MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

AGRONOMICKÁ FAKULTA

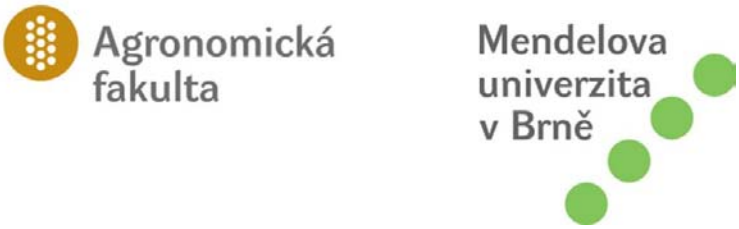
DISERTAČNÍ PRÁCE

BRNO 2015 **MARKÉTA ŽÁKOVÁ**

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství



Možnosti využití vybraných bezobratlých v odpadovém hospodářství

Disertační práce

Školitelka:

doc. Ing. Marie Borkovcová, Ph.D.

Vypracovala:

Mgr. Ing. Markéta Žáková

Brno 2015

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma Možnosti využití vybraných bezobratlých v odpadovém hospodářství vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.*

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

dne …… podpis ……..……

PODĚKOVÁNÍ

Velice děkuji vedoucí své disertační práce doc. Ing. Marii Borkovcové, Ph.D. za ochotnou pomoc, výbornou spolupráci, milý lidský přístup, odborné vedení a podnětné připomínky při vypracování této disertační práce a při realizaci experimentů.

Poděkování patří i Mgr. Blance Maňákové a doc. RNDr. Jakubu Hofmanovi, Ph.D. za spolupráci při určování těžkých kovů a především odlišný pohled (chemický i ekotoxní) na problematiku zpracovávání biologicky rozložitelných odpadů.

Za zajištění odpadních materiálů děkuji Ing. Petru Trávníčkovi, Ph.D., Ing. Tomáši Koutnému, Ing. Janě Ševčíkové a paní Marii Slavíkové. Za poskytnuté fotografie děkuji Ing. Vladimíru Hulovi, Ph.D. a Bc. Ing. Janě Niedobové, Ph.D.

Poděkování patří i akreditovanému pracovišti ve Zlíně za stanovení přítomnosti patogenních mikroorganismů.

Zpracovaná disertační práce byla finančně podpořena z prostředků specifického vysokoškolského výzkumu prostřednictvím projektu IGA AF č. IP14/2012, IGA AF č. TP4/2012 a IGA AF č.TP 6/2013. Za finanční podporu děkuji.

ABSTRAKT

Název: Možnosti využití vybraných bezobratlých v odpadovém hospodářství

Autor: Mgr. Ing. Markéta Žáková

Biologicky rozložitelný odpad (BRO) je nejčastěji zpracováván kompostováním anebo anaerobní fermentací, ovšem ne vždy je svým složením vhodný pro tyto postupy. Proto bylo cílem disertační práce zjistit, jaké jsou možnosti a následky využití bráněnek *Hermetia illucens* (dále HI) v odpadovém hospodářství České republiky. Za účelem splnění cílů práce bylo vybráno celkem 14 druhů odpadů. Jako nejvhodnější odpady pro redukování larvami HI byly zjištěny odpady rostlinných pletiv, kuchyňský odpad, odpad z vývařoven, hnůj, kvalitně i nekvalitně vytříděný komunální BRO. Dále bylo zjištěno, že kalifornské žížaly jsou vhodnější pro vytváření hnojiva, naopak bráněnky HI jsou vhodnější pro redukci BRO. Pro používání HI pro redukci odpadů jsou vhodné podmínky uzavřených prostor, kde jsou zajištěny vhodné teploty vzduchu. V redukovaném substrátu nebyla dle ČSN EN ISO 6579 zjištěna přítomnost bakterií rodu *Salmonella*. V rámci stanovení koncentrace těžkých kovů v larvách, ve vstupním BRO, ve zbylém substrátu a v larvách po konzumaci BRO a také bioakumulačního faktoru (BAF) pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO bylo zjištěno, že larvy jako případné krmivo pro hospodářská či zájmová zvířata je z pohledu obsahu těžkých kovů vhodné živit na odpadu rostlinných pletiv či zahradním odpadu. K akumulaci antimonu a kadmia docházelo především v larvách krmených separátem z BPS, zahradním odpadem, odpadem rostlinných pletiv i drůbežím trusem. Výsledným doporučením je zahrnout larvy HI do systému nakládání s odpady, ač v uzavřených prostorách.

Klíčová slova: bráněnka *Hermetia illucens*, kalifornské žížaly, biologicky rozložitelný odpad, redukce odpadu, těžké kovy, bioakumulace

ABSTRACT

Title: The possibility of using selected invertebrates in waste management

Author: Mgr. Ing. Markéta Žáková

Biodegradable waste (BDW) is most commonly processed by composting or anaerobic fermentation, but its composition is not always suitable for these procedures. Therefore, the aim of this dissertation thesis was to find out what possibilities and consequences of using Stratiomyidae *Hermetia illucens* (HI) in the waste management of the Czech Republic are. In order to meet the objectives of this thesis a total of 14 different types of waste has been selected. Plant tissue waste, kitchen waste, waste from soup kitchens, manure, poor quality and culled municipal biodegradable waste were found as the best types of waste for being reduced by HI larvae. Furthermore, it was found that Californian earthworm are more suitable for producing fertilizers, conversely HI are suitable for reducing BDW. The most favourable conditions for HI so that they are able to reduce waste are enclosed spaces with appropriate air temperatures. Presence of bacteria *Salmonella* was not detected in accordance with ČSN EN ISO 6579 in the reduced substrate. When measuring the concentration of heavy metals in larvae, in the input BDW, the remaining substrate and the larvae after consumption BDW and determining the bioaccumulation factor (BAF) for larvae HI fed by individual types of BDW, it was found that larvae that would be potential feed for livestock or hobby animals from the perspective of heavy metal content, would have to be fed by plant tissue waste or garden waste. The accumulation of antimony and cadmium occur particularly in larvae fed by separates from biogas plant (BPS), garden waste, plant material and poultry droppings. The final recommendation is to include HI larvae into the waste management system of the Czech republic, although in enclosed spaces.

Keywords: Stratiomyidae *Hermetia illucens*, Californian earthworms, biodegradable waste, reduction of waste, heavy metals, bioaccumulation

OBSAH

1 ÚVOD 8
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED 9
2.1 VYBRANÉ DRUHY BEZOBRATLÝCH 11
2.1.1 Žížaly vhodné pro vermikompostování 11
2.1.2 Bráněnka *Hermetia illucens* 17
2.2 VERMIKOMPOSTOVÁNÍ A POUŽÍVÁNÍ BLACK SOLDIER FLY 21
2.2.1 Aktuální stav ve světě 23
2.2.2 Aktuální stav v České republice 29
2.3 VYMEZENÍ LEGISLATIVY V OBLASTI BRO 31
2.3.1 Legislativní rámec EU 31
2.3.2 Legislativní rámec ČR 42
2.4 TĚŽKÉ KOVY A BIOAKUMULAČNÍ FAKTOR (BAF) 45
2.5 RIZIKA NAKLÁDÁNÍ S BIOLOGICKY ROZLOŽITELNÝM MATERIÁLEM 48
3 CÍL PRÁCE 53
4 MATERIÁL A METODIKA 54
Použití bezobratlí 54
4.1 METODIKA PRO STANOVENÍ VHODNÝCH ODPADNÍCH MATERIÁLŮ PRO REDUKCI LARVAMI HI 54
4.1.1 Použité odpadní materiály 55
4.1.2 Vlastní postup 56
4.2 METODIKA SROVNÁNÍ ROZKLADNÉ AKTIVITY VYBRANÝCH BEZOBRATLÝCH 58
4.2.1 Použitý odpadní materiál 58
4.2.2 Vlastní postup 58
4.3 METODIKA SROVNÁNÍ LABORATORNÍCH A PROVOZNÍCH PODMÍNEK VYUŽÍVÁNÍ HI V ČR 59
4.3.1 Použitý odpadní materiál 59
4.3.2 Vlastní postup 60
4.4 STANOVENÍ (NE)PŘÍTOMNOSTI *E. COLI, SALMONELLA* A *ENTEROCOCUS* V LARVÁCH HI A V REDUKOVANÉM SUBSTRÁTU 60
4.4.1 Použitý odpadní materiál 60
4.4.2 Vlastní postup 60
4.5 METODIKA STANOVENÍ KONCENETRACE TĚŽKÝCH KOVŮ A BAF PRO LARVY HI 63
4.5.1 Použitý odpadní materiál 63
4.5.2 Vlastní postup stanovení koncentrace vybraných kovů 65
5 VÝSLEDKY 68
5.1 VHODNÉ ODPADNÍ MATERIÁLY PRO REDUKCI LARVAMI HI 68
5.1.1 Rozdělení odpadů podle dokončených vývojových cyklů HI 68
5.1.2 Rozdělení odpadů dle účinnosti redukce HI 69
5.2 SROVNÁNÍ ROZKLADNÉ AKTIVITY VYBRANÝCH BEZOBRATLÝCH 70
5.3 SROVNÁNÍ LABORATORNÍCH A PROVOZNÍCH PODMÍNEK VYUŽÍVÁNÍ HI V ČR 71

5.4 STANOVENÍ (NE)PŘÍTOMNOSTI *E. COLI*, *SALMONELLA* A *ENTEROCOCUS* V LARVÁCH HI A V REDUKOVANÉM SUBSTRÁTU 72
5.5 STANOVENÍ KONCENTRACE TĚŽKÝCH KOVŮ A BAF PRO LARVY HI 73
5.5.1 Vliv HI na koncentraci těžkých kovů v substrátu 73
5.5.2 Akumulace těžkých kovů v larvách HI během redukce odpadu 75
5.5.3 BAF pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO 76
6 DISKUSE 77
6.1 VHODNÉ ODPADNÍ MATERIÁLY PRO REDUKCI LARVAMI HI 77
6.2 SROVNÁNÍ ROZKLADNÉ AKTIVITY VYBRANÝCH BEZOBRATLÝCH 79
6.3 SROVNÁNÍ LABORATORNÍCH A PROVOZNÍCH PODMÍNEK VYUŽÍVÁNÍ HI V ČR 80
6.4 STANOVENÍ (NE)PŘÍTOMNOSTI *E. COLI*, *SALMONELLA* A *ENTEROCOCUS* V LARVÁCH HI A V REDUKOVANÉM SUBSTRÁTU 81
6.5 STANOVENÍ KONCENTRACE TĚŽKÝCH KOVŮ A BAF PRO LARVY HI 81
6.5.1 Koncentrace těžkých kovů ve zbylém substrátu a v larvách HI před a po konzumaci BRO 81
6.5.2 BAF pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO 85
7 ZÁVĚR 88
8 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY 92
9 SEZNAM OBRÁZKŮ 101
10 SEZNAM TABULEK 102
11 SEZNAM ZKRATEK 103

1 ÚVOD

Současný konzumní způsob života vytváří kromě podmínek pro pohodlnou existenci plnou dostatku a možností také značnou produkci odpadů. Odpady je žádoucí zpracovávat, ideálně v souladu s legislativou i zdravým selským rozumem. Pro biologicky rozložitelné odpady (BRO) je žádoucí volit způsoby zpracování, které umožní živiny získané z přírody do ní zpět navracet. Nejstarším osvědčeným způsobem zpracování BRO je kompostování.

