek a sloučenin. Jedná se především o látky pocházející z domácností, sociálních zařízení, z průmyslové výroby, ze zdravotních zařízení či z dešťové vody (Hartman et al. 2003; Khan et al. 2019). Nejdříve se zachytí největší částice na lapáku šterku, jako jsou např. kameny a šterk v důsledku rozšíření žlabu a snížení rychlosti proudění. Dochází k usazování částic, které jsou následně odtěženy. Dále jsou použity česle nebo síta, které odstraňují plovoucí nečistoty např. větve a větší kusy plastů. Poté voda projde lapákem tuků a písku. Zde je úkolem odloučení organických látek od minerálních suspenzí a snížení průtočné rychlosti, kdy se vytváří podmínky pro sedimentaci. Lapák písku zachycuje částice o velikosti zrn větší než 0,2 mm a lapák tuků zase tuky z potravinářského průmyslu. Odstraněním písku z vody se zabráňuje mechanickému obrušování. Takto předčištěná voda odtéká do usazovací nádrže, která slouží k usazení jemných nerozpuštěných látek. V usazovací nádrži vzniká primární kal a je posledním stupněm mechanického stupně (Malý & Hlavínek 1996; Vítěz & Groda 2008).

Obrázek 4: Schéma mechanického čištění



Autor: (<https://docplayer.cz/17250858-Odpadni-vody-organismy-v-odpadnich-vodach-na-cistirnach-odpadnich-vod.html>) (následně upraveno autorem DP)

V biologickém stupni, který probíhá v biologickém reaktoru, se využívá biochemické aktivity organismů v aerobních podmínkách. Tyto organismy rozkládají organické látky ve vodě na H_2O a CO_2 a jejich rozkladem získávají živiny a rostou. Toto narůstající množství biomasy (tzv. sekundárního, resp. aktivovaného kalu) je zapotřebí udržovat na stejné hodnotě jeho odběrem. Ze systému odvádný aktivovaný kal je nazýván přebytečným. Organismy rozkládající látky jsou také schopny bioflokulace a následné sedimentace v dosazovací nádrži. V těchto nádržích dochází k nahromadění kalu a jeho oddělení od vyčištěné vody. Tento kal nazýváme sekundární (Vítěz & Groda 2008). Pokud má vyčištěná voda sloužit ke speciálním účelům, je do čistírenského procesu vložen i chemický neboli terciární stupeň. Výsledkem tohoto procesu je chemický kal (Malý & Hlavínek 1996; Vítěz & Groda 2008).

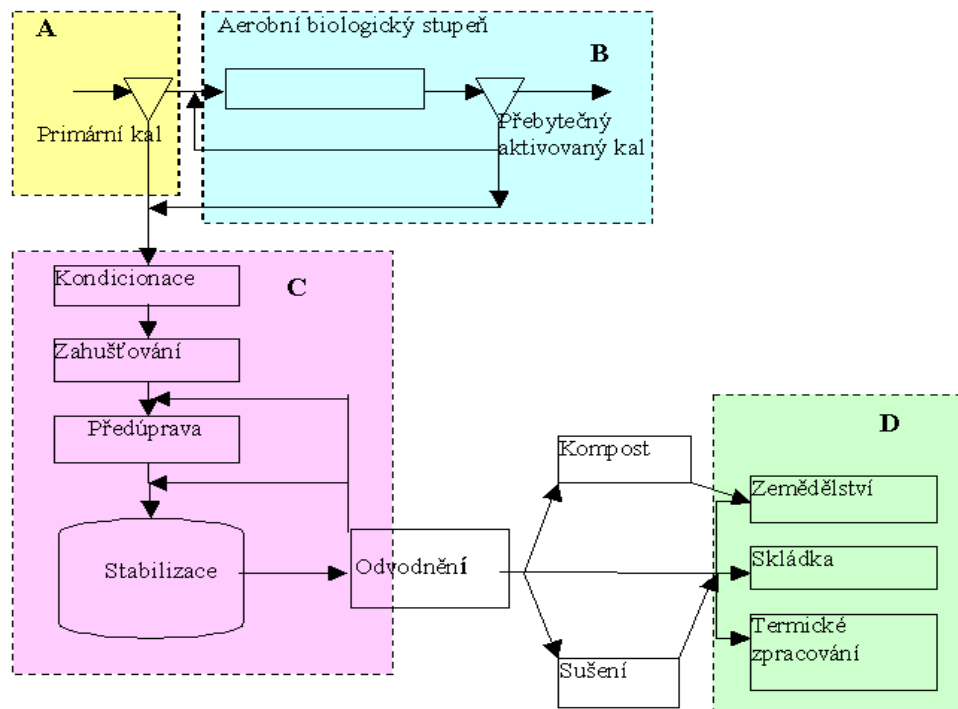
Obrázek 5: Schéma biologického čištění



Autor: (<https://docplayer.cz/17250858-Odpadni-vody-organismy-v-odpadnich-vodach-na-cistirnach-odpadnich-vod.html>) (následně upraveno autorem DP)

Složení čistírenských kalů závisí na obsahu různých látek v čištěné odpadní vodě. Vyčištěná odpadní voda by měla mít vlastnosti minimalizující riziko znečištění složek životního prostředí, zejména vodních toků. Jde o pevný produkt provozu ČOV. Znečišťující látky se často dělí na organické a anorganické, rozpustné a nerozpustné a ty potom dále na usaditelné či neusaditelné. Z organických látek jsou rozpustné především sacharidy a nerozpustné především lipidy (tuky a vosky) a bílkoviny. Lipidy mají převážně koloidní charakter a nesedimentují (Hartman et al. 2003). Obsah vody v odvodněném kalu se pohybuje v rozmezí 70 - 85 %. Koncentrace kalu se dá vyjádřit také jako obsah sušiny kalu, která je tvořena minerálními látkami a látkami organického původu. Složení záleží hlavně na původu a typu znečištění odpadní vody a také na způsobu jejího zpracování (biologické čištění, mechanické čištění, fyzikálně-chemické čištění apod.). V odpadních vodách se velmi často vyskytují léky, hormony, steroidy, dezinfekční prostředky, těžké kovy, bakterie a viry, polyaromatické uhlovodíky či ropné produkty, které mohou v různé míře přecházet do kalu. Kal je také obohacen vyšším množstvím fosforu a dusíku a dále významnými stopovými prvky. Obsah sušiny v kalu je ukazatelem jeho kvality a konzistence, stanovuje se jako hmotnostní podíl po odpaření vody a vysušení vzorku při 105 °C, výsledná hodnota obsahu se vyjadřuje v %. Sušina se skládá z pevných (tuhých) částic ve vodě, tj. rozpuštěných i nerozpuštěných (Malý & Malá 1996; Turovskii & Mathai c2006). Avšak i kal kvalitně vysušený při 105 °C obsahuje stále ještě kolem 5 hm % vody. Převážnou část sušiny tvoří suspendované látky, v malé míře je zastoupena voda a sloučeniny rozpustné ve vodě (Hartman et al. 2003). Celkové množství produkovaných kalů závisí na množství zpracovávaného znečištění a na způsobu čištění odpadních od a typu kanalizace (Dohányos 2006).

Obrázek 6: Schéma zpracování čistírenského kalu



Autor: <https://biom.cz/cz/obrazek/obecne-schema-zpracovani-cistirenskeho-kalu>

3.3.2 Typy kalu

Primární kal obsahuje usaditelné látky obsažené původně v surové odpadní vodě. Tento typ kalu bývá nejčastěji separován v usazovací nádrži. Vyznačuje se vločkovitou strukturou (Vítěz & Groda 2008) a je tvořen nerozpuštěnými látkami, které prošly lapákem písku a česlemi. Množství kalu dosahuje 2,5 až 50 g/l sušiny. Primární kal se hůře vysouší, v důsledku obsahu koloidních látek, které mají schopnost vázat vodu. Navíc u tohoto typu kalu dochází ke hnilobným procesům, díky kterým kal nepříjemně zapáchá (Turovskii & Mathai c2006). Primární kal bývá zpracován v kalovém hospodářství. Sekundární neboli přebytečný kal se skládá z biomasy z biologického růstu a kalu z dosazovacích nádrží. Má vločkovitou strukturu a jeho charakter je ovlivněn čistícím zařízením, v němž vznikl. Jeho barva se pohybuje v rozmezí světle šedé až tmavě hnědé (Turovskii & Mathai c2006). V sekundárním kalu se však stále mohou vyskytovat nečistoty, které nebyly úplně odstraněny při úpravě primárního kalu (vlákna). Zbývá část putuje poté, většinou po smísení s primárním kalem, do kalového hospodářství, kde je dále upravován pro účely jeho využití (Chudoba et al. 1991; Dohányos c1998). Odvodněný kal může dosahovat až 50 % sušiny a strukturně připomíná zeminu.

3.3.3 Složení kalu

Složení čistírenského kalu je závislé na účinnosti a stupni biologického čištění. Vliv na složení má charakter přiváděné vody (komunální, průmyslové vody). Jedná se o heterogenní směs kapalné a pevné složky. Kapalná a pevná složka jsou od sebe různými procesy oddělovány. Pevná složka (kal) obsahuje velké množství látek organických a anorganických. Tyto látky mohou být rozpustné, nerozpustné nebo nebezpečné (rizikové prvky) (Chudoba et al. 1991; Dohányos et al. 1998; Hartig 2017). Kal obsahuje organické látky netoxické, které jsou převážně zastoupeny cukry, tuky, bílkovinami, vosky a dále také sloučeniny dusíku a fosforu. Rovněž obsahují draslík v menší míře oproti dusíku a fosforu. Mezi organické látky toxické pak patří uhlovodíky, pesticidy, polyfenoly a těžké kovy. Nalezneme v kalu však i látky anorganické jako křemen, živce, karbonáty nebo oxidy železa. Výskyt patogenních mikroorganismů je častý v důsledku obsahu lidských a zvířecích exkrementů v odpadní vodě. Dále mohou být v kalu bakterie a paraziti. K nejsledovanějším rizikovým prvkům v čistírenských kalech se řadí As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb a Zn. Podle povahy sloučenin patří k toxickým, popř. karcinogenním látkám, jejich vliv se zpravidla projevuje až v delším časovém období (kumulativní efekt). Největším nebezpečím je jejich dlouhý poločas rozpadu, a tudíž i velice nelehká detoxikace. Především v dlouhodobém horizontu patří tato skupina sloučenin mezi nejvíce nebezpečné (Hanč et al. 2007). Kaly však mohou mít kromě karcinogenních i teratogenní či mutagenní účinky. K přednostem využívání kalů v zemědělství (kompostované s jinými surovinami nebo aplikované přímo na zemědělskou půdu) patří zejména významný přísun makroprvků (dusík, fosfor, draslík, vápník, hořčík) a organické hmoty do půdy (Hanč et al. 2007). Dle Pytla (c2012) vyhláška 437/2016 Sb. o použití upravených čistírenských kalů v zemědělství limituje i prvky a sloučeniny, které mohou být v kalu obsaženy. Technologie čištění odpadních vod a stabilizace kalů ovlivňuje složení kalů, které závisí především na složení odpadních vod. V případě nadlimitních koncentrací

znečišťujících látek, kdy nelze kal aplikovat na půdu, je nutné k odstranění kalů použít například termické zpracování. Bylo zjištěno, že například některé splaškové kaly obsahují vyšší množství škodlivých organických a anorganických látek jakými jsou těžké kovy, patogeny, perzistentní organické polutanty (Rosińska & Karwowska 2017; Jing et al. 2019; Khan et al. 2019). Přímá aplikace takovýchto kalů do půdy bez jakéhokoliv ošetření představuje riziko pro životní prostředí a lidské zdraví v důsledku přítomnosti patogenních organismů a znečišťujících látek (Bondarzcuk et al. 2016) a fytotoxických metabolitů vytvářených neúplným rozkladem organické hmoty. Imobilizace či odstranění kovů je proto velmi důležité při čištění vod a zároveň pro recyklaci kalů z čistíren odpadních vod nebo hnojiv (Wu et al. 2018). V posledních letech se vermikompostování široce rozšířilo a začalo se používat jako biotechnologie pro zpracování různých druhů organických odpadů včetně čistírenských kalů (Yang et al. 2014; Azizi et al. 2015; Malińska et al. 2017). Řada studií poukazuje na pozitivní vliv hnojení a potlačení nemocí rostlin vermikompostovaného čistírenského kalu aplikovaného na obdělávanou zemědělskou půdu (Qin et al. 2016; Karimi et al. 2017; Maková et al. 2019)

3.3.4 Stabilizace kalu

Stabilizace má za úkol snížit objemové a hmotnostní množství kalu a potenciální rizikovost pro zdraví lidí a složek životního prostředí. Stabilizací se například eliminuje pach (Malý & Hlavínek 1996). Existují různé formy stabilizace (např. vápnění na $\text{pH} > 12$, ohřev na $190\text{ }^\circ\text{C}$ při tlaku $2,5\text{ MPa}$). Nejčastěji se pro velkoobjemové zpracování používá proces metanizace (vyhňování, digesce) při $30 - 55\text{ }^\circ\text{C}$ (Hartman et al. 2003). Stabilizaci dělíme na aerobní, anaerobní a chemickou. Aerobní stabilizace kalu probíhá v kyslíkatém prostředí, pomocí autooxidačních procesů. Dochází v ní k rozkladu organické hmoty. Na množství organické hmoty závisí množství kyslíku, potřebného k procesu. K rozkladu 1 kg organické hmoty se spotřebuje $1,42\text{ kg}$ kyslíku a při oxidaci amoniakálního dusíku je spotřeba 2 kg/kg organických látek. Mezi výhody této stabilizace patří nízké investiční náklady, jednoduchý provoz, nízké koncentrace BSK_5 a především je stupeň rozkladu organické hmoty stejný jako u stabilizace anaerobní. Nevýhodou je horší energetická bilance, větší spotřeba elektrické energie a horší vlastnosti kalu v odvodňování (Malý & Hlavínek 1996). Nejrozšířenější metodou je tzv. anaerobní stabilizace. Probíhá ve vyhňovacích neboli methanizačních nádržích bez přístupu kyslíku. Dochází v ní k přeměně většiny rozložitelných organických látek na bioplyn a stabilizovaný kal. Proces bývá mesofilní při teplotě $27 - 45\text{ }^\circ\text{C}$ nebo termofilní s teplotou $45 - 60\text{ }^\circ\text{C}$. Stabilizace primárního a sekundárního kalu probíhá společně nebo odděleně. Nevýhodou jsou vyšší investiční náklady a dlouhá doba zdržení. Kalová voda po stabilizaci potřebuje další čištění, jelikož je znečištěná organickými a anorganickými látkami (Pytl 2012). Posledním typem je chemická stabilizace, která se provádí udržováním odvodněného kalu při $\text{pH} 12$ a více, a to dávkováním zásady oxidu nebo hydroxidu vápenatého. Při vysoké hodnotě pH dochází k úhynu patogenů, ale zároveň se zastavuje proces rozkládání organické hmoty. Avšak při dlouhodobém skladování kalu dochází vlivem vzdušného CO_2 k přeměně hydroxidů na uhličitany, klesá pH a kal začíná opět hnit a organická hmoty se rozkládá. Stabilizací a hygienizací kalu se zabývá zákon č. 185/2001 Sb. Možnosti využití

stabilizovaného kalu jsou uvedené ve vyhlášce č. 382/2001 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě (Dohányos 2006). Hygienizace kalu je uvedena ve vyhlášce č. 382/2001 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Kal je považován za hygienizovaný v případě, kdy prošel takovou úpravou, při níž byly minimalizovány počty indikátorů patogenních mikroorganismů na přesnou požadovanou hodnotu. Pro proces hygienizace bývá využíváno tepla nebo vápna (Dohányos 2006).