Kompostovací procesy lze různě obměňovat, urychlit či obohatit. Kromě různého složení kompostovacího materiálu se používají vybraní bezobratlí živočichové především k urychlení procesu, ale také pro lepší vlastnosti výsledného kompostu. Známé a hojně používané jsou žížaly, zvláště kalifornské, ale zejména v jižních státech USA a v Tichomoří se rozšiřuje také využívání larev dvoukřídlého hmyzu - bráněnky *Hermetia illucens* (HI), které jsou v podmínkách ČR zatím víceméně neznámé. Výhodou larev HI je, že redukují odpadní materiál, jak rostlinného, tak živočišného původu, což je vlastnost vhodná zejména pro nekvalitně vytříděný BRO komunálního původu a pro odpady z vývařoven. Oba tyto odpady jsou zatím spíše skládkovány či spalovány, ačkoliv tyto postupy jsou na nejnižších stupních hierarchie nakládání s odpady.

Proto se předložená disertační práce soustředí na možnosti redukce BRO jinými způsoby. Hlavním cílem předložené disertační práce bylo zjistit, jaké jsou možnosti a následky využití bráněnek HI v odpadovém hospodářství České republiky. Za účelem splnění tohoto hlavního cíle práce byly stanoveny a testovány dvě hypotézy: hypotéza H1: larvy HI jsou schopny svojí činností redukovat biologicky rozložitelný odpad v podmínkách České republiky; hypotéza H2: využívání larev HI pro redukci BRO nemá negativní vliv na zdraví lidí ani na životní prostředí.

V oblasti odpadového hospodářství byl obdobně zaměřený výzkum realizován poprvé. Obecně je proto možné konstatovat, že získané výsledky mohou přispět k rozvoji poznání v oblasti nakládání s biologicky rozložitelnými odpady.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

Rostoucí životní úroveň lidí s sebou nese i negativní aspekty jako je zvyšující se produkce odpadů. Například v České republice bylo v roce 2012 vyprodukováno 23 400 miliónů kg odpadů, z toho 3 200 miliónů kg byl odpad komunální. Každý obyvatel v roce 2012 do kontejnerů a sběrných nádob odložil 308 kg odpadků, z nichž pouze 14 % skončilo v barevných kontejnerech odděleného sběru. To znamená, že statisticky každý obyvatel vyprodukoval 265 kg směsného komunálního odpadu za rok 2012 (ČSÚ, 2014). Směsný komunální odpad obsahuje i značný podíl biologicky rozložitelného odpadu (dále jen BRO). Podíl BRO v komunálním odpadu (dále jen KO) je odhadován na 40-60 % (Altmann, 2010; Hřebíček, 2009), což by v přepočtu znamenalo roční produkci 106 kg až 159 kg biologicky rozložitelného komunálního odpadu (dále jen BRKO) na obyvatele. Relativně vysoké zastoupení (23 %) má BRO i v celkové produkci odpadů (Altmann, 2010). V rámci nakládání s komunálním odpadem bylo v roce 2011 65% skládkováno, 18% energeticky využito (spáleno), 15% recyklováno a pouze 2% kompostována (Strnadová, 2013).

Tradiční postupy nakládání s BRO jsou následující: kompostování, bioplynové stanice, spalování a skládkování. Obecně lze konstatovat, že kapacity všech zařízení nejsou z hlediska požadavků EU na nakládání s BRKO dostatečné (Hřebíček, 2009). Naopak podle Hejátkové a Křížové (2013) nejsou kapacity pro výrobu kompostů zcela využity vzhledem k nedostatečné koordinaci (zejména mezi rezorty Ministerstva zemědělství a Ministerstva životního prostředí) a také z důvodu absence vůle ke spolupráci. Hejátková a Křížová (2013) shledávají výhodnou spolupráci zemědělců, kteří zajistí obcím odběr BRO a navíc si tak vyprodukují úrodné hnojivo, které navrací živiny zpět do půdy, čímž se eliminuje i problém s odbytem kompostu. Naproti tomu Hřebíček *et al*. (2014) tvrdí, že pro specializované firmy není zpracování BRO ekonomicky atraktivní a že v současnosti firmy zřizují kompostárny jen jako doplňkovou aktivitu, a to většinou v areálu skládek, kde produkují kompost nízké kvality určený pro rekultivaci skládky (Hřebíček *et al.*, 2014).

Skládkování je nejméně vhodné, jak vyplývá i ze Směrnice Rady 1999/31/ES o skládkách odpadů, která stanoví pro Českou republiku závazek snížit množství BRO ukládaného na skládky do roku 2013 na 50 % množství ukládaného v roce 1995 a do

roku 2020 na 35 % množství BRO ukládaného na skládky v roce 1995. Tyto cíle se daří České republice plnit (Havelka, 2013). Proto je úkolem Plánu odpadového hospodářství ČR legislativně stanovit od roku 2023 zákaz skládkování směsného komunálního odpadu (Manhart, 2012). Je tedy nutné BRKO zpracovávat jiným způsobem, respektive jej ideálně nenechat vzniknout, jak vyžaduje první stupeň hierarchie nakládání s odpady (určeno Směrnicí EP a Rady č. 98/2008 o odpadech). Nenechat vzniknout odpad si může dovolit například obec, která je dle zákona o odpadech č. 182/2001Sb. původcem komunálního odpadu, který vzniká až v momentě, kdy jej obec převezme od občanů. Pokud se tedy občan (vhodně motivovaný) rozhodne s biologicky rozložitelným materiálem nakládat jako se surovinou do svého kompostu, není tento materiál vůbec pojmenován jako odpad. Spíše jako druhotná surovina, pomocí které získá občan kvalitní hnojivo, má-li k tomu dostatek prostoru a motivace. Pokud tato možnost není reálná, nabízí se druhý stupeň hierarchie nakládání s odpady: „opětovné použití“, kdy je nutné nalézt náhradní využití pro již nepotřebnou věc. V případě BRKO se v tomto stupni hierarchie nabízí myšlenka zkrmování. Tato myšlenka je však legislativně značně komplikovaná. Pokud tedy není možnost BRKO ani zkrmovat, přichází na řadu třetí stupeň hierarchie: „materiálové využití: třídit odpady v domácnosti, vyrábět z nich nové výrobky“. Kompost sice není typický výrobek a větší podíl mají na jeho vzniku mikroorganismy nežli člověk, ale lidská aktivita vytváření vhodných podmínek pro kompostování je nezbytná. Není-li vstupní substrát dostatečně vytříděný či kvalitní, je nutné jej zpracovávat podle čtvrtého stupně „jiné využití (např. energetické): ze zbytkových odpadů, které nelze jinak využít, vyrobit energii“. BRO v tomto stupni putuje buď do bioplynových stanic anebo do spalovny odpadů. Posledním a tedy nejméně vhodným stupněm je odstranění, a to ještě za podmínky, že do skládky se mají ukládat pouze inertní odpady, což směsný komunální odpad ani BRO nejsou.

První tři stupně hierarchie, tedy ty vhodnější a žádanější, v sobě zahrnují přirozené procesy, ačkoliv se někdy mohou dostávat do rozporu s legislativou, jak je tomu v případě zkrmování. Kompostování je nejstarším a nejpřirozenějším prostředkem k udržení zdravé půdy. Kompost je hnojivo k výživě rostlin a navíc navrací živiny zpět do půdy a tedy i jejich přirozenému koloběhu (Diaz *et al.*, 2007). Proces kompostování může být urychlen přítomností bezobratlých živočichů. Vermikompostování je kompostování s využíváním žížal. Mejzlík (2013) popisuje jen dva druhy žížal: žížalu

hnojní *Eisenia fetida* (Savingy, 1826*) a* kalifornskou *Eisenia andrei* (Bouch,1972. K vermikompostování (a to i v podmínkách ČR) je však možné využít i další druh žížal: žížalu *Dendrobaena veneta* (Rosa, 1886*).* Dalším možným bezobratlým, využitelným v procesu biologického rozkladu je nepříliš známá dvoukřídlá bráněnka *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758). Práce Kalové (2011) přinesla první ucelené poznatky o využití bráněnky nejen v prostředí ČR, ale i na evropské úrovni. Výhodnou vlastností larev *Hermetia illucens* (dále jen HI) je z pohledu odpadových hospodářů nepreference původu konzumovaného materiálu, tj. larvy konzumují odumřelý materiál jak rostlinného, tak živočišného původu. Larvy bráněnky HI nejsou tedy náročné na kvalitu vytřídění BRO, což je činí pro zpracování BRO velmi vhodnými.

2.1 VYBRANÉ DRUHY BEZOBRATLÝCH

V přírodě často funkci rozkladačů plní bezobratlé organismy, čehož se využívá i v postupech zpracování biologicky rozložitelných odpadů. Bezobratlé organismy organický odpad dezintegrují a rozmělňují, čímž zvětšují povrch organických odpadů, který je následně osidlován mikroorganismy. Tento princip je potvrzen výsledky mikrobiologických analýz půdních agregátů před průchodem a po průchodu trávicím traktem žížal. Počty bakterií se zvyšují o dva až tři řády a schopnost poutat vzdušný dusík bakteriemi rodu *Azotobacter* stoupá dvakrát až třikrát. Žížaly dále podporují činnost mikroorganismů, které zabezpečují syntézu humusových látek, proto výsledný produkt obsahuje značné množství kvalitního humusu (Tesařová, 2010).

2.1.1 Žížaly vhodné pro vermikompostování

Existuje mnoho druhů žížal, ovšem ne všechny jsou do vermikompostu vhodné. Mezi využívané druhy Zajonc (1992) řadí: *Eisenia fetida* (Savingy, 1826), *Eisenia andrei* (Bouché, 1972), *Eisenia hortensis* zvanou též *Dendrobaena veneta* (Rosa, 1886) a *Lumbricus rubellus* (Hoffmeistere, 1843). Exotické druhy jako africká dešťovka *Eudrilus eugeniae* (Konberg, 1867) a „modrý červ“ *Perionyx excavatus* (Perrier, 1872) nejsou kvůli klimatickým podmínkám mírného pásu do těchto podmínek příliš vhodné z důvodu náročných teplotních podmínek pro chov. Nejčastěji jsou používané žížaly hnojní a kalifornské žížaly, které jsou speciálně vyšlechtěné pro účely vermikompostování. Tyto vyšlechtěné žížaly byly poprvé použity roku 1959 ve

středisku v USA, ale jejich název nebyl jednotný a definovaný.[1] V roce 1976 byl tento vyšlechtěný druh přivezen do Evropy pod názvem kalifornská žížala (*Eisenia andrei*), konkrétně do Itálie, odkud se rozšířila do Francie a zbytku Evropy (Zajonc, 1992). Původní druh, ze kterého byly kalifornské žížaly vyšlechtěny, je důležitý kvůli možnosti rozmnožování buď s *E. andrei* anebo *E. fetida*. Tyto dva biologické druhy se vzájemně v laboratorních podmínkách nekřížily (Domínguez *et al.*, 2005). Domínguez *et al.* (2005) považují za vhodnější pro vermikompostování *E. andrei* pro rychlejší růst a vyšší rozmnožovací přírůstky. Dále Domínguez *et al.*, 2005 upozorňují, že není v ekotoxikologických studií možné očekávat stejný účinek znečišťující látky na *E. andrei* a *E. fetida*, protože reakce na stresové faktory se mohou lišit. Genetickým výzkumem je odlišnost druhů *E. andrei* a *E. fetida* také potvrzena prací Pérez-Losada *et al.* (2005). Navíc z analýz DNA vyplývá, že *E. fetida* se skládá z reprodukčně izolovaných populací a že je možná existence dosud neuznaných druhů nebo poddruhů bez taxonomického zařazení.

Vhodné druhy žížal pro vermikompostování určuje i webový portál ve Velké Británii (http://www.wormery.co.uk/, 2014). Pro rychlé zpracování organického odpadu a tvorbu kvalitního kompostu navrhuje tři druhy žížal (**Tab. 1**), a to žížalu hnojní (*E. fetida*), kterou nazývá „Tigerworm“, dále také již zmiňovanou kalifornskou žížalu (*E. andrei*), pro kterou používá termín „Redworm“, a taktéž navrhuje žížalu *Dendrobaena veneta* - „modronosého červa“ („TheBluenoseworm“). Autoři Domínguez a Edwards (2010a) navíc tuto trojici rozšiřují o druh *Dendrodrilus rubidus* (Savingy, 1826), který je relativně celosvětově rozšířen a jehož přirozeným prostředím je nejčastěji půda s výrazným podílem organické části, ale může se vyskytovat i v tlejícím dřevě, borovicovém jehličí, kompostu či na hnoji (Domínguez a Edwards, 2010a).

[1] Některé prameny uvádějí vyšlechtění nikoliv z žížaly hnojní (*Eisenia foetida*), ale z žížaly *Eisenia andrei* (popsané ve Francii až v roce 1972 Savingem), zároveň ale doplňují, že jediný rozdíl je ve zbarvení těla. Žížala hnojní má uprostřed jednotlivých článků těla hnědorudé pruhy, které se střídají se špinavě žlutými pruhy v mezičlánkových brázdách. Oproti tomu druh *E.andrei* je jednobarevný, tmavorudý anebo světlerudý. Druhý a poslední rozdíl je v tom, že žížala hnojní při podráždění vylučuje z hřbetních pórů nažloutlou páchnoucí kapalinu, zatímco u *E. andrei* je tato kapalina bezbarvá a nepáchne. Původní rozšíření *E.andrei* bylo ve Francii, Itálii, kdežto žížala hnojní je rozšířena po celé zeměkouli vyjma chladných oblastí. Přes malé rozdíly se jedná o odlišné druhy, protože křížením nevznikají plodní jedinci. Rudé zbarvení kalifornských žížal odkazuje k druhu *Eiseniaandrei* jako výchozímu pro vyšlechtění kalifornských žížal (Zajonc, 1992).

Tab. 1 Srovnání vybraných biologických charakteristik u vybraných druhů žížal vhodných pro vermikompostování (Domínguez a Edwards, 2010a)

	Eisenia fetida	*Eisenia andrei*	*Dendrobaena veneta*
Barva	Hnědé a špinavě žluté pruhy	Červená	Načervenalé a purpurové pruhy
Velikost dospělců (mm)	4–8 ; 50–100	4–8; 50–100	5–7 ; 50–80
Váha dospělců (g)	0,55	0,55	0,92
Čas dospívání (dny)	28–30	21–28	65
Počet kokonů za den	0,35–0,5	0,35–0,5	0,28
Velikost kokonů (mm)	4,85; 2,82	4,8; 2,82	3,14;1,93
Doba inkubace (dny)	18–26	18–26	42,1
Schopnost líhnutí (%)	73–80	72	20
Počet žížal v kokonu	2,5–3,8	2,5–3,8	1,1
Životní cyklus (dny)	45–51	45–51	100–150
Optimální (hraniční) teplota prostředí (°C)	25 (0–35)	25 (0–35)	25 (15–25)
Optimální (hraniční) vlhkost (%)	80–85 (70–90)	80–85 (70–90)	75 (65–85)

Žížaly jako hermafrodité (obojetníci) jsou schopny produkovat vajíčka i spermie. Umístění pohlavních orgánů však žížalám nedovoluje oplodňovat vlastní vajíčka vlastními spermiemi, z tohoto důvodu dochází k páření. Dva dospělci se k sobě přiloží břišní stranou, poté první jedinec vypudí spermální kapalinu a ta prochází do spermatoték (malé dutiny) partnera. Ke kladení vajíček dochází 7 až 10 dní po samotném aktu. Proces kladení začíná vytvořením slizovitého obalu kolem těla v místě opasku. Vytvoří se rourovitý útvar, kterým se žížala postupně provléká od konce těla k hlavě, následně jsou do něj vypuštěna vajíčka. Při dalším pohybu rourovitého útvaru směrem k začátku těla je do něho vypuštěna kapalina se spermiemi ze spermatoték, čímž dochází k vlastnímu oplodnění. Poté se obal sveze žížale přes hlavu a jeho konce se rychle stáhnou a zaschnou. Vznikne tak kokon, který tvarem připomíná citrón. Barva kokonů může být různá. Od žlutozelené přes oranžovou až po hnědou. Prázdný kokon je tmavohnědý. Jejich délka se pohybuje v rozmezí 3 – 4,5 mm a šířka mezi 2,5 – 3,2 mm.

Váha kokonu se pohybuje mezi 10 až 16 mg. Žížala hnojní běžně produkuje dva kokony za týden, v případě ideálních podmínek i každý druhý den. V jednom kokonu se nachází 2 – 5 mláďat, obal opouštějí po 20 až 30 dnech. Zhruba 15 % kokonů během vývoje odumře. Dospělosti se žížala dožívá v 60 dnech od vylíhnutí, v tomto období má nejvyšší tělesnou hmotnost. Po dosažení dospělosti už roste jen málo, růst ustává v 9. měsíci života. Předpokládá se, že žížala hnojní se dožívá 33 měsíců, podle některých autorů i více (Zajonc, 1992). Optimální podmínky pro chov žížal *E. andrei* a *E. fetida* uvádí **Tab. 2**.

Tab. 2 Optimální podmínky pro chov druhů žížal *Eisenia fetida* a *Eisenia andrei* v organickém odpadu (Dominguéuz aEdwards, 2010a)

Podmínky	Požadované
Teplota organického odpadu	15–20 °C (hraniční 4–30 °C)
Vlhkost organického odpadu	80–90 % (hraniční 60–90 %)
Kyslík	Provzdušenost
Obsah amoniaku v odpadu	Nižší než 1 mg. g^{-1}
Obsah soli	Nižší než 0,5 %
pH	5–9

Žížaly mají své přirozené predátory mezi obratlovci, ale mohou být také napadeni parazity a patogeny. Žížaly bývají kořistí mnoha druhů savců a ptáků. Dále mohou požírat žížaly či jejich vajíčka stonožky, mravenci, brouci a jejich larvy. Žížaly mají mnoho vnitřních parazitů, včetně protozoí, rotatarií a muších larev. Bakterie (*Spirochaeta* a *Bacillus*) a houbové patogeny bývají také označovány za parazity žížal, ale jejich vliv na hostitele není přesně znám. Mnoho hlístic projde tkáněmi žížal, málokdy však způsobí vážné poškození a často jsou pro ně žížaly pouhými mezihostiteli. Také roztoči se mohou živit na kokonech žížal (Domínguez a Edwards, 2010a).

2.1.1.1 Žížala hnojní (Eisenia fetida, **Savingy, 1826***)*

Žížala hnojní (*E. fetida*) se dle způsobu svého života řadí mezi žížaly, které žijí ve vrstvě rostlinných zbytků na povrchu půdy. Jedná se o rudohnědý druh dorůstající do rozměrů 3 – 12 cm (**Obr. 1**), který se živí rozkládajícím se rostlinným materiálem.

Vzhledem k tomu, že je tato žížala schopná konzumovat organické odpady, je vhodná pro vermikompostování. Žížale hnojní se dobře daří při teplotě organické hmoty 25 °C. S uvedenou teplotou souvisí nejen vyšší spotřeba potravy, ale i bakteriální aktivita, což má za následek i rychlejší zpracování kompostovaného materiálu. Žížala hnojní snáší i vysoké teploty organické hmoty (k 35 °C), naopak pokles teploty k 4 °C znamená jejich úhyn (Zajonc, 1992).

Biologickou zvláštností je rychlejší rozmnožování, při kterém do kokonů kladou několik vajíček, z nichž se následně vylíhne několik mláďat, která rychle dospívají. Dospělí jedinci mohou měřit 4 – 12 cm, průměr těla je v rozpětí 2 – 4 mm, váží 0,4 – 1,2 g a barva jejich těla je hnědorudá až rudofialová. Mláďata bývají po vylíhnutí nitkovitá a v průměru měří 12 – 20 mm. Žížala se řadí k oboupohlavním živočichům. Opasek (klitelum) je špinavě bílé nebo žlutobílé barvy a začíná u žížaly hnojní na 24. – 27. článku a končí na 31. – 33. článku. Žížala hnojní při podráždění vylučuje z hřbetních pórů nažloutlou páchnoucí kapalinu (Zajonc, 1992; Domínguez a Edwards, 2010a).

Obr. 1 Žížaly hnojní (Zdroj: www.hnojnizizaly.cz, 2014)

Nejčastějším místem výskytu jsou menší hnojiště, hromady kompostu, mokrá rozkládající se sláma anebo jiné organické zbytky, také odpadové kanály či smetiště. V provozní půdě vydrží jen krátce, protože obsahuje málo organické hmoty. Žížala hnojní je rozšířena lidskou činností téměř po celém světě kromě Antarktidy a daří se jí v podmínkách, ve kterých by jiné druhy žížal nepřežily (Zajonc, 1992; Domínguez a Edwards, 2010a).

2.1.1.2 Kalifornské žížaly

Žížala kalifornská je speciálně vyšlechtěným druhem žížaly z volně žijícího druhu *Eisenia andrei* a může se i s tímto druhem křížit. Tento kalifornský červený hybrid podléhá Zákonu č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, který zakazuje tento nepůvodní druh vědomě šířit do české krajiny. Není však zakázáno jeho využití při zpracování organického materiálu, protože za tímto účelem byl vyšlechtěn. Tento druh zpracovává organický materiál oproti žížale hnojní mnohem rychleji, množí se také rychleji, dožívá se výrazně vyššího věku (až 16 let), neprokazuje migrační chování a je víceméně závislý na velkém množství potravy. Proto je možné kalifornské žížaly chovat jak na zpevněné ploše, tak v izolovaném vermikompostéru, kde má pro život ideální podmínky, a nemá tedy důvod odlézat do volné přírody, kde nemá tak příznivou ekologickou niku jako v uměle vytvářeném prostředí (Pšenička, 2009).

Původ z Kalifornie předurčuje celkem vysoký teplotní komfort: kalifornská žížala nepřežije teplotu organické hmoty pod cca 4 °C a nad 42 °C. Jako vyšlechtěný druh je žížala kalifornská striktním pojídačem výhradně organické odumřelé hmoty. Pokud se dostane do volného prostředí v půdě, musí vyhledat stanoviště, kde je dostatek organické hmoty. Jakmile ji nemá, hyne. To je rozdíl oproti žížale hnojní, která je schopná pojídat i různé jílovité částice a písek (Pšenička, 2009).