3.3.5 Nakládání s kalem

Způsoby zpracování kalů závisí na místních podmínkách dané lokality, na fyzikálních, chemických a biologických vlastnostech kalů a na možnosti konečného řešení kam s nimi. V současné době přicházejí v úvahu tři způsoby konečného zpracování kalů. Zprv je vhodným hnojivem vzhledem k poklesu používání statkových a minerálních hnojiv (Hanč et al. 2007). Avšak obsah těžkých kovů může negativně ovlivnit zemědělské využití. Dále se může termicky zpracovat (různé způsoby spalování: samostatně, v cementárně, pyrolýza) (Dohányos 2006) či ukládat na skládku.

3.4 Související legislativa

Problematikou kalů a procesy jejich vzniku se zabývá legislativa ČR. Kaly se zabývá nejen zákon o odpadech, ale i další vyhlášky týkající se odpadového hospodářství. Čistírenskými kaly se také zabývá legislativa vodního hospodářství a dále legislativa zemědělská – agronomické využití produktů těchto surovin.

Podle § 32 zákona o odpadech (Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech ve znění pozdějších předpisů) lze kal charakterizovat následovně:

1) Kal:

- a) Kal z čistíren odpadních vod zpracovávající městské odpadní vody nebo odpadní vody z domácností a z jiných čistíren odpadních vod, které zpracovávají odpadní vody stejného složení jako městské odpadní vody a odpadní vody z domácností
- b) Kal ze septiků a jiných podobných zařízení
- c) Kal z čistíren odpadních vod výše neuvedených

2) Upravený kal, který je možné charakterizovat jako kal, který byl podroben biologické, chemické či tepelné úpravě a dlouhodobému skladování nebo jakémukoliv jinému vhodnému procesu tak, že se významně sníží obsah patogenních organismů v kalech, a tím zdravotní riziko spojené s jeho aplikací (Zákon č.185/2001 Sb. České republiky o odpadech).

Vyhláška MŽP 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě ve znění pozdějších předpisů byla zrušena a nahrazena vyhláškou 437/2016 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb.,

o podrobnostech nakládání s odpady a změně vyhlášky č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady

Tabulka 3: Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě mg/kg suché hmoty.

Cd	Pb	Hg	As	Cr	Cu	Ni	Zn
5	200	4	30	200	500	100	2500

Autor: Vyhláška č. 437/2016 Sb. Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.

Dále se čistírenskými kaly zabývají:

Vyhláška MŽP 93/2016 Sb., kterou se stanoví katalog odpadů ve znění pozdějších předpisů

Vyhláška MŽP 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a o jejich využívání na povrchu terénu ve znění pozdějších předpisů

Vyhláška MŽP 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady ve znění pozdějších předpisů

Metodický pokyn MŽP ke vzorkování odpadů

4 Metodika

4.1 Materiál

K přípravě pokusu byly použity dva typy kalů z dvou různých čistíren odpadních vod. Dále se o nich budu zmiňovat jako o kalech č.1 a č.2. Dále byly použity žížaly rodu *Eisenia andrei* z vermireaktorů menzy ČZU a slaměné pelety.

4.1.1 Kaly

Pro tento pokus byly vybrány kaly č.1 a č.2. Kal č.1 pochází z čistírny odpadních vod, kde je zpracováván mechanicko-biologickou úpravou, konkrétně aerobní stabilizací a pro následné odvodnění stabilizovaného kalu je použit kalolis. Kal č.2 pochází z čistírny odpadních vod, kde je zpracováván úpravou Regenerace – Denitrifikace – Nitrifikace (R-D-N), konkrétně anaerobní-termofilní stabilizací a pro následné odvodnění stabilizovaného kalu je použita odstředivka.

4.1.2 Pelety

Pro tento pokus byly vybrány pelety slaměné, jelikož mají poměr C:N okolo 60:1 a jsou proto jsou vhodné pro smísení s čistírenským kalem. Jedná se o vysoce komprimované výlisky válcovitého tvaru. Jsou vyrobeny ze suché pšeničné slámy, která se za vysokých teplot a tlaků lisuje do formy peletek o průměru 8 mm. Procesem výroby je podestýlka tepelně ošetřena teplotou 90 °C. Takto vysoká teplota bezpečně zničí mikroorganismy a patogenní bakterie, které jsou potencionálním zdrojem chorob (Granofyt 2020).

Obrázek 7: Slaměné pelety

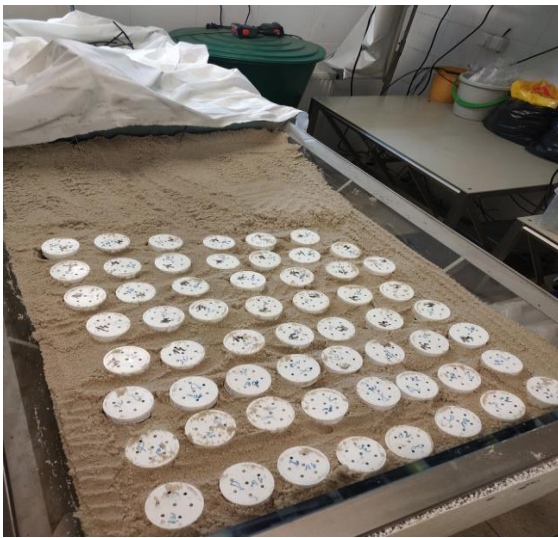


Autor: (<https://slamenepelety.wordpress.com/>)

4.2 Příprava pokusu

Laboratorní pokus byl založen v červnu 2019 ve stáji FAPPZ na Suchdole. Pokus probíhal v pokusné laboratoři, kde byla stabilní teplota 22 °C a světlo, které bránilo žížalám opustit pokusné baňky. K vermikompostování byly použity žížaly druhu *Eisenia andrei*. Jednotlivé pokusné baňky byly v několika centimetrových rozestupech zahrabány do písku. Zavlažování těchto baňek bylo zajištěno kapkovou závlahou, která spínala přesně po 12 hodinách. Pro lepší zvlhčení jednotlivých baňek, bylo natáhnuto přes pokusný modul plátno, které zadržovalo vlhkost z kapkové závlahy. Na obrázku č.8 je znázorněno umístění jednotlivých baňek do písku. Na obrázku č.9 je kapková závlaha na pokusných modulech

Obrázek 8: Umístění jednotlivých baňek do písku



Obrázek 9: Kapková závlaha na pokusných baňkách



Autor: Oba snímky foto vlastní

Tabulka 4: Schéma pokusu

Varianta	typ kalu	hm.% kalu	hm.% pelet	úprava pH na
1	kal 2	0	100	6
2	kal 2	25	75	6
3	kal 2	50	50	6
4	kal 2	75	25	6
5	kal 2	100	0	6
6	kal 2	0	100	7
7	kal 2	25	75	7
8	kal 2	50	50	7
9	kal 2	75	25	7
10	kal 2	100	0	7
11	kal 2	0	100	8
12	kal 2	25	75	8
13	kal 2	50	50	8
14	kal 2	75	25	8
15	kal 2	100	0	8
16	kal 1	0	100	6
17	kal 1	25	75	6
18	kal 1	50	50	6
19	kal 1	75	25	6
20	kal 1	100	0	6
21	kal 1	0	100	7
22	kal 1	25	75	7
23	kal 1	50	50	7
24	kal 1	75	25	7
25	kal 1	100	0	7

Tabulka 5: Vlhkost jednotlivých substrátů

Vlhkost	
suché pelety	10,60 %
vlhké pelety	71,70 %
Kal č. 2	70,70 %
Kal č.1	79,90 %

4.3 Založení pokusu

Dle tabulky č.4 bylo vytvořeno celkem 25 variant. Každá varianta měla 3 opakování v podobě a, b, c. Kal č.2 měl 15 variant, které se od sebe lišily zastoupením v poměru % čistírenského kalu vůči % pelet. Dále u jednotlivých variant bylo pH snižováno nejdříve na pH 8,0 poté pH 7,0 a nakonec na pH 6,0. Obdobné to bylo i u kalu č.1, avšak s tím rozdílem, že u tohoto kalu bylo vytvořeno pouze 10 variant. Kal č.1 byl upravován pouze na pH 7,0 a poté na pH 6,0. Důvodem nepoměru variant mezi kaly č.2 a č.1 je naměřené pH před vstupními pokusy. Kal č.2 vykazoval pH větší než 8,0 a kal č.1 pH nižší než 8,0. Z tohoto důvodu byly u 1 vyškrtnuty varianty s úpravou na pH 8,0.

4.3.1 Odběry vzorků

Pro stanovení hodnot pH bylo naváženo 10 g kalu č.1 do jedné baňky a stejné množství kalu č.2 do baňky druhé. Kal byl zalit demineralizovanou vodou v poměru 1:5. Směs byla třepána na mechanické třepačce po dobu 50 minut. Následně bylo pomocí kalibrovaného pH metru (WTW 340i) zjištěno pH jednotlivých kalů. Následným krokem bylo připravení 25 variant v různých poměrech. Bylo zapotřebí si připravit veškeré substráty. Slaměné pelety byly připraveny namočením v horké vodě v poměru 1 díl pelet a 2 váhové díly vody. Vždy, bylo připraveno 200 g směsi pro 1 variantu. Každé baňka s opakováním měla 50 g. Což znamená 150 g na 1 variantu. Zbýlých 50 g bylo používáno pro stanovení nejrůznějších analýz. Po připravení 25 variant, z každé varianty bylo odebráno 10 g směsi. Následně zalito 50 ml demineralizované vody a poté vloženo do mechanické třepačky po dobu 50 minut. Po vyndání 25 vzorků z třepačky, bylo u každého vzorků stanoveno pH. Následně pro jednotlivé varianty byla použita úprava pH na požadované hodnoty pomocí titrace kyselinou sírovou (0,3 M H_2SO_4). Bylo zaznamenáno, kolik ml H_2SO_4 je potřeba na úpravu obou kalů při hodnotách pH 8; 7 a 6. Bylo vzato tedy množství namíchaného substrátu a k němu bylo nalito množství kyseliny, které se míchalo dle jednoduchého poměru. Např: na úpravu varianty č.5 na pH 7 bylo na 10 g použito 1,11 ml H_2SO_4 . Jelikož potřebuji celkově 200 g na variantu o 3 opakováních vynásobím tedy 1,11 ml H_2SO_4 x 19 (zbylých 190 g ze 200 g – jelikož 10 gramů tohoto substrátu bylo již použito na první výluh). Vypočítané poměry H_2SO_4 byly postupně aplikovány do jednotlivých variant, použitím digitální byrety a velmi důkladně zapracovány do směsí. Z každé varianty bylo vždy následně odebráno 3 x 50 g směsi vloženo do baňky, která byla vystlána textilní sítkou a na závěr bylo vloženo ke směsi 10 ks žízal. Bylo velmi důležité, aby všechny varianty měly podobně velké žízaly a váhový průměr odpovídal 2 g. Poté byla síťka zagumičkována. Dalším krokem bylo měření úniku NH_3 nad jednotlivými baňkami (GasMan). Finální fází bylo uzavření baňky šroubovacím víčkem a vložení do písku v pokusném modulu. Zbylé směsi z jednotlivých variant byly pečlivě uzavřeny, popsány a následně uschovány do lednice k následným pokusům.

4.3.2 Analytické postupy

Ze zbylých směsí byl dále stanovován na začátku a na konci pokusu obsah sušiny. Bylo naváženo 8 g vzorku do hliníkové mističky z každé varianty a následně se vzorky sušily v sušárně do konstantní hmotnosti při 105 °C. Mimo jiné se stanovoval i N-amon na začátku a na konci pokusu. Nejdříve bylo zapotřebí připravit výluh z 25 variant. Výluh byl připraven z 10 g směsi a 50 ml zásobního roztoku vytvořeného z výluhového činidla CAT (chlorid vápenatý, $c = 0,01 \text{ mol/L}$, kyselina diethylentriaminopentaoctová, $c = 0,002 \text{ mol/L}$, $\text{pH} = 2,6$) ve vyluhovacím poměru 1 g vzorku ku 10 ml roztoku CAT podle mezinárodní normy BS EN 13651) a demineralizované vody. Výluhy se třepaly na mechanické třepačce cca 50 minut. Poté byly výluhy přelity do speciálních zkumavek, které byly postupně vkládány do centrifugy na odstředění vzorků (ROTINA 420R). Po zředění ve vhodném poměru bylo nejprve do odměrné baňky o objemu 50 ml obsahující 40 ml zředěného vzorku přidáno 4 ml vybarvovacího činidla (NH_3), následně se obsah baňky promíchal. Poté se přidaly 4 ml dicholisokyanuratanu, následně se obsah baňky opět promíchal, byl doplněn po rysku demineralizovanou vodou a nechal stát po dobu 60 minut. Následně byl vzorek přelit do sleněné zkumavky o průměru 16 mm a tato zkumavka byla vložena do spektrofotometru (HACH DR3900) dle postupu uvedeného v práci Horáková et al. (2003). Po týdnu od založení pokusu byly vyhodnoceny jednotlivé baňky. Nejprve na únik NH_3 , poté na měření pH pomocí pH metru Sentron SI400 s vpichovou sondou LanceFet a následně byla zjištěna mortalita v jednotlivých variantách. Baňky byly následně rozděleny na baňky s živými a mrtvými žížalami. Po zjištění celkové mortality bylo v cyklech dvakrát týdně měřeno pH a NH_3 jak u živých, tak u mrtvých variant. Ve 4. týdnu bylo v živých variantách opětovně přepočítání žížal a byl změřen i váhový přírůstek. Následně byly žížaly zváženy až v 8. týdnu.