Žížala kalifornská **(Obr. 2)** je jednobarevná, a to buď tmavě, nebo světle rudá. Pokud dojde k podráždění hřbetních pórů, vylučuje bezbarvou kapalinu, která nepáchne. Právě rozdíly v barvě a charakteru vylučované tekutiny jsou dva primární znaky, kterými lze odlišit žížalu hnojní od žížaly kalifornské (Zajonc, 1992).

Obr. 2 Kalifornské žížaly (Zdroj: http://www.ireceptar.cz/zahrada/okrasna-zahrada/chov-kalifornskych-zizal-doma-i-na-zahrade/, 2014)

2.1.1.3 Žížala Dendrobaena veneta neboli *E. hortensis* (Rosa, 1886)

Evropskou dešťovku *D. venetu* (**Obr. 3**) mají ve velké oblibě rybáři pro její možné použití jako návnady. *D. veneta* je univerzální nenáročná žížala vhodná nejen pro potřeby rybářů a chovatelů, ale také pro vermikompostování (Zizalov, 2013). Dospělec dorůstá až do velikosti 12 cm, což odpovídá hmotnosti 2 g. Tato robustní žížala není příliš plodná a navíc roste značně rychle, přesto ji mnoho společností používá pro účely vermikompostování s přidaným systém produkce bílkovinného krmiva. Má poměrně širokou toleranci vlhkosti oproti ostatním druhům (65–85%), ovšem teplotu organické hmoty upřednostňuje spíše nižší tj. mezi 15-25 °C. Její životní cyklus může být dokončen během sta až sto padesáti dnů s tím, že pohlavní dospělosti dosahuje kolem 65. dne života. Produkce vajíček je nižší ve srovnání s ostatními řešenými druhy žížal, doba inkubace vajíček je průměrně 42 dní (Domínguez a Edwards, 2010a).

Obr. 3 *Dendrobaena veneta* (Zdroj: Zizalov, 2014)

2.1.2 Bráněnka *Hermetia illucens*

Kromě žížal mohou být pro zpracování biologicky rozložitelných odpadů použity i méně známé bráněnky *Hermetia illucens* (**Obr. 4**), jejichž larvy mohou konzumovat rozkládající se organický odpad.

Dvoukřídlý hmyz *Hermetia illucens* (v angličtině uváděn jako Black soldierfly) je systematicky řazen do říše živočišné, kmene členovců, třídy hmyzu, řádu Diptera (dvoukřídlí), čeledi Stratiomyidae (bráněnkovití), rodu *Hermetia*, druhu *Hermetia illucens*. Bráněnka HI je známa jako jeden z mnoha hmyzích indikátorů využívaných v soudní entomologii při určování doby úmrtí oběti pomocí přesně popsaných fází rozkladu lidského těla. Rozhodující roli pro určení doby úmrtí může hrát určení počtu generací, které se na těle živilo/živí. *H. illucens* původně pochází z neotropické oblasti (zoogeografická oblast Jižní a Střední Ameriky Neogea, která je samostatně vymezena

vzhledem k odlišným druhům), ale nyní je rozšířena jak v tropických oblastech, tak v oblastech mírného pásu, kam byla zavlečena pravděpodobně s kontaminovaným jídlem. Zavlečení cizích druhů dvoukřídlého hmyzu se výrazně navýšilo od druhé poloviny 20. století (Roques, 2010). HI nepatří mezi škůdce ani šiřitele nemocí, v současnosti se vyskytuje po celém světě v tropických a mírných oblastech (Tomberlin *et al.*, 2009).

Obr. 4 Dospělý jedinec *Hermetia illucens* (foto: V. Hula, 2012)

Dospělci jsou charakterizováni jako neagresivní opylovači mrkvovitých rostlin. Etologické chování není synantropní, tedy tento druh není vázán na lidskou přítomnost ani činnost, tedy neobtěžuje lidské jedince, naopak se lidskému prostředí vyhýbá, uzavřené prostory mu nevyhovují. Není známo, že by *H. illucens* přenášela jakékoli lidské onemocnění, vzhledem k tomu, že dospělci čerpají živiny z larválního stádia a k přežití potřebují pouze tekutiny. Pozemské a vodní larvy čeledi Stratiomyidae (bráněnkovitých) žijí jako saprofágové, tj. živí se organickou hmotou odumřelých organismů. Dospělci se živí nektarem květů, využívají širokou škálu kvetoucích rostlin, zejména podél vodních toků, ale také na otevřených slunných místech. V rámci čeledi bráněnkovitých jsou popsány dva nepůvodní druhy, z nichž jedna je bráněnka *H. illucens*. Za určitých okolností je HI považována za prospěšný druh, protože potlačuje výskyt mouchy domácí (*Musca domestica L.*) jak konkurencí o potravu, tak konzumací larev (Roques, 2010).

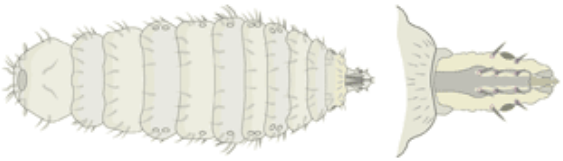
Larvy se vyvíjejí na mnoha různých typech rozkládajícího se organického materiálu. Larvy jsou široké, zploštělé a zřetelně segmentované s úzkou přední hlavou (**Obr. 5**). Vnější vrstva je tvořena z chitinu a slouží jako ochrana před vysušením během suchých období. Larvy nemají vyvinuté kousací ústní ústrojí, proto konzumují materiál ve fázi rozkladu, což jim umožňuje drásací sací ústní ústrojí. Larvy se běžně vyskytují na hnijícím ovoci a zelenině, v kompostu, na výkalech a mršinách. Při spojení s lidskými pozůstatky jsou larvy obvykle pozorovány až během pokročilých suchých fází rozkladu. Larvy mohou být požity v rámci konzumace napadených plodů, následně se objeví ve stolici. Několik případů střevní pseudomyiasis bylo hlášeno a popsáno (Byrd a Castner, 2010), v České republice byl zdokumentován jeden případ (Borkovcová a Veselý, 2008).

Obr. 5 Detail části hlavy dospělce bráněnky *Hermetia illucens*. (foto: V. Hula, 2012)

Délka dospělého těla je průměrně 15-20 mm. U samiček je zbarvení černé, břicho načervenalé s dvěma průsvitnými skvrnami, u samců má břicho bronzově hnědé zbarvení. Křídla jsou kouřově černá a v klidu jsou držena nad tělem, mají tzv. vosí vzhled, který umocňuje rychlý pohyb tykadel a případné předstírání žihadla. Jejich váha je rozdílná, těžší samičky po oplodnění (**Obr. 6, 7, 8**) kladou vajíčka po stranách či na povrch biologického materiálu, který se začíná rozkládat. Vajíčko inkubuje 4 dny až 3 týdny před kladením. Produkce vajíček je v rozmezí 320-620, ročně jsou možné až tři generace. Podlouhlé oválné vajíčko o velikosti 1mm je bledě žluté nebo krémové barvy, ale s časem tmavne. Ideální teplota pro rozmnožování je mezi 27-30°C, jelikož zaručuje 74-97% přežití (Byrd, 2010; Tomberlin, 2009; Gutierrez, 2004; Sheppard, 2002).

Obr. 6,7, 8 Pářící se dospělci *Hermetia illucens* (foto: Kalová, 2012)

Vajíčka se vylíhnou za 4 dny při 24 °C a larvy se vyvíjejí přes pět instarů za 2 týdny a více. Délka období larev může být značně prodloužena z důvodu nízkých teplot nebo nedostatkem potravy. Nová larva je krémově bílá, asi 1,8 mm dlouhá, zralá larva je asi 18 mm dlouhá a 6 mm široká, i když někteří jedinci mohou být dlouzí i 27 mm. Životní cyklus od vajíčka k dospělému jedinci vyžaduje 38 dnů při 29 °C a 60 dnů při 20 °C. K výraznému poklesu vývoje dochází v extrémně chladném počasí. V závislosti na teplotě a dalších podmínkách prostředí dochází ke kuklení na jaře a trvá od 9 dnů do 5 měsíců. Proto se někteří dospělí objeví již v dubnu, ale mnozí až v pozdním létě. Larvy (**Obr. 9**) hledají chráněné, suché lokality na kuklení. Kukly jsou velmi odolné, mají tvrdou konstrukci a jsou schopny přežít v podmínkách extrémního nedostatku kyslíku (Tomberlin *et al.*, 2002).



Obr. 9 Larva HI a detail: ústní ústrojí drásací sací (Zdroj: Flycontrol, 2014)

Bráněnky mohou být používány jako krmivo, protože jsou bohatým zdrojem bílkovin a tuků. Larvy HI obsahují 40-44 % bílkovin v sušině, množství tuku je velmi variabilní a závisí na typu stravy a jejím obsahu tuku. Publikované hodnoty jsou 15 až 25 % tuku v sušině larev HI živených na drůbežím trusu (Arango Gutierrez *et al.*, 2004), 28 % tuku v sušině larev živených na prasečím hnoji (Newton *et al.*, 2005), 35 % tuku v sušině larev živených na hnoji dobytka (Newton *et al.*, 1977) a 42-49 % tuku

v sušině larev HI živených na materiálu bohatém na olej (Barry, 2004). Obsah popelovin je poměrně vysoký, ale variabilní: může se pohybovat v rozmezí 11-28 % sušiny. Larvy HI jsou bohaté na vápník (5-8 % sušiny) a fosforu (0,6 -1,5 % sušiny) (Newton *et al.,* 1977; St-Hilaire *et al.,* 2007b; Arango Gutierrez *et al.,* 2004; Yu *et al.,* 2009). Larvy jsou obzvláště bohaté na lysin (6-8 % proteinu). Obsah sušiny v čerstvých larvách je poměrně vysoký, v rozmezí 35 až 45 %, a to je výhodné, protože není potřeba čerstvé larvy dehydratovat, a tedy i méně nákladné (Newton *et al.,* 2008). Složení mastných kyselin u larev HI závisí na složení mastných kyselin v jejich potravě. Larvy HI krmené na odpadech, které obsahují požadované omega-3 mastné kyseliny, zajistí obohacení konečné biomasy (St-Hilaire *et al.,* 2007).

2.2 VERMIKOMPOSTOVÁNÍ A POUŽÍVÁNÍ BLACK SOLDIER FLY

Vermikompostování, tj. kompostování s využitím aktivity žížal patří k moderním, ale náročným způsobům materiálového využití biologicky rozložitelného odpadu (Tesařová, 2010). Vermikompostování je přírodní rozkladný proces, který je záměrně urychlován speciálními druhy žížal, které odpadní materiál obracejí, fragmentují a provzdušňují. Vermikompostování zahrnuje biooxidaci a stabilizaci organického materiálu společnou aktivitou žížal a mikroorganismů. Ačkoliv biochemický rozklad organického materiálu souvisí s činností mikroorganismů, žížaly jsou rozhodující pro rozkladnou aktivitu, protože jejich provzdušňováním a fragmentováním materiálu významně vzrůstá mikrobiální aktivita (Domínguez a Edwards, 2010b).

Vermikompostování se během posledním let ukázalo jako úspěšné řešení pro zpracování odpadů z čištění odpadních vod (kaly i pevné látky), dále odpadů z papírenského průmyslu, komunálních odpadů, rostlinných odpadů ze zahradnictví a také odpadů z potravinářského průmyslu. Přesto vermikompostování není dosud zcela uzpůsobeno rozsáhlejšímu průmyslovému měřítku (Domínguez a Edwards, 2010b).

V některých případech organické odpady potřebují předzpracování před samotným vermikompostováním, protože materiál může obsahovat látky toxické pro žížaly jako například kyselé sloučeniny, amoniak a soli (Domínguez a Edwards, 2010b). Tento postup upřednostňuje také Tesařová (2010), a to ve všech případech (tj. i bez předpokladu přítomnosti toxických látek pro žížaly). Dle autorky se má

k vermikompostování používat organický odpad, který prošel hygienizací (tedy neobsahuje patogenní mikroorganismy) a ve kterém již proběhla mineralizace většiny snadno rozložitelných látek. Organický odpad s velkým obsahem těžko rozložitelných látek (lignin, celulóza) se nechává dva až tři měsíce předkompostovat. Organický materiál určený pro vermikompostování by neměl obsahovat velké množství volného amoniaku a proteinů (úhyn žížal může způsobit obsah proteinů nad 45 %). Aktivita žížal je také zpomalována rezidui pesticidů, přítomností těžkých kovů a dalších polutantů (Tesařová, 2010). Žížaly jsou schopné požírat částice z rostlinných zbytků s převahou celulózy menší než 0,5 mm^2. I v případech, že se jedná o větší celek, žížala je schopná částice oddělit, musí být však zabezpečena poddajnost celého krmiva (Zajonc, 1992). Lidské patogeny jsou zabity po sedmdesáti dnech vermikompostování (Domínguez a Edwards, 2012b). Kombinace kompostování a vermikompostování je považována za způsob dosažení stabilního substrátu. Kompostování umožňuje hygienizaci odpadu a eliminaci toxických sloučenin a následný proces vermikompostování zmenšuje velikost částic a zvětšuje dostupnost živin, navíc naočkování kompostovaného materiálu po termofilní fázi žížalami zmenšuje výdaje i dobu zpracování materiálu (Domínguez a Edwards, 2010b).

Využívání bráněnek je běžné v prostředí, kde přirozeně nalétávají z okolního prostředí do kompostů a mají optimální podmínky pro svůj životní cyklus. Larvy bráněnek v podstatě rozšiřují roli půdní fauny, která svojí přítomností umocňuje mikrobiální aktivitu, jež je základem kompostování i vermikompostování, které je zrychlováno právě interakcemi s půdními mikroby, a tak musí být na proces nahlíženo v celistvé perspektivě (Domínguez a Edwards, 2010b). Kromě využívání larev jakožto urychlujícího faktoru v rozkladu organického materiálu existují studie o *H. illucens* zabývající se snižováním hmotnosti potravinového odpadu (Zheng *et al*, 2012; Jeon *et al.*, 2011), i možnou redukcí hnoje (Li *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2011; Myers *et al.*, 2008; Newton *et al.*, 2005). Vzhledem k příznivým výsledkům studií je využívání bráněnky *Hermetia illucens* diskutováno jak ve státech, kde se *Hermetia illucens* vyskytuje přirozeně (Diener *et al*., 2009), tak i ve státech, kde je nutný řízený chov (Holmes *et al.*, 2012), což je případ i České republiky.

2.2.1 Aktuální stav ve světě

2.2.1.1 Vermikompostování

S termínem vermikompostování bývá často zacházeno velmi volně. Kompostování, jak by jej měli chápat a realizovat přinejmenším odpadoví hospodáři, je řízený proces rozkladu organické hmoty, který svojí termofilní fází (teploty až 70 °C) zaručuje jak zabránění klíčivosti rostlin, tak i vyhubení patogenních organismů ve výsledném produktu. Aby byla zajištěna termofilní fáze i při vermikompostování, musí být dodržen následující postup: odpadní materiál určený k vermikomposotvání nejprve projde bez přítomnosti žížal termofilní fází, až poté je možno do „předkompostovaného" materiálu nasadit žížaly, které urychlí fázi zrání a učiní vzniklý humus úrodnější. Často bývá termínem vermikompostování označován proces, kde jsou žížaly přítomny od začátku do konce či je dokonce materiál zpracováván v kontinuálním procesu. Tento postup není kompostováním v pravém slova smyslu, protože chybí průběh důležité termofilní fáze. Odůvodnění je jednoduché: žížaly by teploty dosažené v termofilní fázi nepřežily.

První pokusy, které se snažily vyšlechtit žížalu vyhovující průmyslovému zpracování organických odpadů, probíhaly již ve 30. letech v USA. Roku 1959 vzniklo první středisko, ve kterém se k vermikompostování používala nově vyšlechtěná forma žížaly, ale její název nebyl jednotný a definovaný. V roce 1976 byl tento vyšlechtěný druh přivezen do Evropy, konkrétně do Itálie pod názvem kalifornská žížala (vyšlechtěná z druhu *Eisenia andrei*), odtud se rozšířila do Francie a zbytku Evropy (Zajonc, 1992).

Současné technologie vermikompostování lze rozdělit na otevřené vermikompostovací systémy a vermikompostování v kontejnerech. Do otevřených vermikompostovacích systémů patří nízkonákladové podlahové lože, což jsou v podstatě zakládky organického materiálu do výše 45 cm a do šíře 2,4 m. Délka zakládky je ovlivněna místními možnostmi, stejně jako podloží, které by nemělo trpět zamokřováním. Další možností (tzv. Gantry-FedBeds) jsou úzké zásobníky, do kterých se v pravidelných intervalech přidává odpadní materiál o výšce 2,5 až 5 cm. Postupné přidávání materiálu omezuje vznik nežádoucího tepla během rozkladného procesu. Další variantou (tzv. RaisedGantry-FedBeds) jsou zvýšené zásobníky, které drží žížaly ve výšce 10 až 15 cm nad ložem, čímž se zvýší rychlost a efektivita zpracování odpadů. Zpracovaný materiál může být sbírán mobilním pásem. Poslední možností otevřeného

systému (tzv. DrosetWedge-Style Beds) je odlišný postup, kdy je odpad přidáván v mělkých vrstvách na šikmou náběžnou hranu. V závislosti na množství přidávaného odpadu má tendenci k zahřívání, proto je tento postup vhodný pro zimní období (Domínguez a Edwards, 2010b).

Do postupů vermikompostování v kontejnerech patří koše (Bins) či rozsáhlé kontejnery, které jsou umístěny v regálech, což s sebou nese náročnost na obsluhu, proto se doporučuje pouze pro malá měřítka, kdy zásobování odpadem i vodou není vázáno na strojové vybavení. Druhou variantou jsou dávkovací reaktory (Batchreactors), které jsou opatřeny dávkovacím ramenem. To může být zcela automatizováno, což se vyplatí ve velkém měřítku, například při zpracování organického odpadu ve městech: možnost zpracování až 27 % z komunálního odpadu na produkci vermikompostu. Tyto reaktory mají větší potenciál k výrobě kvalitního hnojiva v kratším čase než vermikompostování v ložích či zásobnících. Ekonomická návratnost reaktorů je v rámci jednoho roku až tří let (Domínguez a Edwards, 2010b).

K přínosu žížal se vyjadřuje i článek (Anonymous, 2012), který se zabývá problematikou narůstajícího množství biologicky rozložitelného odpadu v Indii. Ten je sice zpracováván ve velkých indických kompostárnách, ale jejich kapacita není dostatečná a navíc výsledný kompost nesplňuje přísná zdravotní kritéria, protože z většiny tržnic a květinářství vychází materiály kontaminované těžkými kovy. Vědci však při svých testech zjistili, že tři druhy žížal (*Eudrilus eugeniae, E. fetida, Perionyx excavates*) dokážou odstranit až tři čtvrtiny těžkých kovů z celkového objemu rozkládané hmoty. Kromě již známého urychlení rozkladu daného BRO navíc dokážou absorbovat do svého trávicího traktu kadmium, měď, olovo, mangan a zinek, a to předtím, než dojde k dalšímu zpracování kompostované hmoty. Získaný biohumus lze využít bez obav pro další pěstování nových rostlin, aniž by se v půdě hromadily těžké kovy.

Kvalita vermikompostu je vyšší než u běžného kompostu. Substrát procházející trávicím traktem žížaly je vystaven působení zažívacích enzymů a jiných antibakteriálních tekutin, což v konečném důsledku vede ke snížení množství patogenů v biohumusu (Aira *et al*., 2006). Pro využívání vermikompostu jako hnojiva hovoří i souhrnná studie autorů z Velké Británie, Spojených států amerických

a Japonska, kteří zastávají názor, že dlouhodobé užívání anorganických hnojiv bez obsahu organických doplňků poškozuje půdu a že tento postup může v konečném důsledku způsobit znečištění životního prostředí. Přednostmi vermikompostu je vysoký obsah huminových látek, které posilují pro člověka žádoucí vlastnosti půdy, dále mikrobiálních složek, které podporují vývoj rostlin a potlačují vznik potencionálních nemocí. Vermikompost dále obsahuje základní živiny (dusík, fosfor, vápník, draslík, magnesium) a stopové prvky (železo, mangan, zinek), které mají vliv na růst i výnos rostlin (Tharmaraj *et al*., 2011). Vermikompost obsahuje živiny ve formách, které jsou pro rostliny snadno přijatelné. Dostupnost anorganických živin (zejména dusičnanů, ale i fosforu, draslíku, vápníku, hořčíku) pro rostliny je zvyšována právě vysokou mírou mineralizace, tedy i v exkrementech žížal. Vermikompost dále obsahuje růstové hormony, které jsou produkovány mikroorganismy, a rostlinné regulátory růstu, což jsou huminové látky (Domínguez, 2010c).

Žížaly jsou rozhodující pro tento proces, neboť se podílejí na nepřímé stimulaci mikrobiálních populací k fragmentaci i požívání čerstvé organické hmoty. Žížaly snižují celkovou mikrobiální biomasu i aktivitu během vermikompostovacího procesu. Činnost epigeických žížal signifikantně snižuje životaschopnou mikrobiální biomasu během vermikompostovacího procesu, a toto snížení je úměrně vyšší u bakterií než u hub, pravděpodobně proto, že žížaly konzumují houby pouze selektivně. Po jednom měsíci vermikompostování bakteriální růst klesá v substrátu, zatímco růst plísní není ovlivněn. Mikrobiální aktivita může být měřena jako snížení bazálního dýchání po vermikompostování. Aktivita žížal pomáhá mikrobiálním společenstvům použít dostupnou energii efektivněji a hraje klíčovou roli v utváření struktury mikrobiálních komunit v organických odpadech během vermikompostovacím procesu. Tento důkaz ukazuje, že žížaly přímo modulují komunitní rozkladné složení v krátkodobém horizontu, a tím urychlují rozklad organické hmoty (Domínguez, 2010c)

Podle webových databází je vermikompostování v soukromí běžným postupem, který může být chápán i jako společensky spojovací prvek, jak dokládá sociální síť vytvořená pro lidi, kteří kompostují či by kompostovat chtěli. Tato síť umožňuje svým příznivcům založit si vlastní stránku, sdílet svoje fotografie, videa a zkušenosti. Ke dni 30. 5. 2013 má svoji stránku založeno 3792 členů, a to bez zahrnutí občasných

návštěvníků webu, kteří mají přístup ke většině údajů: linky na další blogy, stránky, vstup do diskuse i jejího archívu (Vermicomposters, 2014). Portálů s možností nákupu kalifornských žížal (používaný je termín „redworms“) a kompostovacích košů je obrovské množství. Některé webové stránky nabízejí i další druhy žížal: evropské žížaly, africké žížaly, Alabama žížaly či kanadské žížaly (Redworms, 2014).