4.3.3 Stanovení jednotlivých forem dusíku

Vyhodnocení výsledků z procesu nitrifikace bylo prováděno spektrofotometrické měření koncentrace jednotlivých forem dusíku (N-amon) na spektrofotometru HACH DR3900.

4.3.3.1 Stanovení koncentrace N-amon

Pro stanovení koncentrace amoniakálního dusíku byla použita indofenolová metoda spektrometrického stanovení, která má schopnost detekovat N-NH_3 , tak i N-NH_4^+ . Principem analýzy je reakce NH_3 , chlornanu a salicylanu, při které vzniká sloučenina indofenolového typu. Tato sloučenina disociuje v alkalickém prostředí na intenzivně modré indofenolové barvivo. Ve výsledku je však roztok zbarven do zelena, jelikož reakce je katalyzována nitroprusidem sodným žlutého zbarvení (Horáková et al. 2003). Měření probíhalo při vlnové délce 655 nm v kyvetách optické dráhy 1 cm a po změně spektrofotometru v HACH zkumavkách o průměru 16 mm.

Obrázek 10: Varianta kalu č.2



Obrázek 11: Varianta kalu č.1



Autor: Oba snímky foto vlastní

4.4 Statistická analýza

Pro statistické vyhodnocení byl použitý program MS Excel 2016 (Microsoft, USA), který byl použit pro výpočet průměrů a směrodatných odchylek.

5 Výsledky

5.1 Čistírenský kal č. 2

Tabulka 6: Schéma vermikompostovací experimentu

Varianta	% kalu	% pelet	Požadované pH	Skutečné pH
1	0	100	6	7,7
2	25	75	6	6,5
3	50	50	6	6,9
4	75	25	6	7,2
5	100	0	6	6,9
6	0	100	7	7,1
7	25	75	7	7,0
8	50	50	7	7,2
9	75	25	7	7,1
10	100	0	7	7,3
11	0	100	8	7,8
12	25	75	8	7,2
13	50	50	8	7,2
14	75	25	8	7,2
15	100	0	8	7,9

Z tabulky č.6 vyplývá, že i po upravení kalu (č.2) 0,3 M H₂SO₄ je reálné pH jednotlivých variant odlišné od pH požadovaného. Z výsledků také vyplývá, že nejmenší odchylku od požadovaného pH vykazovaly varianty (6,7,8,9,10). Oproti tomu ve variantě č. 1, 3 je velmi zřetelný rozdíl.

5.2 Čistírenský kal č. 1

Tabulka 7: Schéma vermikompostovacího experimentu

Varianta	% kalu	% pelet	Požadované pH	Skutečné pH
16	0	100	6	7,5
17	25	75	6	7,2
18	50	50	6	7,0
19	75	25	6	7,0
20	100	0	6	6,9
21	0	100	7	7,9
22	25	75	7	7,6
23	50	50	7	7,1
24	75	25	7	7,3
25	100	0	7	7,2

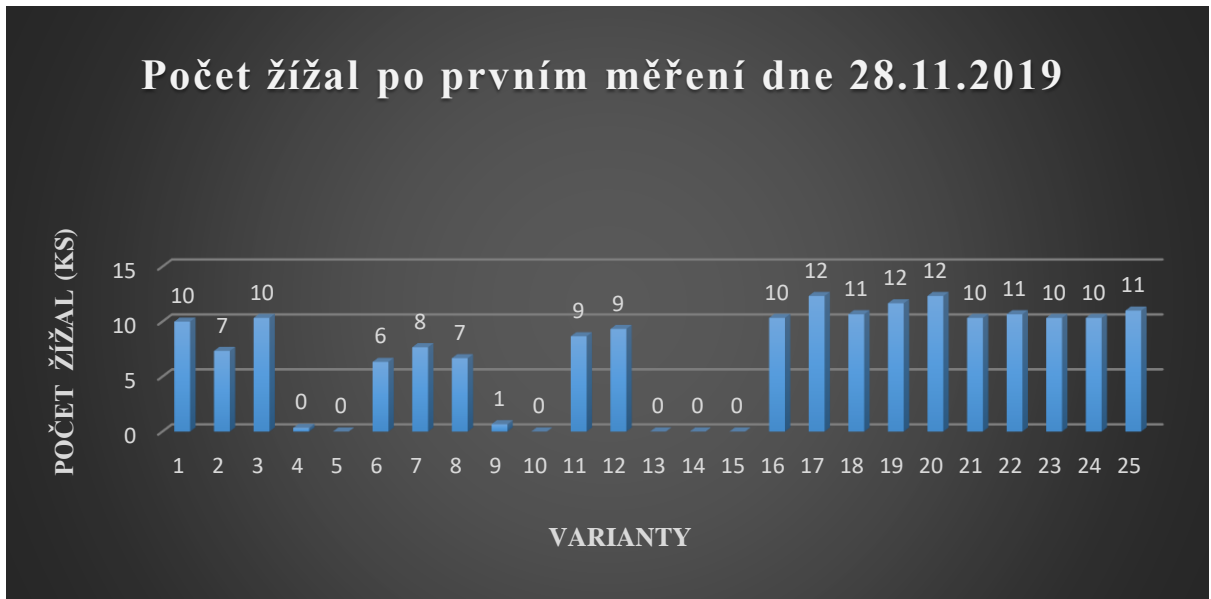
Z tabulky č. 7 vyplývá, že po upravení kalu (č. 1) 0,3 M H₂SO₄ je reálné pH jednotlivých variant odlišné od pH požadovaného. Z výsledků také vyplývá, že nejmenší odchylku od požadovaného pH vykazovaly varianty (23,24,25). Oproti tomu ve variantě č. 16, 17 je zřetelně vysoká odchylka od požadovaného pH.

5.3 Pelety

Žížaly ve všech variantách se 100% zastoupením zůstaly živé. Jedná se o varianty (1,6,11,16,21). Hodnota pH se na začátku pohybovala kolem 7,35 v průběhu celého pokusu bylo pH kolem 7,38 a na konci pokusu kleslo pH na 6,89.

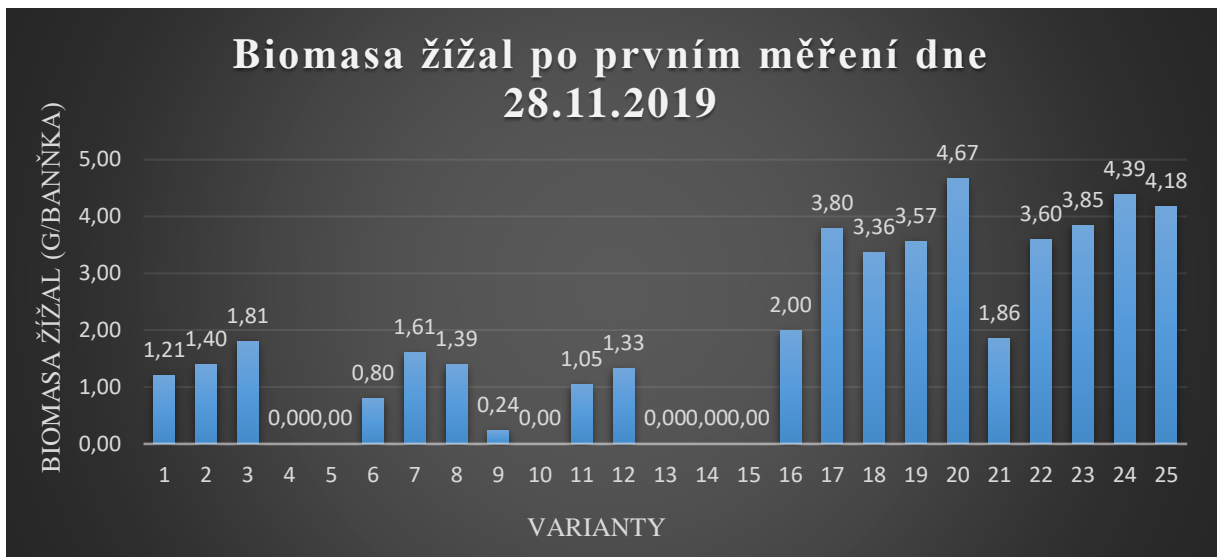
5.4 Přehled počtu a biomasy žížal v rámci pokusu

Graf 1: Graficky znázorněný počet ks žížal po prvním měření



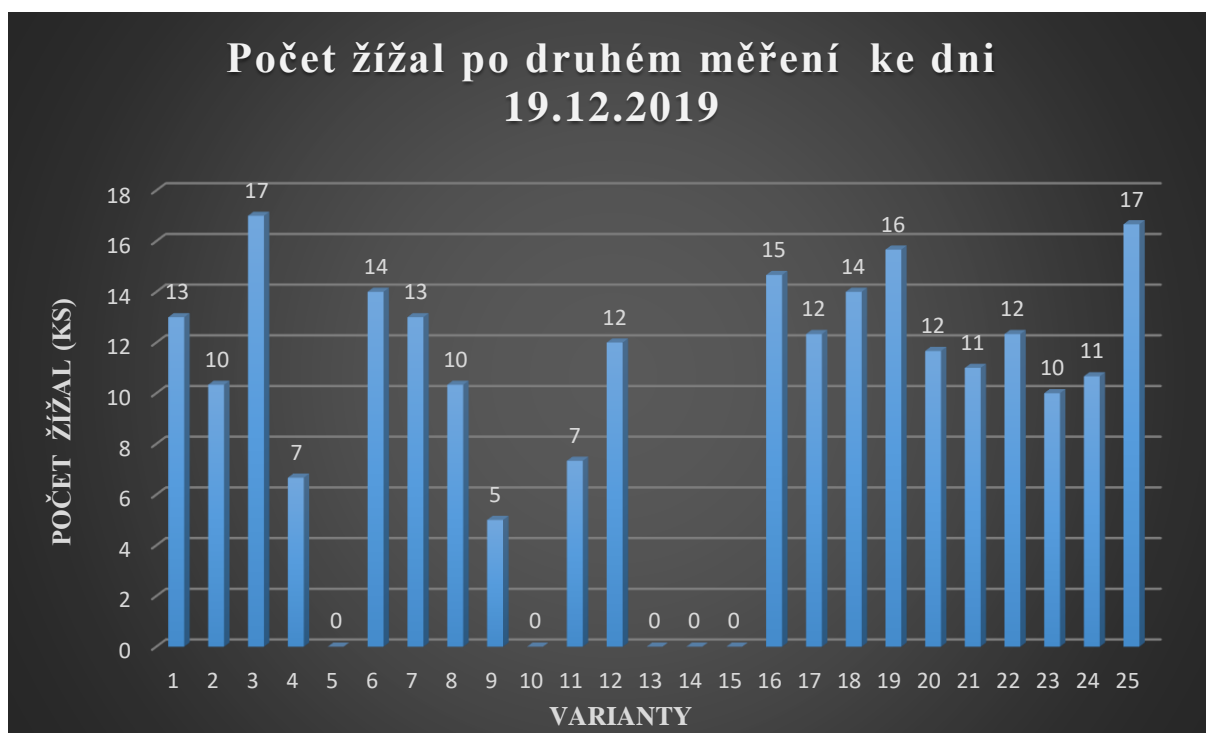
Na grafu č.1 je znázorněn počet ks žížal, které byly spočítány po prvním kontrolním měření. Při zakládání pokusu bylo do každé varianty dáno 10 ks žížal. Ve variantách č. 4, 5, 10, 13, 14, 15 byly všechny žížaly usmrceny a jak je z grafu patrné, jedná se pouze o varianty, které obsahují kal č.2. U ostatních variant, lze vidět mírný úhyn či naopak přírůstek.

Graf 2: Graficky znázorněná biomasa žížal po prvním měření v (g)



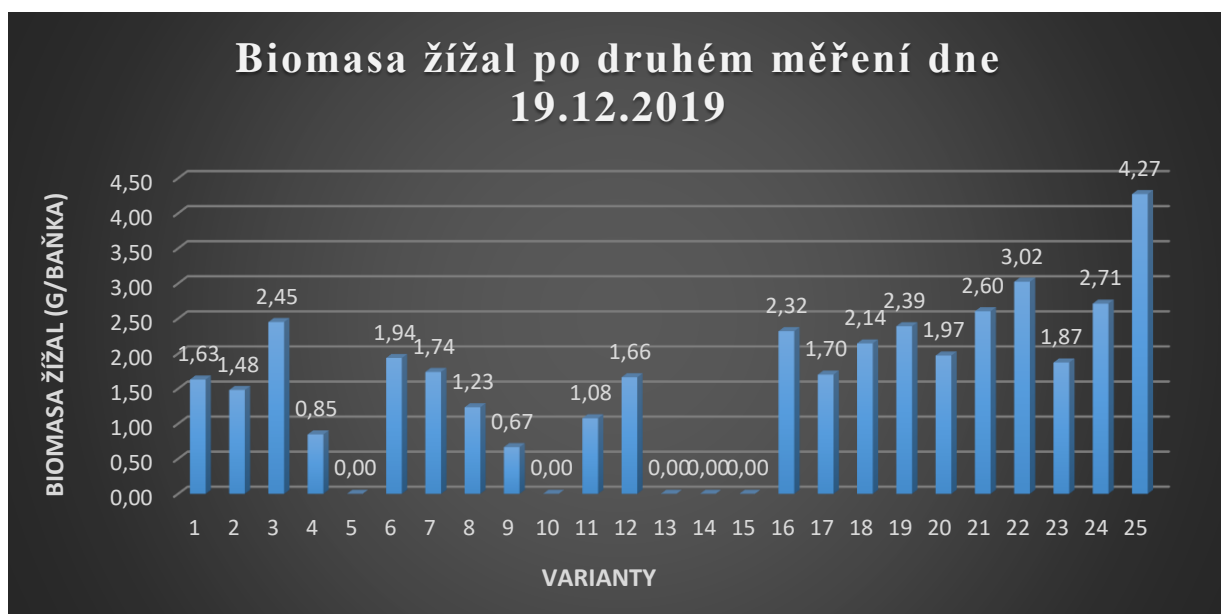
Na grafu č.2 je znázorněna biomasa žížal v g. Průměrná hmotnost 10 ks žížal při zakládání pokusu byla 1,47 g. Na grafu je tak patrné, že žížaly v kalu č.1 zvětšily velmi výrazně svou biomasu ve variantách č. 17,18, 19, 20, 22, 23, 24, 24. Největší nárůst je u varianty č. 20, která má složení 100 % kalu č.1 upraveného na pH 6,0. V ostatních variantách je patrný mírný nárůst biomasy nebo jde naopak o její snížení, které ale mnohdy souviselo s úhynem žížal v dané variantě.