2.2.1.2 Black soldier fly a zpracování odpadů v celosvětovém měřítku

Využívání larev HI pro zpracování odpadních materiálů je mnohem méně rozvinutější než vermikompostování. Larvy bráněnky jsou využívány pro zpracování odpadů především v teplých oblastech Severní Ameriky a na Havajských ostrovech, kde se dospělci HI nejen přirozeně vyskytují, ale i bez problémů rozmnožují, a tím zajišťují další generace larev, které konzumují biologicky rozložitelný materiál (**Obr. 10, 11**). Například farmáři na Havajských ostrovech tuto mouchu i její larvy znají a jejich přítomnost vítají, protože urychlují rozklad biologicky rozložitelného odpadu a navíc kukly HI jsou oblíbeným krmivem drůbeže (ústní sdělení, Luann, 2012).

Obr. 10, 11 Zpracování organického odpadu - farma Tinroofranch, zaměřená na produkci "organického jídla"[2], především vajec. Haleiwa, 2012 (foto: Kalová, 2012)

Stejná možnost využívání HI je popsána i zde (Earthfarms, 2014): do BioPodu, tedy biokonverzační jednotky instalované nad kompostérem jsou vhazovány zkažené potraviny a kuchyňské zbytky (maso a zelenina) a poté se očekává nakladení vajec

[2] V podmínkách České republiky lze označit jako jídlo v bio kvalitě, ovšem bez příslušného certifikátu a tedy i označení.

bráněnkami *Hermetia illucens*. Snížení hmotnosti potravin v BioPodu v dobře fungující kolonii je 5 liber potravin za den, tj. cca 2,3 kg/den. Celý postup je popsán jako skvělý způsob, jak proměnit svůj organický odpad na ideální krmivo pro drůbež, a to vzhledem k obsahu živin (42 % bílkovin, 35 % tuků, 5 % vápníku). Zakuklené larvy se zkrmují kuřaty podle potřeby, některé larvy se ponechají, aby dokončily vývoj a opětovně nakladly vajíčka do organického odpadu. Nevýhodu lze spatřovat v poklesu aktivity s nástupem zimy. Jakmile teploty vzduchu klesnou pod 21 °C, konzumace odpadu larvami už neprobíhá ve stejném poměru. Možností je izolace BioPodu polystyrenem. Případně je možné dočasné nahrazení larev HI žížalami, které zkonzumují celulózu, kterou larvy HI nežerou. Tento postup zajišťuje snížení patogenních bakterií na hygienické limity (Earthfarms, 2014).

Mezinárodní společnost ESR International (USA), jejímž mottem je „Udělejme odpad naším největším zdrojem“, rozebírá postupy a výhody „biokonverzace“, tedy rozkladného postupu se záměrným využíváním larev bráněnky *Hermetia illucens*. Biokonverzační jednotky se v podstatě podobají odpadkovým košům, ale mají navíc evakuační rampy umožňující larvám přesun do odklízecí části. Za předpokladu účinnosti konzumace 15 kg/m^2/den mohou larvy zvládnout více než 5 kg potravinového odpadu denně. Tento údaj vychází z předpokladu aktivního povrchu larev v různých stupních vývoje o výšce 5 až 10 cm (řádově přes 100 tisíc larev). Společnost ESR International vyrábí biokonverzační jednotky jak z polyetylenu, tak v betonové variantě, která je ovšem z důvodu ceny a hmotnosti neefektivní. Tato betonová varianta je vhodná pro rozvojové země, protože beton je hojný a snadno dostupný materiál ve většině rozvojových zemí. Beton se dá nastavit recyklovanými materiály, jako je kámen, cihly nebo rozbité sklo, které mohou sloužit jako výplň. Tato jednotka nemusí mít dno, pokud jsou umístněna na pískovém loži, které slouží částečně jako filtr. To, co není zachyceno pískovým filtrem, je absorbováno kořeny rostlin. Jednotka musí být chráněna před deštěm, přesto však dostupná náletům dospělých jedinců HI. Dle společnosti ESR International je hlavní výhoda eliminace přepravních nákladů na skládku a také vylučování přírodního repelentu "synomome" - chemické mezidruhové komunikace, která by měla odhánět mouchy domácí z teritoria bráněnek HI (Esrinternational, 2013). O konkurenci larev HI a larev mouchy domácí vypovídá

i studie Newtona *et al.* (2005), která tvrdí, že larvy HI svojí přítomností dělají hnůj více tekutějším, a tedy i méně vhodným pro larvy mouchy domácí.

Koncové produkty technologie využívající larvy HI jsou tři, a to živé housenky *Hermetia illucens*, křehký černý kompost, koncentrovaná tekutina. Živé housenky lze využít jako krmivo pro drůbež, plazy, obojživelníky, všežravé a masožravé druhy ptáků, dále jako rybí návnady či živou stravu v rybnících. V akvakulturách, jako doplnění do smíšených kompostů či na vytvoření startovacích kolonií. Využití černého křehkého kompostu je možné jako vlastní půdní směs, hnojivo či doplněk půdy pro venkovní i pokojové rostliny; případně jako substrát pro žížaly v kompostéru. Koncentrovaná tekutina může sloužit jako přírodní repelent, dále jako návnada pro obnovení kolonie HI, případně jako kapalné hnojivo rostlin (zředěné v poměru 20:1). Tato technologie aplikovaná v malém měřítku s sebou nese následující výhody: snížení množství biologicky rozložitelného odpadu (kuchyňských zbytků), využití výkalů domácích mazlíčků, recyklace potravinového odpadu (kanceláře, domácnosti), snížení ekologické stopy, zlepšení kvality vstupů pro recyklační zpracování odpadů (BioPod, 2014).

Larvy HI po zakuklení lze používat jako krmivo pro zájmová zvířata, zejména kvůli dodržování příjmu denní dávky vápníku i fosforu, která by měla zamezit onemocněním křivicí a osteodistrofií (Terramusca.Bioreps, 2014). Ovšem jako krmivo by se neměly používat kukly, které vzešly z larev, jež konzumovaly tuhé exkrementy hospodářských zvířat, neboť tak by se těžké kovy zpětně dostávaly do potravního řetězce. Pravděpodobnost koncentrace těžkých kovů (např. Cr a Mn) je vyšší při konzumaci tuhých exkrementů hospodářských zvířat (Borkovcová, 2007).

Larvy HI mohou být důležité a účinné při přeměně organických odpadních materiálů do biomasy s vysokou nutriční hodnotou (Wontae *et al.*, 2011). Larvy HI mohou konzumovat širokou škálu rozkládajícího se organického materiálu, a to od potravinového odpadu (Barry, 2004; Jeon *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2012), přes hnůj (Newton *et al.*, 2005; Myers *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2011; Diener *et al.*, 2011) až k fekálním kalům (Lalander *et al.*, 2013).

Larvy HI upravují mikroflóru kompostu a snižují množství *Escherichia coli* (Liu *et al.*, 2008) a *Salmonella enterica* (van Huis *et al.*, 2013). Významným faktorem je množství a složení bakterií v trávicím traktu larev HI (Jeon *et al.*, 2011). Teplota

a vlhkost organické hmoty jsou důležité podmínky pro existenci, růst a činnost larvy (Holmes *et al.*, 2012). Změny pH v důsledku tvorby kyseliny při rozkladu organické hmoty mohou rovněž ovlivnit tento proces (Zorpas *et al.*, 2008). Larvy HI mají zcela vyvinutý trávicí systém, který jim umožňuje akumulovat kovy požitím potravin (Wontae *et al.*, 2011). Tyto změny by mohly ovlivňovat rozložení kovu ve vytváření komplexů, agregátů s huminovými kyselinami a dalších zpolymerovaných organických frakcí vedoucích ke změnám v dostupnosti kovů (Dominguez a Edwards, 2004). Pro larvy HI je hlavním orgánem střevo, které obsahuje amylázy, lipázy a proteázy pro trávení potravinového odpadu (Wontae *et al.*, 2011). Larvy HI jsou schopné absorbovat živiny a kovy povrchem těla. Zdá se, že fáze larvy má nejlepší akumulační kapacitu, protože dospělí jedinci nepotřebují potravu, neboť se spoléhají na živiny uložené z larválního stádia (Diclaro *et al*., 2009).

2.2.2 Aktuální stav v České republice

2.2.2.1 Vermikompostování

Po roce 1985, v kterém se metoda vermikompostování dostala i do našich zeměpisných šířek, bylo vermikompostování sdělovacími prostředky prezentováno jako novinka, která přináší velké možnosti ve zpracování biologicky rozložitelných odpadů. Protože za byznysem s žížalami stáli většinou laici a nedůvěryhodní jedinci, došlo k několika aférám, které technologii vermikompostování víc ublížily, jak prospěly (Slejška, 1999). Předpokladem pro úspěšné zavádění vermikompostování byly dostatečné zkušenosti s kompostováním[3], které vyžaduje stejně jako vermikompostování dodržování patřičných podmínek pro zajištění správného průběhu procesu, při němž žížaly zpracovávají uložený biologicky rozložitelný odpad a vytváří kvalitní biohumus. Při vermikompostování je důležité dodržovat patřičné hodnoty teploty, vlhkosti substrátu, složení a tedy i kyselosti substrátu, které mohou negativně ovlivnit činnost žížal, dokonce mohou způsobit jejich uhynutí.

[3] Ucelený přehled o kompostování v pásových hromadách nabízí publikace Petra Plívy z roku 2005. Popisuje jak technologii kompostování obecně, tak konkrétní postupy založení, průběhu a řízení kompostovacího procesu. Zabývá se i hodnocením vyrobeného kompostu i možnostmi jeho ekonomického zhodnocení. Podrobně popisuje stroje a zařízení nutné pro kompostování i provoz kompostárny. Nechybí části věnované logistice sběru a svozu surovin ke zpracování, celkové zhodnocení ekonomiky kompostování a aktuální přehled právních předpisů.

Kromě základních znalostí je ovšem třeba i ukázněný a zodpovědný přístup, který může chybět i u klasického kompostování. Velký problém lze spatřovat v takzvaných „skládkařských kompostárnách“, kde je místo organického hnojiva vyráběn spíše rekultivační substrát, který v lepším případě využíván pouze k překrývání povrchů skládek v době rekultivace, nikoliv k obohacování zemědělské půdy organickými hnojivy, kterých je nedostatek (Humplík, 2013).

Dnešní situace je vermikompostování příznivě nakloněna, a to jak v domácnostech, školních zařízení, firmách, tak v obcích, kterým svoje služby nabízí různé webové portály i poradny. Rady, postupy, doporučení i návody k vermikompostování, včetně legislativní opory a možností konzultace nabízí například webový portál občanského sdružení Ekodomov (Ekodomov, 2013).

Vermikompostování se daří i na úrovni záměrného zpracovávání různých typů odpadů ze zemědělské produkce, kalů z čistíren odpadních vod i biologicky rozložitelných odpadů z domácností. Možnost zpracování vyjmenovaných odpadů nabízí portál zaměřený na chov, poradenství i prodej kalifornských žížal (Vermikompostovani, 2014). Tento portál je provozován jako rodinný podnik bez nabídky prodeje vermikompostu jako hnojiva, tudíž bez garance teplot, které zajistí hygienizaci, a bez vlastností požadovaných zákonem č. 156/1998 Sb., o hnojivech, ve znění pozdějších předpisů, potažmo Vyhláška č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů. Odlišným podnikem je firma Karla Pecla, který již od roku 1990 nabízí vermikompost jako prodejní hnojivo. Sortiment firmy je stále rozšiřován dle specifických požadavků zákazníků a výrobky jsou oprávněny nést označení Bioprodukt ekologického zemědělství dle patřičného certifikátu (Ekovermes, 2014).