Graf 3: Graficky znázorněný počet ks žížal při druhém měření



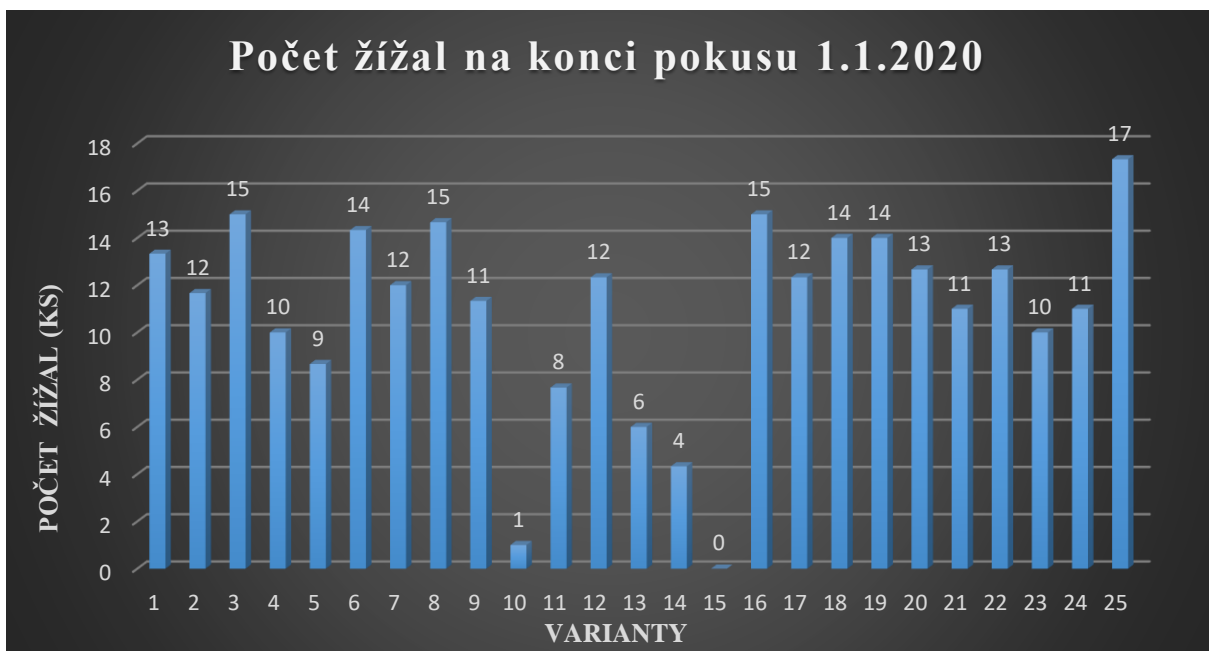
Na grafu č.3 je znázorněn počet ks žížal, které byly spočítány po druhém kontrolním měření. Ve variantách č. 3, 6, 16, 18, 19, 25 je značný nárůst počtu ks žížal. U varianty č.9 je také vidět značný nárůst v počtu ks žížal oproti prvotnímu měření, kde přežil pouze 1 ks. Velmi zajímavý je výsledek u varianty č.4, kde byla při prvním měření naměřena 100% mortalita a při druhém měření bylo zaznamenáno v totožné variantě 7 ks žížal.

Graf 4: Graficky znázorněná biomasa žížal po druhém měření v (g)



Na grafu č.4 je znázorněna biomasa žížal v g. Na grafu je tak patrné, že u žížal v kalu č.1 byl snížen počet biomasy. Varianta č. 16, 21, 25 svou biomasu navýšila oproti ostatním variantám v kalu č.1. Největší propad je u varianty č. 16, 20. Ve variantách kalu č.2 je patrný mírný nárůst biomasy.

Graf 5: Graficky znázorněný počet ks žížal na konci měření



Na grafu č.5 je znázorněn počet ks žížal, které byly spočítány na konci kontrolního měření. Ve variantách č. 4, 5, 10, 13, 14 byl znovu na konci měření objeven život. Pouze varianta č.5 u kalu č.2 s pH hodnotou 8,0 je pro žížaly neslučitelná se životem.

Graf 6: Graficky znázorněná biomasa žížal na konci měření v (g)



Na grafu č.6 je znázorněna biomasa žížal v g. Ve variantách kalu č.1 je vidět mírný nárůst biomasy žížal. I u kalu č.2 je patrný nárůst biomasy.

5.5 Porovnání kalů

Tabulka 8: Vývoj počtu žížal a koncentrace amoniakálního dusíku a volného amoniaku na počátku a na konci experimentu (v mg/kg suché hmoty)

Varianta	Počet žížal na konci experimentu	pH po úpravě	N-NH ₄ ⁺ (mg/kg)	volný amoniak (mg/kg)	pH na konci	N-NH ₄ ⁺ (mg/kg)	volný amoniak (mg/kg)
		Na začátku experimentu			Na konci experimentu		
1	nárůst	7,7	8,5	0,20	6,40	133,0	0,20
2	stagnace	6,5	480,0	0,70	6,40	182,0	0,20
3	nárůst	6,9	1440,0	6,22	7,10	203,0	1,10
4	úbytek	7,2	4330,0	31,90	6,70	165,0	0,40
5	úhyn	6,9	5710,0	22,30	6,50	165,0	0,30
6	nárůst	7,1	23,6	0,20	6,80	153,0	0,50
7	nárůst	7,0	770,0	3,90	7,30	227,0	2,00
8	stagnace	7,2	1900,0	14,80	7,40	278,0	3,40
9	úbytek	7,1	2610,0	17,50	7,10	236,0	1,30
10	úhyn	7,3	6360,0	56,60	7,10	718,0	4,80
11	úbytek	7,8	130,0	4,10	6,60	114,0	0,30
12	nárůst	7,2	660,0	4,80	7,10	81,9	0,50
13	úhyn	7,2	1320,0	9,80	6,80	121,0	0,40
14	úhyn	7,2	1780,0	14,90	7,20	112,0	0,80
15	úhyn	7,9	6320,0	231,00	7,10	104,0	0,60
16	nárůst	7,5	18,1	0,30	7,10	10,9	0,10
17	nárůst	7,2	95,0	0,70	6,80	13,4	0,04
18	nárůst	7,0	72,7	0,40	6,90	24,8	0,10
19	nárůst	7,0	23,7	0,10	6,30	96,2	0,10
20	nárůst	6,9	43,1	0,20	6,20	1390,0	1,00
21	stagnace	7,9	10,5	0,40	7,50	15,4	0,20
22	nárůst	7,6	70,9	1,40	7,20	20,3	0,20
23	stagnace	7,1	47,7	0,30	6,00	45,5	0,02
24	nárůst	7,3	46,2	0,50	6,90	71,1	0,30
25	nárůst	7,2	57,9	0,40	6,10	1470,0	0,80

Počet žížal byl stanoven na konci experimentu a rozdělen do následujících kategorií: 0 ks – úhyn žížal, 1 až 8 ks – úbytek žížal, 9 až 11 kusů – stagnace, 12 a více kusů – nárůst počtu jedinců. Z tabulky jasně vyplývá, že u variant, ve kterých byl použit pouze kal 2 (100 % kalu bez přidavku pelet), došlo k úhynu všech žížal. K úhynu však docházelo už při přidání 50 % kalu a více. Ukazuje nám to i koncentrace amoniakálního dusíku, která v některých variantách přesáhla 1320 mg/kg suché hmoty, respektive koncentrace volného amoniaku přesáhly hodnotu 9,80 mg/kg suché hmoty. Při postupných úpravách pH nejdříve na 7,0 byla zaznamenána stagnace při koncentraci volného NH_3 14,80 mg/kg, úbytek žížal při koncentraci volného amoniaku cca 17 mg/kg. Úprava pH na 6,0 znamenala úhyn žížal při koncentraci volného amoniaku 22 mg/kg. Je tedy patrné, že zvýšená koncentrace NH_3 byla hlavním faktorem, který měl vliv na inhibici žížal v čistírenském kalu. Nebylo možné kal č.2 ani po úpravě (0,3 M H_2SO_4), která měla pH snížit, dostat se na požadované pH, které by bylo vhodné pro přežití žížal. Studie potvrzuje, že nejvyšší obsah NH_3 je v počáteční fázi. Je evidentní, že v průběhu vermikompostování, dochází k poklesu koncentrace N-amon. Následně může docházet i k poklesu hodnoty pH, případně i k těkání NH_3 do atmosféry. Tyto faktory mohou vést k postupnému poklesu koncentrace toxického NH_3 v prostředí materiálu podrobeném vermikompostování. Při porovnání výsledků z 15 variant přiřazených ke kalu 2 došlo k úhynu při všech třech typech pH (varianta 5,10,13,14,15). K úbytku při pH 7,0 (varianta 4,9) a při pH 8 (varianta 11). Nárůst byl zaznamenán při pH 6,0 (varianta 11) a to při zastoupení 50 % kalu, dále při pH 7,0 (varianta 7,12) a to při zastoupení 25 % kalu. Stagnace byla prokázána ve vzorku s upraveným pH na 7,0 (varianta 8). Při porovnání kalu 2 a kalu 10 je zřejmé, že u kalu 10 nedošlo k úhynu či úbytku počtu žížal ve sledovaných variantách. Důvodem může být koncentrace volného amoniaku, která nepřekročila 1,4 mg/kg při koncentraci N-amon nepřevyšující 95 mg/kg. Kal č. 2 prošel procesem termofilní anaerobní stabilizací, oproti tomu kal 11 prošel aerobní stabilizací při níž mohlo dojít v aerobních podmínkách k průběžné transformaci N-amon na N-NO_3 v důsledku nitrifikace. Vysoká koncentrace N-amon byla zaznamenána až na konci vermikompostovacího procesu ve variantách 20 a 25 (až 1470 mg/kg) a i přes určité riziko v podobě koncentrace N-amon, nebyl zaznamenán úhyn. Důvodem může být nízké pH a volný amoniak. Nižší pH vermikompostu může naznačovat, že dochází k intenzivnější rozkladné reakci v procesu vermikompostování. Je tedy nezbytné sledovat v průběhu procesu kromě NH_3 i pH, teplotu.

6 Diskuze

V této studii byla průkazně dokázána schopnost žížal žít a být aktivní v prostředí obsahujícím čistírenský kal. Ke shodnému výsledku ve svých studiích dospěli i Míchal et al. (2019) a Yang et al. (2014). Hlavním faktorem, který ovlivňuje úspěšnost pokusu, je to, jaký typ kalu použijeme pro studii. V této práci byl použit kal z čistírny odpadních vod č.1 a č.2. Na začátku zakládání pokusu byl použit druh žížaly *Eisenia andrei*. Žížaly odpovídající stejné hmotnosti a délky byly dány do 75 variant. V jednotlivých variantách bylo možné pozorovat výrazné odlišnosti. Například v kalu č.2 byly v rámci celého pokusu žížaly menší, některé až do šediva zbarvené. Oproti tomu kal č.1 žížalám nabídl zřetelně lepší zdroj organického materiálu a žížaly byly dle výsledků velké, „masité“ a temně rudě zbarvené viz obrázek č.10 a č.11. Výsledky studie Li et al. (2020) dospěly k závěru, že přidání přebytečného aktivovaného kalu do vermikompostovaného substrátu z ovoce a zeleniny v poměru 1:1 zlepšilo výživu a vývoj žížal. Je tedy evidentní, že složení jednotlivých kalů úměrně odráželo reakci žížal na vhodnost prostředí. Např. studie Ludibeth et al. (2012) uvádí, že při poměru 90:10 (kal: kravskému hnoji) se snížilo přežití žížal na 79 % oproti ostatním variantám, kde byly poměry 70:30 a 80:20. Carbonell et al. (2009) dodává, že velmi záleží na typu kalu, který je přidáván, např. u průmyslového čistírenského kalu byla prokázána přítomnost toxických chemikálií (těžké kovy a organické chemikálie), jako jsou léčiva, hormonální disruptory, pesticidy, které se staly potenciálním rizikem pro půdní organismy. Je tedy zřejmé, že vzhled, barva a přírůstek biomasy žížal je závislý na podmínkách prostředí a na složení kalu viz grafy č.2, 4 a 6, na kterých je názorně ukázáno, že pro žížaly atraktivnější a vhodnější je kal č.1, ve kterém byl pozorován velký nárůst biomasy žížal a výraznější zbarvení. I co se do počtů týče viz graf č.1, 3 a 5, byl kal č.1 úspěšnější než kal č.2. Ke stejným závěrům došla i studie Yang et al. (2014), ve které hmotnostní přírůstek žížal naznačil, že se žížaly živí určitou organickou hmotou, a to napomáhá organické stabilizaci pro vermikompostování. V případě, že je populace žížal vysoká, proces rozkladu organické hmoty se zrychluje (Martínez 1997). Kromě toho, úbytek hmotnosti žížal byl zapříčiněn nedostatkem organických surovin, jelikož se postupně snižoval se zpracováním (Yang et al. 2014). Autor Yang et al. (2014) dále uvádí, že žížaly ve vermikompostéru asimilovaly zdroje organického uhlíku pro jejich růst a reprodukci. Je tedy patrné, že podíl kalu ve směsích ovlivnil reprodukci žížal (Ludibeth et al. 2012). Pokud jde o celkové zhodnocení nárůstu biomasy, ve variantách zastoupených 100 % pelet je přírůstek zejména u varianty č. 11 naopak nižší než při založení pokusu. Ve variantách č.1, 6 je mírný nárůst biomasy a u č.16, 21 jde o nárůst zřetelně vyšší. Dále stojí za zmínku zastoupení 100 % kalu č.1 ve variantě č.20 s pH 6 a variantě č. 25 s pH 7. Zde je patrné optimální prostředí pro nárůst biomasy. Oproti tomu v kalu č.2 je se 100% zastoupením ve variantě č.5 s pH 6,0, variantě č. 10 s pH 7,0 a variantě č.15 s pH 8,0 jen nízký přírůstek biomasy, ne-li nulový. Velký vliv na žížaly mělo však i pH, které je znázorněno v tabulce č.6 a č.7. Přesto, že pH vždy nedosahovalo extrémních hodnot, pro žížaly smrtelných, z výsledků je patrné, že podmínky pro život žížal v některých variantách nebyly zcela vhodné. Jedná se například o variantu č.4, kdy bylo skutečné pH 7,2, variantu č.5, kde skutečné pH dosahovalo 6,9, variantu č.13 s pH 7,2 a jiné, které zastupovaly kal č.2. Podle studie Singha & Suthara (2012) může rozdíl v pH odrážet stupeň mineralizace organické hmoty při různých úpravách. V příloze č.16 a č.17 je názorně v grafech ukázána změna pH, která u jednotlivých variant kolísá či stoupá s odstupem