Firem, podniků i portálů věnujících se vermikompostování je samozřejmě výrazně větší množství. Vybrané příklady jsou ukázkou dvou odlišných přístupů, a to občanského sdružení, které má potřebu vzdělávat širokou veřejnost, a komerčních firem, které chtějí podnikat v oboru jim blízkém.

2.2.2.2 Využívání bráněnek Hermetia illucens v odpadovém hospodářství ČR

Česká republika zatím bráněnky HI v praxi nevyužívá. Je to dáno dvěma důvody. Prvním důvodem je neznalost této možnosti či nedostatek zájmu nebo prostoru se tomuto tématu věnovat. Pokusy s larvami bráněnek v rámci České republiky probíhají pouze na Agronomické fakultě Mendelovy univerzity v Brně. Druhým důvodem je nedostatečné vymezení v rámci platné legislativy, která tuto možnost přímo nezná, a proto ani nezpracovává podmínky využívání bráněnek HI pro zpracovávání BRO. Možnosti využívání bráněnek pro zpracování organických odpadů nejsou z právního pohledu zcela nepříznivé. Nadějí na využívání této technologie by byl zájem rybářů o soukromý chov pro produkci larev jako krmiva pro ryby. To je možné pro jednotlivce realizovat, protože se na ně jako fyzické osoby nevztahují přísné legislativní požadavky.

2.3 VYMEZENÍ LEGISLATIVY V OBLASTI BRO

Legislativa v oblasti BRO se řídí následujícími závaznými dokumenty.

2.3.1 Legislativní rámec EU

Řazení předpisů není chronologické, ale podle důležitosti či obecnosti předpisu. Nejprve jsou zmíněny směrnice, poté nařízení. Stěžejní je Nařízení Evropského parlamentu a Rady ES 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě a dále jeho prováděcí předpis Nařízení Evropské komise 142/2011.

2.3.1.1 Směrnice EP a Rady č. 98/2008 o odpadech

Tato směrnice stanoví právní rámec pro nakládání s odpady ve Společenství. Definuje klíčové pojmy, jako jsou odpady, využití a odstraňování odpadů a zavádí základní požadavky pro nakládání s odpady, zvláště povinnost zařízení nebo podniků zabývajících se nakládáním s odpady získat povolení nebo registraci a povinnost členských států vypracovat plány pro nakládání s odpady. Dále stanoví hlavní zásady, jako je například povinnost nakládat s odpady takovým způsobem, aby neměly nepříznivý dopad na životní prostředí a lidské zdraví, podporu při uplatňování hierarchie způsobů nakládání s odpady a v souladu se zásadou „znečišťovatel platí“

požadavek, podle něhož náklady na odstraňování odpadů nese držitel odpadu, předchozí držitelé či výrobci výrobků, z nichž odpad vznikl. Směrnice vyzývá k vytvoření nových nebo ke změně stávajících právních předpisů o odpadech, včetně upřesnění rozdílu mezi odpady a materiály, které nejsou odpady, a k vytvoření opatření pro předcházení vzniku odpadů a nakládání s odpadem, včetně stanovení cílů.

Pro nakládání s odpady by měla být určující hierarchie nakládání s odpady (**Obr. 12**). Dříve byla hierarchie pouze třístupňová: předcházení vzniku odpadů, využívání a odstraňování. Současná hierarchie je pětistupňová a na prvním místě je stále předcházení vzniku odpadů: „chovat se tak, abychom tvořili co nejméně odpadů“. Snahou má tedy být předejít situaci, aby odpad vznikal, tzn. omezovat jak odpadní materiály při výrobě či osobní spotřebě, tak plýtvání zdroji obecně – vodou, surovinami, teplem, elektřinou (tyto postupy popisují např. metody čistší produkce). Na druhém místě v hierarchii nakládání s odpady je „opětovné použití“: věci, které jsou již k nepotřebě, nevyhazovat, ale nalézt pro ně náhradní využití. Příkladem mohou být secondhandy, tedy obchody s oblečením z druhé ruky nebo ještě lépe věnování starého oblečení a textilu pro charitativní účely. Na třetím stupni hierarchie je „materiálové využití: třídit odpady v domácnosti, vyrábět z nich nové výrobky“. Spadá sem recyklace. Poněkud sporně lze do tohoto stupně zařadit kompostování, protože kompost není zcela výrobek a spíše nežli lidé ho vytvoří mikroorganismy. Čtvrtým stupněm je „jiné využití (např. energetické): ze zbytkových odpadů, které nelze jinak využít, vyrobit energii“. Patří sem jak bioplynové stanice i spalovny odpadů. Posledním stupněm je „odstranění: do skládky ukládat pouze inertní odpady“.

Obr. 12 Hierarchie nakládání s odpady (Zdroj: www.odpadjeenergie.cz, 2013)

První část v České republice je dle dostupných zdrojů plněna: z komunálních odpadů se třídí využitelné složky (papír, sklo, plasty, nápojové kartony) a recyklují se na jiné výrobky. Zbytek po vytřídění však jde na skládky, což je to zmiňované "odstranění". Podle evropské směrnice č. 98/2008 o odpadech, která je v současnosti platná, by se však tyto odpady měly ještě energeticky využít, a teprve zbytek, který již využít nelze (např. škvára), může být uložen na skládku (Odpadjeenergie, 2014). Hranice mezi předcházením vzniku odpadů a jejich využitím není vždy jasná. Mnohé aktivity oficiálně považované za předcházení vzniku odpadů jsou předcházením pouze *de-jure* a nikoliv *de-facto*. Příkladem je komunitní kompostování: BRO vzniklého v domácnostech či na obci se je nutno se zbavit (odpad *de-facto* vznikne) a odložením do obecní kompostárny se pouze zajistí jeho využití. Ale tím, že se takto nedostal do evidence odpad, *de-jure* nevznikl (Procházka, 2013).

2.3.1.2 Směrnice Rady 1999/31/ES o skládkách odpadů

Obecným cílem této směrnice je stanovit pomocí přísných technických a provozních požadavků na odpady a skládky opatření, postupy a návody pro předcházení nebo maximální omezení negativních účinků skládkování odpadů na životní prostředí, a zejména znečištění povrchových vod, podzemních vod, půdy a ovzduší a také globální účinky včetně skleníkového efektu, jakož i veškerá z toho plynoucí rizika ohrožení lidského zdraví, a to v průběhu celého životního cyklu skládky.

2.3.1.3 Nařízení Evropského parlamentu a Rady ES 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu)

Toto nařízení definuje článkem 10 materiál kategorie 3 („nevhodné k lidské spotřebě " či „…vhodné k lidské spotřebě, avšak z obchodních důvodů nejsou k lidské spotřebě určeny" anebo z důvodů „… problémů způsobených výrobními vadami, vadami balení nebo jinými závadami, z nichž nevzniká žádné riziko pro zdraví lidí ani zvířat, již nejsou určeny k lidské spotřebě"), který vnímám jako další potenciální oblast, kde by se mohly uplatnit larvy HI. Proto jsou pouze podrobněji zmíněny vybrané náležitosti tohoto nařízení, které se vztahují či by se výhledově mohly vztahovat k využívání bráněnek HI v odpadovém hospodářství.

Dle odstavce (45) by se ke krmení hospodářských zvířat jiných než kožešinových měl používat pouze materiál kategorie 3. V nařízení se vyskytuje i negativní vymezení krmiva. Jako krmivo by se neměly používat ani vedlejší produkty živočišného původu ze zvířat používaných k pokusům, definovaných ve směrnici 86/609/EHS, neboť tyto vedlejší produkty živočišného původu představují možné riziko. Členské státy však mohou v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003 ze dne 22. září 2003 o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat povolit používání vedlejších produktů živočišného původu ze zvířat používaných k testování nových doplňkových látek v krmivu. Kromě negativních zákazů, čím a koho není možné krmit, definuje nařízení i pozitivní odchylky v případě zvířat v zájmovém chovu, což vymezuje článek 16 Odchylky. Odchylně od článků 12, 13 a 14 se vedlejší produkty živočišného původu smějí: v případě materiálu kategorie 3 a pokud to povolí příslušný orgán, používat ke krmení zvířat v zájmovém chovu. K navrhované konzumaci odpadu larvami se vyjadřuje článek 18 Zvláštní krmné účely takto: „příslušný orgán může povolit sběr a používání materiálu kategorie 3 ke krmení: zvířat chovaných v zoologických zahradách, zvířat chovaných v cirkusech, plazů a dravých ptáků jiných než chovaných v zoologických zahradách a cirkusech, kožešinových zvířat, volně žijících zvířat, psů z uznaných chovných stanic nebo smeček loveckých psů, psů a koček v útulcích, larev a červů pro rybí návnady." Článek 14 Neškodné odstranění a použití materiálu kategorie 3 vyjmenovává mimo jiné tyto možnosti: k výrobě krmiv pro hospodářská zvířata jiná než kožešinová, k výrobě krmiv pro kožešinová zvířata,

k výrobě krmiv pro zvířata v zájmovém chovu, nebo k výrobě organických hnojiv nebo půdních přídavků; použije k výrobě syrových krmiv pro zvířata v zájmovém chovu.

Nařízení stanoví podmínky sběru, identifikace kategorie, přepravy i uvádění na trh ve článcích 21, 31 a 32: provozovatelé sbírají, přepravují a neškodně odstraňují odpad ze stravovacích zařízení, který je materiálem kategorie 3, v souladu s opatřeními jednotlivých členských států uvedenými v článku 13 směrnice 2008/98/ES. Uvádění na trh není možné pro materiál kategorie 3 vyjmenovaný pod písmeny n), o) a p), což jsou například kůže a kožky, paznehty, peří, vlna, rohy, srst a kožešiny, které pocházejí z mrtvých zvířat, která nevykazovala žádné příznaky onemocnění přenosného tímto materiálem na člověka nebo zvířata a odpady ze stravovacích zařízení, kromě odpadů uvedených v čl. 8 písm. f). Vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty určené ke krmení hospodářských zvířat jiných než kožešinových mohou být uvedeny na trh, pouze pokud patří mezi materiály kategorie 3 nebo jsou z nich získány, kromě materiálů uvedených v čl. 10 písm. n), o) a p). Uvádění na trh a používání vykazuje spojitost se zmíněným zákonem o hnojivech: Organická hnojiva a půdní přídavky mohou být uvedeny na trh a používány, pokud byly získány z materiálu kategorie 2 nebo materiálu kategorie 3.