času 4 týdnů. Nižší pH naznačuje viz příloha č.17, že se ve vermikompostu rozkládá více organických látek např. varianta č.20 s pH 6,17, varianta č.23 s pH 6,04 a varianta č.25 s pH 6,06. Vermikompost je tedy prospěšný ke stabilizaci organických odpadů prostřednictvím vzájemného působení žížal a mikrobů (Yang et al. 2014). Dalším důležitým faktorem, který ovlivňoval organickou stabilitu vermikompostování byl poměr C:N (Sharma & Garg 2018b), který je spojován s rychlostí rozkladu a mineralizací organické hmoty (Kaushik & Garg 2003) za působení žížal a jejich přidružené mikroflóry (Suthar 2010b). Výsledky prezentované v této diplomové práci vedou k předpokladu, že chemickou formou dusíku působící negativně na žížaly je NH_3 , který vykazuje zvláště silný inhibiční efekt nejen vůči nim, ale i vůči řadě dalších organismů. Dle příloh č. 18, 19, 20 je velmi patrné v rámci celého pokusu postupný úbytek NH_3 s časovým odstupem. Některé varianty na začátku měření vykazovaly velmi vysoké hodnoty např. varianta č.10 s 6,2 ppm a varianta č.15 s 7,8 ppm oproti variantám ostatním např. varianta č.18 s 0,8 ppm a varianta č.20 s 0,9 ppm viz příloha č. 18. Je tedy patrné, že za mortalitu žížal v čistírenském kalu může dle výsledků mnou prezentovaných, a i závěrů výsledků ostatních studií, vliv NH_3 . Ve studii Kızılkaya & Türkay (2014) žížaly nedokázaly přežít v substrátu s 60 % anaerobního kalu kvůli vysoké koncentraci N-amon a Zn. Dle další studie provedené Hartensteinem & Mitchellem (1978) byl anaerobně stabilizovaný kal shledán jako akutně toxický např. pro příbuznou žížalu *Eisenia fetida* a následně toxicita vymizela až po dvou měsících, kdy byl kal ponechán na vzduchu. Tyto studie společně s výsledky diplomové práce tedy naznačují ústup toxicity substrátu při zanechání směsí na vzduchu v delším časovém horizontu. Z výsledku této studie je také možné vyvozovat dle grafu č.3 znovuosídlení baněk varianty č.4 a č.9 žížalami z důvodu zlepšení podmínek pH a následnému poklesu NH_3 vzhledem k odstupu času a způsobu provádění pokusu. Další možností může být únik žížal z okolních variant a následné rozmnožení. Dalším důležitým faktorem, který ovlivnil reprodukci a s ní spojenou mortalitu, byl N-amon viz tabulka č. 8. Hanč et al. (2011) konstatuje, že žížaly mohou přežívat v kalu při koncentraci N-amon při cca 200 mg na 1 kg suché hmoty. Oproti tomu Edwards (1988) uvedl, že organické odpady obsahující hodně N-amon ($> 500 \mu\text{g g}^{-1}$) nebo velká množství organických solí jsou toxické pro žížaly. Vyšší koncentrace N-amon (ale i NH_3) v kalu č.2 na počátku procesu vermikompostování byla zřejmě zapříčiněna akumulací N-amon v kalu v průběhu anaerobní stabilizace v důsledku mineralizace organického dusíku obsaženého v surovém kalu, výsledky se ztotožňují se studii Dohányos et al. (1998) a Jeníček et al. (2013). Nitrifikace a denitrifikace jsou nejdůležitější složkou pro transformaci dusíku ve vermikompostu (Yang et al. 2014). Je evidentní, že v průběhu vermikompostování dochází k poklesu koncentrace N-amon v důsledku průběhu nitrifikace. Ke stejnému závěru došla i studie Hanč et al. (2017). V našem pokusu z hlediska populační dynamiky žížal, vysoký podíl čistírenských kalů zapříčinil smrt *Eisenia andrei*. Studie Kaushik & Garg (2003) dokládá stejné závěry, avšak pro *Eisenia fetida*, a jako příčinu uvádějí pravděpodobně nedostatek kyslíku a toxicitu po amonifikaci v čerstvém kalu z čistíren odpadních vod (Carbonell et al. 2009). Nezastupitelná role žížal v procesu vermikompostování je uváděna např. u autorů Singh & Suthar (2012) a Sharma & Garg (2018b). Vermikompostování jako proces biochemické degradace organických materiálů (Fu et al. 2015), se společným působením žížal a mikroorganismů za aerobních podmínek může většinu organických složek efektivně přeměnit na cenné produkty bohaté na dusík, fosfor, draslík a huminové látky (Lv et al. 2016). Výsledky dokazují, že žížaly hrají důležitou roli

v dostupnosti živin v přírodních a zemědělských ekosystémech (Jiménez et al. 2003; Brossard et al. 1996; Decaëns et al. 1999; Garg & Gupta 2006). A jejich přítomnost a schopnost degradovat těžké kovy a jiné polutanty znečištění přispívá k lepšímu životnímu prostředí (Villar et al. 2016). Hromadění znečišťujících látek (zejména těžkých kovů) se však stalo klíčovým faktorem omezujícím např. aplikaci kalu na zemědělskou půdu (Verlicchi & Zambello 2015). Ve studiích Maňáková et al. (2014) a Lv et al. (2016) byl pozorován výrazně vyšší celkový obsah těžkých kovů v důsledku snížení obsahu vermikompostovaného materiálu, a proto je imobilizace nebo odstraňování těžkých kovů velmi důležitá pro recyklaci kalu jako hnojiva nebo úpravy půdy (Fytli & Zabaniotou 2008). Vermikompostování kalu se široce používá ke stabilizaci kovů v kalu (Gogoi et al. 2015; Camargo et al. 2016). Autoři studií Lv et al. (2016) dále He et al. (2016) a Goswami et al. (2014) naznačují, že vermikompostování může výrazně přispět i ke snížení mobility těžkých kovů transformací ve vodě rozpustných nebo vyměnitelných frakcí kovů na frakce reziduální. Bohužel v naší studii se dospělo k závěru, že není možné čistírenský kal č.2 použít samostatně v procesu vermikompostování, pokud jeho pH nebude upraveno na optimálnější, tedy např. v rozmezí 6,8 až 7,2 (Sherman 2003). Samotný neupravený kal poškozuje růst a redprouckci žížal díky nízkému poměru C:N a vysokému zasolení a obsahu těžkých kovů (Lim et al. 2016). K zajištění úspěšného vermikompostování čistírenského kalu tedy existuje několik vhodných externích materiálů, které po smísení mohou zmírnit toxicitu kalu. V řadě studií byl čistírenský kal mísen s doplňkovými materiály, jako jsou: biochar, sláma, popílek, piliny, pelety, houbový substrát či hnůj, které by mohly účinně snížit obsah N-amon a těžkých kovů v průběhu vermikompostování (Gogoi et al. 2015; He et al. 2016; Meng et al. 2017; Suleiman et al. 2017). Je ovšem velmi zvláštní, že dle výsledků diplomové studie viz tabulka č.6 a č.7, bylo počáteční pH u variant č.1,6,11,16,21 se 100% zastoupením slaměných pelet vždy rozdílné, ačkoliv se jednalo o pelety totožné. Zdá se však, že je reálné v průběhu vermikompostování čistírenského kalu, resp. jeho směsi s dalšími substráty, docílit stavu, při kterém bude možné udržet aktivitu žížal i při velmi vysokém podílu kalu v substrátu či dokonce i v případě, že kal by byl jediným substrátem.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo identifikovat faktory, které působí inhibičně na aktivitu žížal v čistírenském kalu a brání tak jeho úspěšnému vermikompostování. Hypotéza č.1 byla potvrzena. Tedy vysoká koncentrace amoniakálního dusíku při relativně vysoké hodnotě pH kalu a z ní plynoucí toxický efekt NH_3 měl negativní vliv na životaschopnost žížal. Příkladem byl čistírenský kal č.2, který svým vysokým pH a NH_3 nevyhovoval žížalám a byl pro ně mnohdy i smrtelný. To potvrzuje úhyn žížal ve variantách se zastoupením 100 % kalu, ale i při zastoupení 50 % kalu a 50 % slaměných pelet. Oproti tomu potvrzení hypotézy č.2 nebylo zcela 100%. Jelikož zvyšující se přídavek slaměných pelet k čistírenskému kalu příznivě ovlivnil počet žížal a množství jejich biomasy, ale jen v některých variantách se zastoupením 25 % slaměných pelet a 75 % kalu, 50 % slaměných pelet a 50 % kalu a 100 % slaměných pelet. Oproti tomu ve variantách 75 % slaměných pelet a 25 % kalu byl shledán úbytek biomasy či úhyn žížal. Jako nejvhodnější kal byl shledán kal č.1, který zajistil žížalám optimální prostředí z hlediska dostatečného množství organické hmoty, příznivého pH v rozmezí 6,9 – 7,9, celkově nízkou koncentraci NH_3 , jejíž nejvyšší hodnota byla 2 ppm, která byla naměřena po založení pokusu. Nejvyšší hodnota naměřeného N-amon při založení pokusu dosahovala 95,5 (mg/kg). Oproti tomu kal č.2 byl pro žížaly optimální až při razantnější úpravě pH, která však v ojedinělých případech nestačila k životaschopným podmínkám žížal. Příkladem může být 100% zastoupení kalu č.2 s pH 6,9, kde byla potvrzena 100% mortalita. Dále pak vzhledově žížaly nevykazovaly známky příznivého prostředí a koncentrace NH_3 a N-amon byla výrazně vyšší než u kalu č.1. Kdy nejvyšší naměřená koncentrace NH_3 dosahovala 7,8 ppm po založení pokusu a nejvyšší naměřený N-amon dosahoval 6360 (mg/kg). Dle mého názoru pro validnější a aplikovanější závěry vyvozené z tohoto výzkumu by bylo zapotřebí provést sofistikovanější statistické analýzy, zejména kvůli zahrnutí dalších environmentálních faktorů, které mohou ovlivňovat výsledky plynoucí z této diplomové práce. Dále by bylo vhodné do budoucích let provést výzkum, který se bude zaměřovat konkrétněji na žížaly a obsah těžkých kovů a jiných polutantů, které v procesu degradace do sebe vstřebávají.

8 Seznam literatury

- Adams M. 1995. Fundamentos de Química de Suelos. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Venezuela, pp. 255-270.
- Aira, M., Monry, F., Domínguez, J. 2006. Changes in microbial biomass and microbial activity of pig slurry after the transit through the gut of the earthworm *Eudrilus eugeniae* Kinberg, 1867. *Biology and fertility of soils* 42: 371-376.
- Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TBS, Srinath EG. 1976. *J. Water Pollut. Control Fed.* 48, 835.
- Appelhof M, Olszewski J. 2017. *Worms eat my garbage* 35th anniversary edition. Storey Publishing, North Adams, MA. ISBN 1612129471.
- Azizi AB, Choy MY, Noor ZM, Noorlidah A. 2015. Effect on heavy metals concentration from vermicomposition of agro-waste mixed with landfill leachate. *Waste Manage.* 38, 431–435. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.01.020>.
- Bondarczuk K, Markowicz A, Piotrowska-Seget Z. 2016. The urgent need for risk assessment on the antibiotic resistance spread via sewage sludge land application. *Environ. Int.* 87, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.11.011>.
- Brossard M, Lavallo P, Laurent J. 1996. Digestion of a vertisol by the endogenic earthworm (*Polypheretina elongata*) *Megascoleuropeana*. *J. of Soil Biol.*, 32: 107-111.
- Cai YM, Gu LY. 2014. Temperature and Humidity Control System of Digital Treatment Earthworm Bioreactor based on SVM and MPC. *Current Biotechnology* 1: 10
- Camargo FP, Tonello PS, dos Santos ACA, Duarte ICS. 2016. Removal of toxic metals from sewage sludge through chemical, physical, and biological treatments – a review. *Water Air Soil Pollut.* 227 (12), 433.
- Carbonell G, Gómez P, Babín M, Fernández C, Alonso E, Tarazona JV. 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organism. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 72: 1309-1319.
- Contreras-Ramos SM, Escamilla-Silva EM, Dendooven L. 2005. Vermicomposting of biosolids with cow dung and oat straw. *Biol. Fertil. Soils.* 41: 190-198.
- Contreras-Ramos SM, Alvarez-Bernal D, Dendooven L. 2008. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil amended with biosolid or vermicompost in the presence of earthworms (*Eisenia fetida*). *Soil Biol. Biochem.* 40: 1954–1959.

Česká republika. Zákon č.185 ze dne 14. června 2001. Zákon České republiky o odpadech a o změně některých dalších zákonů, částka 71/2001. Available from (<http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/100196448.html>) (acesseed June 2020)

Dayananda D, Giraddi R, Gali K. 2008. Effects of salt and sewage water on the survival and reproduction of three earthworms species used in vermicomposting. *K. J. Agri. Sci.*, 21 (1): 52-54.

Decaëns T, Rangel AF, Asakawa N, Thomas RJ, Lavelle P. 1999. Carbon and nitrogen dynamics in ageing earthworm casts in grasslands of the Eastern plains of Colombia. *Biol. Fertil. Soils*, 30: 20-28.

Dohányos M, Koller J, Strnadová N. 1998. Čištění odpadních vod. Vyd. 2. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 80-7080-316-9.

Dohányos M. c1998. Anaerobní čistírenské technologie. NOEL 2000, Brno. ISBN 80-86020-19-3.

Dohányos M. 2006. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom.cz*. Available from <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu>. (Acceseed June 2020). ISSN: 1801-2655.

Dominguez J. 2004. State of the art and new perspectives in vermicomposting research. In: Edwards C. A. (ed). *Earthworm Ecology*. CRC Press. Boca Raton. 401–425.

Dominguez J, Edwards CA. 2011. Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicomposting. *Vermiculture Technology*. 2011(3): 27–40

Dominguez J, Edwards CA. 2011. *Vermiculture Technology*. (Edwards CA, Arancon N, Sherman R, eds.), kap. 3. CRC Press, USA.

Dominguez J, Edwards CA. 2011b. Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. Pages 25-37 in Arancon NQ, Sherman RL, editors. *Vermiculture Technology, Earthworms, Organic Wastes and Environmental Management*. CRC Press, Boca Raton.

Edwards CA. 1988. Breakdown of Animal, Vegetable and Industrial Organic Wastes by Earthworms. In *Earthworms in Waste and Environmental Management*, edited by C.A. Edwards and E.F. Neuhauser, pp. 21–31. The Hague: SPB, Academic Publishing.

Edwards CA, Bohlen PJ. 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*. Chapman a hall. London: Springer Science & Business Media. ISBN 0-412-56160-3.

Edwards CA. c2004. *Earthworm ecology* 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Fla. ISBN 08-493-1819-x.

- Edwards CA, Arancon NQ, Sherman RL. c2011. Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. CRC Press, Boca Raton. ISBN 978–1–4398–0987–7.
- Fernández-Gómez MJ, Nogales R, Insam H, Romero E, Goberna M. 2010. Continuous-feeding vermicomposting as a recycling management method to revalue tomato-fruit wastes from greenhouse crops. *Waste Management* **30**:2461-2468. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X10003466> (accessed June 29, 2020).
- Fytily D, Zabaniotou A. 2008. Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods – a review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 12, 116–140.
- Fu X, Huang K, Chen X, Li F, Cui G. 2015. Feasibility of vermistabilization for fresh pelletized dewatered sludge with earthworms *Bimastus parvus*. *Bioresour. Technol.* 175, 646–650.
- Gajalaskhmi S, Abbasi SA. 2004. Earthworms and vermicomposting. *Indian Journal of Biotechnology* 3: 486-494.
- Garg P, Gupta A, Satya S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. *Biores. Technol.*, 97: 391-395.
- Garg VK, Gupta R. 2009. Vermicomposting of agro-industrial processing waste. In: Singh nee' Nigam P, Pandey A. (eds.). *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation*. Springer. Dordrecht. 431-456. ISBN 978-1-4020-9941-0.
- Gogoi A, Biswas S, Bora J, Bhattacharya SS, Kumar M. 2015. Effect of vermicomposting on copper and zinc removal in activated sludge with special emphasis on temporal variation. *Ecohydrol. Hydrobiol.* 15 (2), 101–107.
- Goswami L, Sarkar S, Mukherjee S, Das S, Barman S, Raul P, Mandal NC, Bhattacharya S, Bhattacharya SS. 2014. Vermicomposting of tea factory coal ash: metal accumulation and metallothionein response in *Eisenia fetida* (Savigny) and *Lampito mauritii* (Kinberg). *Bioresour. Technol.* 166, 96–102.
- Govindappa M, Rajan SS, Manoharan A. 2015. Importance of application of vermicompost and cultural practices on growth and development of young Arabica coffee (*Coffea arabica*). *Intern. J. Scientific Research and Education.* 3: 2778-2787.
- Granofyt s.r.o. 2020. Granofyt. Available from https://www.granofyt.cz/granofyt-slamena-podestylka-14-kg_z2366/(accessed June 2020)
- Gunadi B, Edwards CA, 2003. The effects of multiple applications of different organic wastes on the growth, fecundity, and survival of *E. Fetida* (Savigny) (Lumbricidae). *Pedobiology* 47: 321–329.

- Hanč A, Tlustoš P, Száková J, Balík J. 2007. Změna pohyblivosti kadmia a zinku v čistírenských kalech. *Chemicke listy*, roč. 101, č. 10, s. 807 - 810. ISSN: 0009-2770.
- Hanč A, Plíva P. Vermikompostování – perspektivní způsob nakládání s bioodpady. *Odpadové fórum*, 2010, roč. 11, č. 9, s. 32-32. ISSN: 1212-7779.
- Hanč A, Vašák F, Švehla P. 2011. Racionální použití hnojiv, Praha – Česká republika (Vaněk V., Balík J., Pavlíková D., Tlustoš P., ed), str. 88.
- Hanč A, Plíva P. 2013. Vermikompostování bioodpadů: (certifikovaná metodika). Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. ISBN 978-80-213-2422-0.
- Hanč A, Ohecová P, Vašák F. 2017. Changes of parameters during composting of bio-waste collected over four seasons. *Environmental technology*, roč. 38, č. 13-14, s. 1751-1764. ISSN: 0959-3330.
- Hartenstein R, Mitchell MJ. 1978. Utilization of Earthworms and Microorganisms in Stabilization, Decontamination and Detoxification of Residual Sludges from Treatment of Wastewater. Final Report. US Department of Commerce, National Technical Information Services, PB 286018, Springfield, Virginia, 34 pp.
- Hartig K. 2017. Problematika kalového hospodářství - termická destrukce kalů. *Vodní hospodářství*. Čkyňě: Vodní hospodářství, spol. s r.o., 67(5), 3-7.
- Hartman M, Svoboda K, Veselý V, Trnka O, Chour J. 2003. Tepelná zpracování čistírenských kalů. *Chemické listy*, roč. 97, č.10, s.976-982.
- He X, Zhang Y, Shen M, Zeng G, Zhou M, Li M. 2016. Effect of vermicomposting on concentration and speciation of heavy metals in sewage sludge with additive materials. *Bioresour. Technol.* 218:867–73. doi:10.1016/j.biortech.2016.07.045.
- Heckmann LH, Hovgaard MB, Sutherland DS, Autrup H, Besenbacher F, Scott-Fordsmand JJ. 2011. Limit test toxicity screening of selected inorganic nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology* 20, 226–233.
- Heggelund LR, Diez-Ortiz M, Lofts S, Lahive E, Jurkschat K, Wojnarowicz J, Cedergreen N, Spurgeon D, Svendsen C. 2014. Soil pH effects on the comparative toxicity of dissolved zinc, non-nano and nano ZnO to the earthworm *Eisenia fetida*. *Nanotoxicology* 8, 559–572.
- Hill GB, Baldwin SA, Vinnerås B. 2013. *Waste Manage.* 33, 1602.
- Hohenberger E. 1999. *Půda, kompost, hnojení*. 1. vyd. Praha: Euromedia Group. 80 s.
- Horáková, M., et al., 2003. *Analytika vody*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

- Chakole PS, Jasutkar DB. 2014. Comparative study of nirmalya solid waste treatment by vermicomposting and artificial aeration composting. *Current World Environment* 9: 412.
- Chudoba J, Wanner J, Dohányos M. 1991. Biologické čištění odpadních vod: vysokoškolská příručka pro vysoké školy chemicko-technologické. SNTL, Praha. ISBN 80-03-00611-2.
- Ip, YK, Chew SF, Randall DJ. 2001. Ammonia toxicity, tolerance, and excretion. *Fish Physiology*, 20, 109-148.
- Jeníček P, Kutil J, Beneš O, Todt V, Záborská J, Dohányos M. 2013. Energy self-sufficient sewage wastewater treatment plants: is optimized anaerobic sludge digestion the key? *Water Science & Technology*, 68 (8) 1739-1744.
- Jiménez, JJ, Cepeda A, Decaëns T, Oberson A, Friesen DK. 2003. Phosphorus fractions and dynamics in surface earthworm casts under native and improved grassland in a Colombian savanna Oxisol. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 715-727.
- Jing R, Fusi S, Chan A, Capozzi S, Kjellerup BV. 2019. Distribution of polychlorinated biphenyls in effluent from a large municipal wastewater treatment plant: potential for bioremediation? *J. Environ. Sci.* 78, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.06.007>.
- Joshi R, Vig AP. 2010. Effect of vermicompost on growth, yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L). *African Journal of Basic & Applied Sciences*. 2 (2-3). 117-123.
- Kalina M. 2004. Kompostování a péče o půdu 2. upr. vyd. Grada, Praha. ISBN 80-247-09074.
- Kalina M. 2016. Hnojení půdy a kompostování v zahradě. Grada Publishing. Praha. 128 s. ISBN: 978-80-247-5848-0.
- Karimi H, Mokhtari M, Salehi F, Sojoudi S, Ebrahimi A. 2017. Changes in microbial pathogen dynamics during vermicomposting mixture of cow manure-organic solid waste and cow manure-sewage sludge. *Int. J. Recycl. Org. Waste Agric.* 6, 57–61. <https://doi.org/10.1007/s40093-016-0152-4>.
- Kathyayani SA, Poornima M, Sukumaran S, Nagavel A, Muralidhar M. 2019. Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 184. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651319309571> (accessed July 15, 2020).
- Kaushik P, Garg VK. 2003. Vermicomposting of mixed textile mill sludge and cow dung with epigeic earthworm *Eisenia foetida*. *Biores. Technol.*, 90 (3):311-316.

- Khan MB et al. 2019. Preincubation and vermicomposting of divergent biosolids exhibit vice versa multielements stoichiometry and earthworm physiology, *Journal of Environmental Management*, Volume 243, pages144-56. ISSN 0301-4797.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.116>
- Khan MB, Cui X, Jilani G, Lazzat U, Zehra A, Hamid Y, Hussaina B, Tanga L, Yang X, Hed Z. 2019. *Eisenia fetida* and biochar synergistically alleviate the heavy metalscontent during valorization of biosolids via enhancing vermicompost quality. *Sci. Total Environ.* 684, 597–609.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.370>.
- Kiyasudeen, SK, Ibrahim MK, Quaik S, Ismail SA. 2016. *Prospects of Organic Waste Management and the Significance of Earthworms* [online]. Cham: Springer International Publishing, s. 259. ISBN 9783319247069.
- Kızılkaya R, Türkay FŞH. 2014. Vermicomposting of Anaerobically Digested Sewage Sludge with Hazelnut Husk and Cow Manure by Earthworm *Eisenia foetida*. *Compost Science & Utilization* **22**:68-82. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1065657X.2014.895454> (accessed June 29, 2020).
- Le Bayon RC, Binet F. 2006. Earthworms change the distribution and availability of phosphorous in organic substrates. *Soil Biol. Biochem.* 38 (2):235–46. doi:10.1016/ j.soilbio.2005.05.013.
- Li L, Wu J, Tian G, Xu Z. 2009. Effect of the transit through the gut of earthworm (*Eisenia fetida*) on fractionation of Cu and Zn in pig manure. *J. Hazard Mater.* 167,634–640.
- Li W, Bhat SA, Li J, Cui G, Wei Y, Yamada T, Li F. 2020. Effect of excess activated sludge on vermicomposting of fruit and vegetable waste by using novel vermireactor. *Bioresource Technology* **302**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852420300857> (accessed June 29, 2020).
- Lim SL, Lee LH, Wu TY. 2016. Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. *Journal of Cleaner Production* **111**: 262-278
- Liu X, Hu Ch, Zhang S. 2005. Effects of earthworm activity on fertility and heavy metal bioavailability in sewage sludge. *Environ. Inter.*, 31: 874-879.
- Lores M, Gómez-Brandón M, Domínguez J, Pérez-Díaz D. 2006. Using FAME profiles for charakterization of animal wastes and vermicomposts. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2993-2996.

- Ludibeth S-M, Marina I-E, Vicenta EM. 2012. Vermicomposting of Sewage Sludge: Earthworm Population and Agronomic Advantages. *Compost Science & Utilization* **20**:11-17. Available from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1065657X.2012.10737016> (accessed June 29, 2020).
- Lv B, Xing M, Yang J. 2016. Speciation and transformation of heavy metals during vermicomposting of animal manure. *Bioresour. Technol.* 209, 397–401.
- Lv B, Zhang D, Chen Q, Cui Y. 2019. Effects of earthworms on nitrogen transformation and the correspond genes (amoA and nirS) in vermicomposting of sewage sludge and rice straw. *Bioresource Technology* **287**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419306583> (accessed July 16, 2020).
- Maková J, Javoreková S, Elbl J, Medo J, Hricáková N, Kováčik P. 2019. Impact of vermicompost on biological indicators of the quality of soil under maize in a greenhouse experiment. *J. Elem.* 24 (1), 319–330. <https://doi.org/10.5601/jelem.2017.22.4.1548>.
- Malińska K, Zabochnicka-Świątek M, Cáceres R, Marfà O. 2016. The effect of precomposted sewage sludge mixture amended with biochar on the growth and reproduction of *Eisenia fetida* during laboratory vermicomposting. *Ecological Engineering* **90**: 35-41.
- Malińska K, Golan'ska M, Caceres R, Rorat A, Weisser P, S'lezak E. 2017. Biocharamendment for integrated composting and vermicomposting of sewage sludge—the effect of biochar on the activity of *Eisenia fetida* and the obtained vermicompost. *Bioresour. Technol.* 225, 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.049>.
- Malý J, Hlavínek P. 1996. Čištění průmyslových odpadních vod. Vyd. 1. Brno: NOEL 2000, 255 s. ISBN 80-86020-05-3.
- Malý J, Malá J. 1996. *Chemie a technologie vody*. NOEL 2000, Brno. ISBN 80-86020-13-4.
- Maňáková B, Kuta J, Svobodová M, Hofman J. 2014. Effects of combined composting and vermicomposting of waste sludge on arsenic fate and bioavailability. *J. Hazard. Mater.* 280, 544–551.
- Meng L, Li W, Zhang S, Wu C, Lv L. 2017. Feasibility of co-composting of sewage sludge, spent mushroom substrate and wheat straw. *Bioresour. Technol.* 226, 39–45.
- Marcinčák P. 2015. Matolína a žížaly, ideální kombinace. *Vinařský obzor* 108. Svaz vinařů České republiky. Velké Bílovice.
- Marina I-E, Ludibeth S-M, Vicenta EM. 2014. Phosphorus release kinetics in a soil amended with biosolids and vermicompost. *Environmental Earth Sciences*. 2014(3):1441–1451.

- Martínez, CC. 1997. Potencial de la lombricultura. Ed. Texcoco. Texcoco, pp. 35-38.
- Ministerstvo životního prostředí. Vyhláška č. 437 ze dne 23. prosince 2016. Vyhláška Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě, ve znění pozdějších předpisů, částka 178/2016. Česká republika. Available from (<http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/102275321.html>) (accessed June 2020)
- Ministerstvo zemědělství. Vyhláška č. 474 ze dne 29. prosince 2000. Vyhláška Ministerstva zemědělství o stanovení požadavků na hnojiva, částka 137/2000. Česká republika. Available from (<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-474>) (accessed June 2020)
- Míchal P, Hanč A, Švehla P. 2019. Inhibiční vliv amoniakálního dusíku při vermikompostování čistírenského kalu a možnosti jeho potlačení. Waste Forum, roč. 12, č. 2, s. 144-152. ISSN: 1804-0195.
- Munroe G. 2007. Manual of on-farm vermicomposting and vermiculture. EcoAction program of environment Canada. Organic Agriculture Centre of Canada. p 56.
- Nagar K. 2007. The Complete Technology Book On Vermiculture And Vermicompost. National Institute Of Industrial Research, Delhi, India.
- Nagavallema, KP, Wani SP, Lacroix S, Padmaja VV. 2004. Vermicomposting: Recycling Wastes into Valuable Organic Fertilizer. Global Theme on Agroecosystems Report 8.
- Najjari F, Ghasemi S. 2018. Changes in chemical properties of saw-dust and blood powder mixture during vermicomposting and the effects on the growth and chemical composition of cucumber. Sci. Hortic. 232, 250–255.
- Ndegwa PM, Thompson SA. 2000. Effects of C-to-N ratio on vermicomposting of biosolids. Bioresource technology 75: 7-12.
- Nigussie A, Kuyper TW, Bruun S, Neergaard A. 2016. Vermicomposting as a technology for reducing nitrogen losses and greenhouse gas emissions from small-scale composting. Journal of Cleaner Production. 139. 429–439.
- Niir B. 2004. The complete technology book on vermiculture and vermicompost. Delhi: National Institute of Industrial Research, India.
- Panday R, Basen BB, Shatt PS, Tamrakar AS. 2014. Bioconcentration of heavy metals in vermicomposting earthworms (*Eisenia fetida*, *Perionys excavates* and *Lampito mauritii*) in Nepal. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 3 (5), 416–418.
- Pandit NP, Maheshwari SK. 2012. Optimization of vermicomposting technique for sugarcane waste management by using *Eisenia fetida*. International Journal of Biosciences 2:143-155.

- Pecl K. Jednička mezi hnojivy Vermikompost. *Zahradnictví*. 2007, č. 8, s. 24. ISSN 1213-7596.
- Munroe G. 2007. Manual of on-farm vermicomposting and vermiculture. EcoAction program of environment Canada. Organic Agriculture Centre of Canada. p 56.
- Pižl V. 2018. Žížaly a jejich role v půdě. *Veronica: časopis pro ochranu přírody a krajiny*. Č. 1, s. 22–24. Available from (www.casopisveronica.cz/clanek.php?id=2117)
- Plíva P. 2006. Zakládání, průběh a řízení kompostovacího procesu. Praha: Výzkumný ústav zemědělské techniky. ISBN 80-86884-11-2.
- Plíva P, Hanč A. 2011. Jak vyrábět vermikompost? *Komunální technika* 2011(5):41–45.
- Pommeresche R. 2010. Žížaly a jejich význam pro zlepšování kvality půdy. Olomouc: Bioinstitut. ISBN 978-80-87371-02-2.
- Prakash M, Karmegam N. 2010. Vermistabilization of pressmud using *Perionyx ceylanensis* Mich. *Bioresource Technology* **101**:8464-8468. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852410009600> (accessed June 29, 2020).
- Pramanik P, Ghosh GK, Ghosal PK, Banik P. 2007. Changes in organic – C, N, P and K and enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants. *Bioresource Technology* 98: 2485-2494.
- Pytl V. c2012. Příručka provozovatele čistírny odpadních vod 2. vyd. Medim pro SOVAK ČR, Líbeznice. ISBN 9788087140260. Available from (<https://www.sovak.cz/cs/clanek/sovak-cr-k-nakladani-s-cistirenskymi-kaly>)
- Qin C, Jin B, Tang Y, Liu H, Hu Q, Zheng P, et al. 2016. Effect of vermicompost on some physiological attributes involved in carbon and nitrogen metabolism as well as nutrient status in leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Pak. J. Bot.* 48, 1799–1803.
- Rosińska A, Karwowska B. 2017. Dynamics of changes in coplanar and indicator PCB in sewage sludge during mesophilic methane digestion. *J. Hazard. Mater.* 323, 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.016>.
- Rostami R. 2011. Vermicomposting. In: Kumar, S. (Ed.). *Integrated waste management – volume II*. InTech. ISBN 978-953-307-447-4. Available from: <https://www.intechopen.com/books/howtoreference/integrated-waste-management-volume-ii/vermicomposting>
- Scott N. 2006. *Kompostování pro všechny*. 1. vyd. Náměšť nad Oslavou: ZERA. 32 s.

- Sharma K, Garg VK. 2018a. Vermicomposting: a green technology for organic waste management. In: Waste to Wealth. Springer, Singapore, pp. 199-235
- Sharma K, Garg VK. 2018b. Comparative analysis of vermicompost quality produced from rice straw and paper waste employing earthworm *Eisenia fetida* (Sav.). *Bioresour. Technol.* 250, 708e715. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.101>.
- Sherman, R. 2003. Raising Earthworms Successfully. Available from: <https://www.bae.ncsu.edu/topic/vermicomposting/pubs/earthworms.pdf> (accessed February 2020)
- Schelfhout S, Mertens J, Verheyen K, Vesterdal L, Baeten L, Muys B, De Schrijver A. 2017. Tree species identity shapes earthworm communities. *Forests* 8 (3), 85.
- Sims RW, Gerard BM. 1985. Earthworms: keys and notes for the identification and study of the species. London: Published for the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-Water Sciences Association by E.J. Brill. ISBN 90-040-7582-8.
- Singh NB, Khare AK, Bhargava DS, Bhattacharya S. 2005. Effects of initial substrate pH on vermicomposting using *Perionyx excavatus*. *Applied Ecology and Environmental Research* 4:85-97.
- Singh D, Suthar S. 2012. Vermicomposting of herbal pharmaceutical industry solid wastes. *Ecol. Eng.* 39, 1–6.
- Sinha RK, Herat S, Valani D, Chauhan K. 2009. The concept of sustainable agriculture: an issue of food safety and security for people, economic prosperity for the farmers and ecological security for the nations. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences.* 5. 1-55.
- Sinha RK, Agarwal S, Chauhan K, Valani D. 2010. The wonders of earthworms & its vermicompost in farm production: Charles Darwin's 'friends of farmers', with potential to replace destructive chemical fertilizers. *Agricultural sciences* 1: 76.
- Sims RW, Gerard BM. 1985. Earthworms: keys and notes for the identification and study of the species. London: Published for the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-Water Sciences Association by E.J. Brill. ISBN 90-040-7582-8.
- Slejška A. 1999. Vermikompostování. *Regena.* Č. 5, s. 19. ISSN 1212-2289.
- Srivastava PK, Singh PC, Gupta M, Sinha A, Vaish A, Shukla A, Singh N, Tewari SK. 2011. Influence of earthworm culture on fertilization potential and biological activities of vermicomposts prepared from different plant wastes. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science.* 2011(174): 420–429.

- Suleiman H, Rorat A, Grobelak A, Grosser A, Milczarek M, Płytycz B, Kacprzak M, Vandembulcke F. 2017. Determination of the performance of vermicomposting process applied to sewage sludge by monitoring of the compost quality and immune responses in three earthworm species: *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei* and *Dendrobaena veneta*. *Bioresour. Technol.* 241, 103–112.
- Sulzberger R. 1998. *Compost and Vermihumus*. BLV München, NDR
- Suthar S, Singh S. 2008. Feasibility of vermicomposting in biostabilization of sludge from a distillery industry. *Sci. Total Environ.* 394 (2–3), 237–243.
- Suthar S. 2010b. Recycling of agro-industrial sludge through vermitechnology. *Ecol. Eng.* 36 (8):1028–36. <https://doi:10.1016/j.ecoleng.2010.04.015>.
- Suthar S. 2009. Vermicomposting of vegetable-market solid waste using *Eisenia fetida*: Impact of bulking material on earthworm growth and decomposition rate. *Ecological Engineering* 35:914–920. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925857409000135> (accessed June 29, 2020).
- Suthar S, Mutiyar PK, Singh S. 2012. Vermicomposting of milk processing industry sludge spiked with plant wastes. *Bioresour. Technol.* 116:214–19. doi:10.1016/j. biortech.2012.03.101
- Swati A, Hait S. 2017. Fate and bioavailability of heavy metals during vermicomposting of various organic wastes -A review. *Process Saf. Environ. Protect.* 109, 30–45. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.03.031>.
- Švarc P, Kula E. 2011. Earthworm (Lumbricidae) assemblages of forest ecosystems in the anthropogenically disturbed area of the eastern Ore Mountains (Czech Republic). *Journal of Forest Science*, 57 (6): 250–258.
- Švehla P, Bartáček J, Páček L, Hrnčířová H, Radechovský J, Hanč A, Jeníček P. 2014. Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid on nitrite-oxidising bacteria during sludge liquor treatment: influence of feeding strategy. *Chemical Papers-Chemické zvesti, roč. 68, č. 7, s. 871-878*. ISSN: 0366-6352.
- Tharmaraj K, et. al. 2011. Vermicompost – A Soil Conditioner cum Nutrient Supplier. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*; 2(6):1615-1620. ISSN 0976 – 3333
- Tiwari P. 2014. Utilization and management of floral waste generated in popular temples of Jaipur city. [PhDs. Thesis]. The IIS University, Jaipur, Indie.
- Tognetti C, Laos F, Mazzarino MJ, Hernandez MT. 2013. Composting vs. Vermicomposting: a comparison of end product quality. *Compost science and Utilization* 13: 6-13.

- Turovskii IS, Mathai PK. c2006. Wastewater sludge processing. Wiley-Interscience, Hoboken, N.J. ISBN 978-0-471-70054-8.
- Váňa J. 1994. Výroba a využití kompostů v zemědělství. Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství České republiky, Praha. ISBN 80-7105-075-X.
- Váňa J. 1997. Výroba a využití kompostů v zemědělství. 2. vyd. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, Praha. ISBN 80-7105-144-6.
- Velicogna JR, Schwertfeger DM, Jesmer AH, Scroggins RP, Princz JI. 2017. The bioaccumulation of silverin *Eisenia andrei* exposed to silver nanoparticle sand silver nitrate in soil. *Nano Impact* 6,11–18.
- Verlicchi P, Zambello E. 2015. Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: occurrence and environmental risk in the case of application on soil – a critical review. *Sci. Total Environ.* 538, 750–767.
- Villar I, Alves D, Pérez-Díaz D, Mato S. 2016. Changes in microbial dynamics during vermicomposting of fresh and composted sewage sludge. *Waste Manage.* 48, 409–417.
- Vítěz T, Groda B. 2008. Čištění a čistírny odpadních vod. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno. ISBN 978-80-7375-180-7.
- Wang F, Wang H, Li S, Diao X. 2019. Effects of earthworms and effective microorganisms on the composting of sewage sludge with cassava dregs in the tropics. *Journal of the Air & Waste Management Association* 69:710-716. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10962247.2018.1552215> (accessed July 16, 2020).
- Wu DM, Yu XL, Chu SS, Jacobs DF, Wei XH, Wang C, Long FL, Chen XY, Zeng SC. 2018. Alleviation of heavy metal phytotoxicity in sewage sludge by vermicomposting with additive urban plant litter. *Sci. Total Environ.* 633, 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.167>.
- Yadav A, Garg VK. 2011. Recycling of organic wastes by employing *Eisenia fetida*. *Bioresource Technology.* 102. 2874-2880.
- Yang J, Lv B, Zhang J, Xing M. 2014. Insight into the roles of earthworm in vermicomposting of sewage sludge by determining the water-extracts through chemical and spectroscopic methods. *Bioresour. Technol.* 154, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.023>.
- Yilmaz Cincin RG, Agdag ON. 2019. Co-vermicomposting of Wastewater Treatment Plant Sludge and Yard Waste: Investigation of Operation Parameters. *Waste and Biomass Valorization.* Available at <http://link.springer.com/10.1007/s12649-019-00900-w> (accessed June 29, 2020).

- Yuvaraj A, Thangaraj R, Maheswaran R. 2019. Decomposition of poultry litter through vermicomposting using earthworm *Drawida sulcata* and its effect on plant growth. *International Journal of Environmental Science and Technology* **16**:7241-7254. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s13762-018-2083-2> (accessed June 29, 2020).
- Zajonc I, 1992. Chov žížal a výroba vermikompostu, Animapress, Povoda, 64 s. ISBN 80-85567-07-5.
- Zhang J, Sugir ME, Li Y, Yuan L, Zhou M, Lv P, Yu Z, Wang L, Zhou D. 2019. Effects of vermicomposting on the main chemical properties and bioavailability of Cd/Zn in pure sludge. *Environmental Science and Pollution Research* **26**:20949-20960. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11356-019-05328-2> (accessed June 29, 2020).
- Zhao C, Wang Y, Wang Y, Wu F, Zhang J, Cui R, Wang L, Mu H. 2018. Insights into the role of earthworms on the optimization of microbial community structure during vermicomposting of sewage sludge by PLFA analysis. *Waste Management* **79**:700-708. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X18305294> (accessed June 29, 2020).

9 Seznam obrázků

Obrázek 1: Poměr C:N u jednotlivých surovin.....	9
Obrázek 2: Eisenia andrei	12
Obrázek 3: Eisenia fetida	12
Obrázek 4: Schéma mechanického čištění.....	16
Obrázek 5: Schéma biologického čištění.....	16
Obrázek 6: Schéma zpracování čistírenského kalu.....	17
Obrázek 7: Slaměné pelety	22
Obrázek 8: Umístění jednotlivých baněk do písku	23
Obrázek 9: Kapková zvlaha na pokusných baňkách.....	23
Obrázek 10: Varianta kalu č.2	27
Obrázek 11: Varianta kalu č.1	27

10 Seznam tabulek

Tabulka 1: Nejvyšší přípustné koncentrace vybraných rizikových prvků v hnojivech mg/kg suché hmoty (organická a statková hnojiva se sušinou nad 13 %).....	8
Tabulka 2: Obsah živin v % sušiny vermikompostu a kompostu.....	14
Tabulka 3: Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě mg/kg suché hmoty.....	21
Tabulka 4: Schéma pokusu	24
Tabulka 5: Vlhkost jednotlivých substrátů	24
Tabulka 6: Schéma vermikompostovacího experimentu.....	28
Tabulka 7: Schéma vermikompostovacího experimentu.....	29
Tabulka 8: Vývoj počtu žížal a koncentrace amoniakálního dusíku a volného amoniaku na počátku a na konci experimentu (v mg/kg suché hmoty)	36

11 Seznam grafů

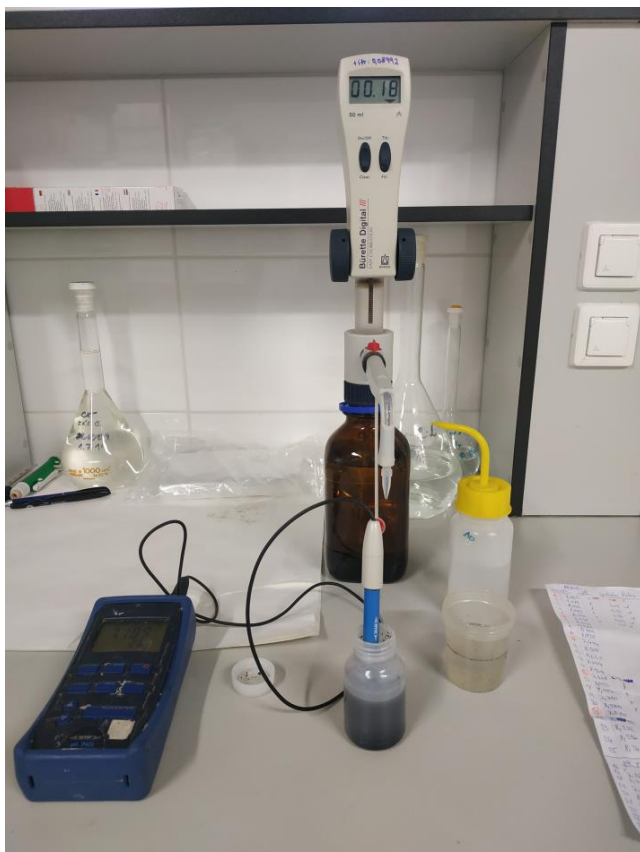
Graf 1: Graficky znázorněný počet ks žížal po prvním měření	30
Graf 2: Graficky znázorněná biomasa žížal po prvním měření v (g)	31
Graf 3: Graficky znázorněný počet ks žížal při druhém měření	32
Graf 4: Graficky znázorněná biomasa žížal po druhém měření v (g).....	33
Graf 5: Graficky znázorněný počet ks žížal na konci měření	34
Graf 6: Graficky znázorněná biomasa žížal na konci měření v (g)	35

12 Samostatné přílohy

Příloha 1: Příprava jednotlivých variant



Příloha 2: Titrace pomocí 0,3 M H₂SO₄



Příloha 3: Znázorněné původní pH jednotlivých variant, které je postupně upravováno pomocí H₂SO₄ na požadované pH

	Původní pH	pH na které chci stanovit	Spotřeba H ₂ SO ₄ v ml	pH na které chci stanovit	Spotřeba H ₂ SO ₄ v ml	pH na které chci stanovit	Spotřeba H ₂ SO ₄ v ml
1.	7,474	8	x	7	x	6	0,38
2.	8,343	8	x	7	x	6	0,72
3.	8,53	8	0,18	7	0,31	6	1,51
4.	8,518	8	0,2	7	0,66	6	2,41
5.	8,298	8	0,22	7	0,98	6	3,12
6.	7,26	8		7		6	
7.	8,243	8		7		6	
8.	8,429	8		7		6	
9.	8,442	8		7		6	
10.	8,319	8		7		6	
11.	7,352	8		7		6	
12.	8,255	8		7		6	
13.	8,39	8		7		6	
14.	8,383	8		7		6	
15.	8,435	8	0,3	7	1,18	6	3,06
16.	7,332	8	x	7	x	6	0,38
17.	7,017	8	x	7	x	6	0,6
18.	6,856	8	x	7	x	6	0,8
19.	6,726	8	x	7	x	6	0,71
20.	6,687	8	x	7	x	6	0,51
21.	7,351	8		7		6	
22.	7,123	8		7		6	
23.	6,862	8		7		6	
24.	6,695	8		7		6	
25.	6,712	8		7		6	

Příloha 4: Schéma úpravy pH pomocí 0,3 M H₂SO₄ na 200 g substrátu

Úprava pH pomocí H ₂ SO ₄		2.11.2019
na 200 g substrátu použito toto množství		
1.	na pH 6	7,22 ml
2.	na pH 6	13,68 ml
3.	na pH 6	21,85 ml
4.	na pH 6	45,79 ml
5.	na pH 6	59,28 ml
6.	na pH 7	-
7.	na pH 7	-
8.	na pH 7	5,89 ml
9.	na pH 7	12,54 ml
10.	na pH 7	18,62
11.	na pH 8	-
12.	na pH 8	-
13.	na pH 8	3,42 ml
14.	na pH 8	3,8 ml
15.	na pH 8	4,18 ml
16.	na pH 6	7,22 ml
17.	na pH 6	11,4 ml
18.	na pH 6	15,2 ml
19.	na pH 6	13,49 ml
20.	na pH 6	11,21 ml
21.	na pH 7	-
22.	na pH 7	-
23.	na pH 7	-
24.	na pH 7	-
25.	na pH 7	-

Příloha 5: Navažování jednotlivých vzorků do textilní sítky



Příloha 6: Navážený vzorek



Příloha 7: Měření pH a NH₃



Příloha 8: Centrifuga na odstředění vzorků



Příloha 9: Začátek stanovení sušiny před vysušením



Příloha 10: Výsledek stanovení sušiny po usušení



Příloha 11: Sušení vzorku v sušárně



Příloha 12: Stanovení N-amon



Příloha 13: Měření obsahu N-amon v jednotlivých variantách



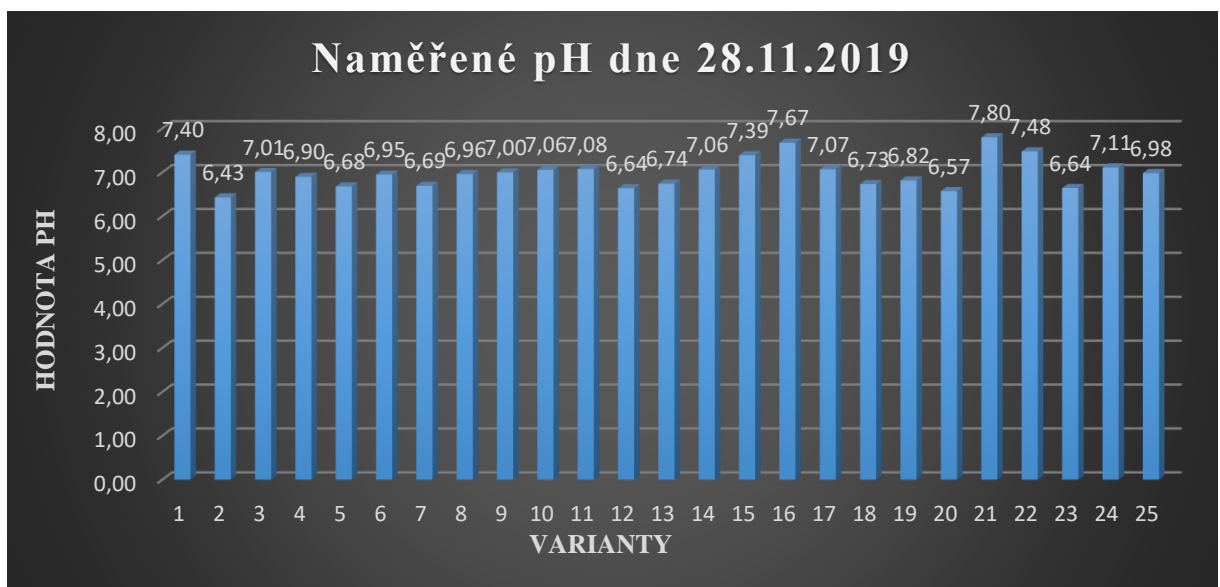
Příloha 14: Varianta 5a se 100% kalu č.2 a upraveným pH na č.8. po prvním týdnu od založení pokusu



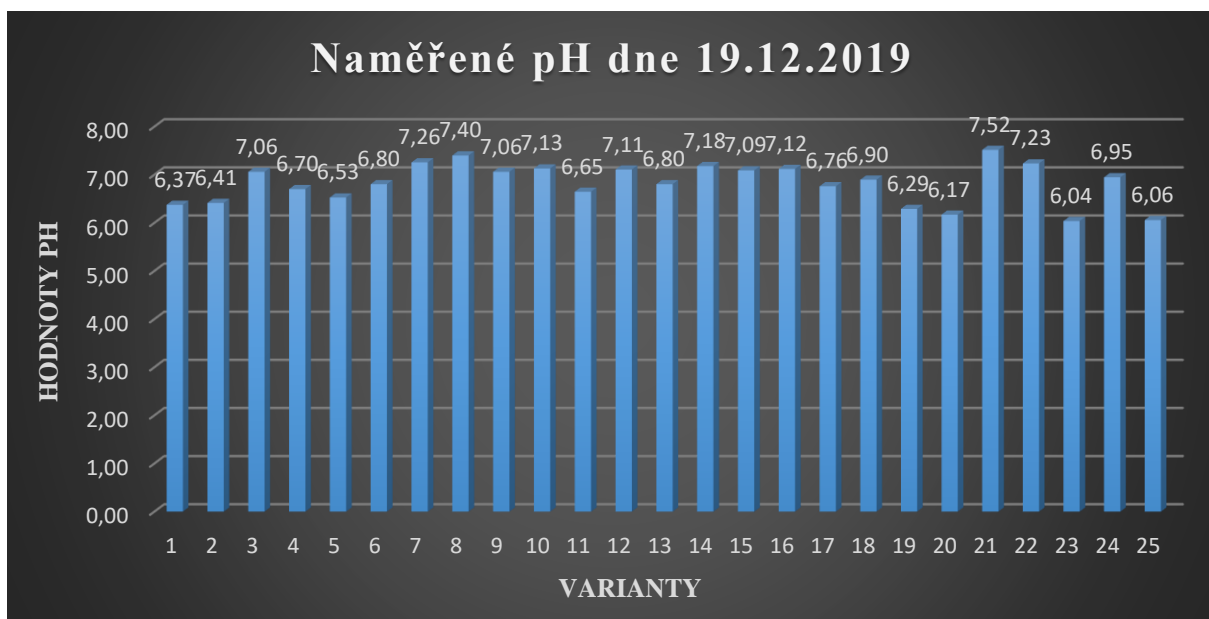
Příloha 15: Varianta 10a se 100 % kalu č.2 a upraveným pH na č.7 po 4. týdnech od založení pokusu



Příloha 16: Naměřené hodnoty pH ze dne 28.11.2019



Příloha 17: Naměřené hodnoty pH ze dne 19.12.2019



Příloha 18: Naměřené NH₃ po založení pokusu 2.11.2019

Varianta	a	b	c	průměr	odchylka
1	1,5	1,2	3	1,9	0,96
2	1	0,9	1,5	1,1	0,32
3	0,7	1	0,9	0,9	0,15
4	1,8	2,4	2,1	2,1	0,30
5	2,2	1,4	5,6	3,1	2,23
6	1,5	0,9	1	1,1	0,32
7	0,9	1,3	1	1,1	0,21
8	1,9	1,5	2,7	2,0	0,61
9	2,2	3,7	3,6	3,2	0,84
10	6,5	4,4	7,6	6,2	1,63
11	2,1	2,3	1,7	2,0	0,31
12	1,4	1,5	1,5	1,5	0,06
13	3,1	2,9	2,7	2,9	0,20
14	6,1	5,9	6	6,0	0,10
15	7,5	6,5	9,4	7,8	1,47
16	1,6	1,4	2,1	1,7	0,36
17	0,6	1,2	2,1	1,3	0,75
18	0,4	1,3	0,7	0,8	0,46
19	0,8	1,5	1	1,1	0,36
20	0,8	0,5	1,3	0,9	0,40
21	1	0,9	1	1,0	0,06
22	2	1,5	1,4	1,6	0,32
23	2	1,7	1,6	1,8	0,21
24	2	1	1,5	1,5	0,50
25	2	1,7	2	1,9	0,17

Příloha 19: Naměřené NH₃ v průběhu pokusu 25.11.2019

Varianta	a	b	c	průměr	odchylka
1	0,2	0,4	0,3	0,3	0,10
2	0,3	0,4	0	0,2	0,21
3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,06
4	0	0	0,5	0,2	0,29
5	0	0	0	0,0	0,00
6	1	0,4	0,3	0,6	0,38
7	0,2	0	0,3	0,2	0,15
8	0,3	0	0,2	0,2	0,15
9	0	0,3	0	0,1	0,17
10	0	0	0	0,0	0,00
11	0,1	0,2	0,2	0,2	0,06
12	0,2	0,2	0,3	0,2	0,06
13	0	0	0,5	0,2	0,29
14	0	0	0	0,0	0,00
15	0	0	0	0,0	0,00
16	0,2	0,3	0,6	0,4	0,21
17	0,4	0,2	0,3	0,3	0,10
18	0,5	0,3	0,4	0,4	0,10
19	0,4	0,5	0,3	0,4	0,10
20	0,6	0,6	0,4	0,5	0,12
21	0,2	0,3	0,5	0,3	0,15
22	0,2	0,3	0,2	0,2	0,06
23	0,3	0,1	0,4	0,3	0,15
24	0,4	0,5	1	0,6	0,32
25	0,1	0,1	0,4	0,2	0,17

Příloha 20: Naměřené NH₃ po v průběhu pokusu 12.12.2019

Varianta	a	b	c	průměr	odchylka
1	0	0	0	0,0	0,00
2	0	0	0	0,0	0,00
3	0	0	0	0,0	0,00
4	0	0	0	0,0	0,00
5	0	0	0	0,0	0,00
6	0	0	0	0,0	0,00
7	0	0	0	0,0	0,00
8	0	0	0	0,0	0,00
9	0	0	0	0,0	0,00
10	0	0	0	0,0	0,00
11	0	0	0	0,0	0,00
12	0	0	0	0,0	0,00
13	0	0	0,1	0,0	0,06
14	0	0	0	0,0	0,00
15	0	0	0	0,0	0,00
16	0	0	0	0,0	0,00
17	0	0	0	0,0	0,00
18	0	0	0	0,0	0,00
19	0	0	0	0,0	0,00
20	0	0	0	0,0	0,00
21	0	0	0	0,0	0,00
22	0	0	0	0,0	0,00
23	0	0	0	0,0	0,00
24	0	0	0	0,0	0,00
25	0	0	0	0,0	0,00