Toto nařízení dále vymezuje v odstavci (55) možnost stanovit povinnost tlakové sterilizace a pomocné přepravní podmínky. Za účelem sledovanosti a spolupráce mezi příslušnými orgány členských států je používán systém Traces, zavedený rozhodnutím Komise 2004/292/ES. Je to systematický nástroj řízení rizik pro veřejné zdraví a zdraví zvířat, který má umožňovat snadné a včasné sdílení informací pomocí integrovaného veterinárnímu systému, který zahrnuje elektronické databáze pohybu zvířat i některých produktů živočišného původu v rámci EU i třetích zemích. Rozebírané nařízení zohledňuje potenciální požadavky vědeckého bádání a předvídá možnost změn podstatných článků. Články 8, 9 a 10 mohou být změněny, aby se zohlednil vědecký pokrok, pokud jde o posuzování úrovně rizika, může-li být takový pokrok stanoven na základě posouzení rizik provedeného příslušnou vědeckou institucí. Žádné vedlejší produkty živočišného původu stanovené v uvedených článcích však nesmějí být z uvedených seznamů odstraněny; v seznamech lze pouze měnit kategorizaci či doplňovat produkty.

2.3.1.4 Nařízení (EU)komise č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a provádí směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice

Prováděcí předpis nařízení (ES) č. 1069/2009 stanoví veterinární a hygienická pravidla pro vedlejší produkty živočišného původu a produkty z nich získané. Uvedené nařízení určuje okolnosti, za nichž mají být vedlejší produkty živočišného původu neškodně odstraněny, aby se zabránilo šíření rizik pro zdraví lidí a zvířat. Nařízení navíc upřesňuje, za jakých podmínek lze vedlejší produkty živočišného původu používat v krmivech a pro různé jiné účely, například v kosmetických prostředcích, léčivých přípravcích a pro technická použití. Rovněž stanoví povinnosti pro provozovatele, podle nichž mají s vedlejšími produkty živočišného původu manipulovat v zařízeních a podnicích, které podléhají úředním kontrolám. Podrobná pravidla pro používání a neškodné odstraňování vedlejších produktů živočišného původu v tomto nařízení by měla být stanovena tak, aby bylo dosaženo cílů nařízení (ES) č. 1069/2009, zejména udržitelného využívání materiálů živočišného původu, a vysoké úrovně ochrany zdraví lidí a zvířat v Evropské unii.

Nařízení (ES) č. 1069/2009 se vztahuje na odpad ze stravovacích zařízení, pokud tento odpad pochází z dopravních prostředků mezinárodní přepravy, například materiály z potravin podávaných na palubě letadel či lodí, které přilétají nebo připlouvají do Evropské unie ze třetí země. Odpad ze stravovacích zařízení rovněž spadá do oblasti uvedeného nařízení, pokud je určen ke krmným účelům, ke zpracování v souladu s jednou z povolených zpracovatelských metod popsaných v tomto nařízení nebo k přeměně na bioplyn nebo ke kompostování. Nařízení (ES) č. 1069/2009 zakazuje, aby byla odpadem ze stravovacích zařízení krmena jiná hospodářská zvířata než zvířata kožešinová. Z toho důvodu lze v souladu s nařízením (ES) č. 1069/2009 odpad ze stravovacích zařízení zpracovávat a následně používat za předpokladu, že tato zvířata nejsou krmena produktem, který je z tohoto odpadu získán.

Příslušný orgán členského státu by měl mít možnost povolit alternativní parametry pro přeměnu vedlejších produktů živočišného původu na bioplyn a pro jejich

kompostování, a to na základě ověření podle harmonizovaného vzoru. V takovém případě by mělo být možné uvádět zbytky rozkladu a kompost na trh v celé Evropské unii. Příslušný orgán členského státu by navíc měl mít možnost povolit určité parametry pro specifické vedlejší produkty živočišného původu, například odpad ze stravovacích zařízení a směsi odpadu ze stravovacích zařízení s některými jinými materiály, které jsou přeměňovány na bioplyn nebo kompostovány. Vzhledem k tomu, že tato povolení nejsou vydávána podle harmonizovaného vzoru, měly by být zbytky rozkladu a kompost uváděny na trh pouze ve členském státě, v němž byly dané parametry povoleny.

Nařízení (ES) č. 1069/2009 zavedlo řízení o povolení alternativních metod pro využívání nebo neškodné odstranění vedlejších produktů živočišného původu nebo získaných produktů. Takovéto metody může Komise povolit po obdržení stanoviska od Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (dále jen „EFSA“). Aby se úřadu EFSA usnadnilo hodnocení žádostí, měl by být stanoven standardní formát, který by žadatelům objasňoval povahu důkazů, které je třeba předložit. V souladu se Smlouvami by mělo být možné předkládat žádosti o alternativní metody v úředních jazycích Unie.

V kapitole II se článkem 10 stanoví “požadavky na přeměnu vedlejších produktů živočišného původu a získaných produktů na bioplyn a na kompostování”, které se vyžadují od provozovatelů. Jsou to a) požadavky vztahující se na zařízení na výrobu bioplynu nebo kompostování stanovené v kapitole I; b) hygienické požadavky vztahující se na zařízení na výrobu bioplynu nebo kompostování stanovené v kapitole II;c) standardní parametry přeměny stanovené v oddíle 1 kapitoly III; d) normy pro zbytky rozkladu a kompost stanovené v oddíle 3 kapitoly III.

V kapitole IV Povolení alternativních metod je článkem 16 dán Standardní formát žádosti o povolení alternativních metod: Žádosti o povolení alternativních metod použití nebo neškodného odstranění vedlejších produktů živočišného původu nebo získaných produktů uvedené v čl. 20 odst. 1 nařízení (ES) č. 1069/2009 předkládají členské státy nebo zainteresované subjekty v souladu s požadavky standardního formátu pro žádosti o alternativní metody stanoveného v příloze VII. Členské státy určí národní kontaktní místa, která budou poskytovat informace o příslušném orgánu, který je odpovědný za hodnocení žádostí o povolení alternativních metod použití nebo neškodného odstranění

vedlejších produktů živočišného původu. Komise zveřejní seznam národních kontaktních míst na svých internetových stránkách.

Kapitola II "Hygienické požadavky a požadavky na zpracování" v oddíle 1 definuje obecné hygienické požadavky (zdokumentovaný program hubení škůdců pro účely provádění opatření ochrany proti škůdcům, jako jsou hmyz, hlodavci a ptáci) a oddílem 2 určuje obecné požadavky na zpracování. Oddíl 4 se věnuje zpracování materiálu kategorie 3. Kritické kontrolní body, které určují rozsah tepelných ošetření uplatněných při zpracování, u každé ze zpracovatelských metod uvedených v kapitole III musí zahrnovat: a) velikost částic surového materiálu; b) teplotu dosaženou při procesu tepelného ošetření; c) tlak, je-li vyvinut na surový materiál; d) délku trvání procesu tepelného ošetření nebo objem vstupujícího materiálu za jednotku času do kontinuálního systému. Pro každý použitelný kritický kontrolní bod musí být určeny minimální normy zpracování. U chemických ošetření, která příslušný orgán povolil jako zpracovatelskou metodu č. 7 v souladu s bodem G kapitoly III, musí kritické kontrolní body, které určují rozsah použitých chemických ošetření, zahrnovat dosaženou úpravu pH. Záznamy se uchovávají po dobu minimálně dvou let, aby se prokázalo, že jsou uplatňovány minimální procesní hodnoty pro každý kritický kontrolní bod. Materiál kategorie 3 se zpracovává v souladu s některou ze zpracovatelských metod č. 1 až 5 a se zpracovatelskou metodou č. 7, nebo v souladu s některou ze zpracovatelských metod č. 1 až 7 uvedených v kapitole III, pokud takový materiál pochází z vodních živočichů.

Kapitola III „Standardní zpracovatelské metody" stanoví šest metod, kde jsou odlišné podmínky pro velikost částic, teplotu, tlak a dobu zdržení. Jako zpracovatelská metoda č. 7 je chápána každá zpracovatelská metoda schválená příslušným orgánem, u které provozovatel tomuto orgánu prokázal tyto body: a) identifikace příslušných rizik ve výchozím materiálu s ohledem na původ materiálu a možných rizik s ohledem na nákazový status ve členském státě nebo oblasti či pásmu, kde má být metoda použita; b) schopnost zpracovatelské metody snížit tato rizika na úroveň, která nepředstavuje závažná rizika pro zdraví lidí a zvířat; c) z konečného produktu byl denně po dobu 30 produkčních dnů odebírán vzorek v souladu s těmito mikrobiologickými normami: i) vzorky materiálu odebrané bezprostředně po ošetření: *Clostridium perfringens*: nepřítomnost v 1 g produktu; ii) vzorky materiálu odebrané v průběhu skladování nebo při vyskladnění: *Salmonella*: nepřítomnost v 25 g produktu: n = 5, c = 0, m = 0, M = 0;

Enterobacteriaceae: n = 5, c = 2, m = 10, M = 300 v 1 g; kde: n = počet vzorků, které mají být vyšetřeny; m = prahová hodnota počtu bakterií; výsledek je považován za uspokojující, pokud počet bakterií ve všech vzorcích není vyšší než m; M = mezní hodnota počtu bakterií; výsledek je považován za neuspokojivý, pokud se počet bakterií v jednom nebo více vzorcích rovná M nebo je vyšší; a c = počet vzorků, jejichž bakteriální počet smí být v rozmezí mezi m a M, přičemž vzorek je ještě stále považován za přípustný, pokud je bakteriální počet ostatních vzorků roven m nebo nižší.

Podrobné údaje o kritických kontrolních bodech, podle kterých každé zpracovatelské zařízení uspokojivě splňuje mikrobiologické normy, musí být zaznamenávány a uchovávány, aby provozovatel a příslušný orgán mohli sledovat provoz zpracovatelského zařízení. Údaje, které mají být zaznamenávány a sledovány, musí obsahovat velikost částic a v příslušných případech kritickou teplotu, absolutní dobu, profil tlaku, objem vstupujícího surového materiálu za jednotku času a míru recyklace tuku. Odchylně od odstavce 1 může příslušný orgán povolit použití zpracovatelských metod, které byly schváleny před dnem použitelnosti tohoto nařízení, a to v souladu s kapitolou III přílohy V nařízení (ES) č. 1774/2002.

Příloha V „Přeměna vedlejších produktů živočišného původu a získaných produktů na bioplyn, kompostování“ určuje v kapitole III parametry pro přeměnu. Oddíl 1 se věnuje standardním parametrům pro přeměnu: na materiál kategorie 3, který se používá jako surovina v zařízeních na výrobu bioplynu vybavených pasterizačně/ hygienickou jednotkou, se musí vztahovat tyto minimální požadavky: a) maximální velikost částic před vstupem do jednotky: 12 mm; b) minimální teplota celé hmoty materiálu v jednotce: 70 °C; c) minimální doba v jednotce bez přerušení: 60 minut.

Oddíl 2 se věnuje alternativním parametrům pro přeměnu pro zařízení na výrobu bioplynu a kompostování. Příslušný orgán však může povolit použití jiných parametrů než parametrů stanovených v odstavci 1 oddílu 1 kapitoly I a než standardních parametrů pro přeměnu, pokud žadatel prokáže, že tyto parametry zajišťují odpovídající snížení biologických rizik. Do uvedeného prokázání patří ověření, které se provádí v souladu s těmito požadavky: a) identifikace a rozbor možných rizik včetně účinku vstupního materiálu na základě úplného popisu podmínek a parametrů přeměny;

b) posouzení rizik, jež vyhodnotí, jak je v praxi za běžné a atypické situace dosahováno zvláštních podmínek přeměny podle písmene a); c) ověření zamýšleného procesu pomocí měření snížení životaschopnosti/infekčnosti: i) endogenních indikátorových organismů během procesu, kde indikátor je trvale přítomen v surovině ve vysokém počtu, kde indikátor není méně termorezistentní vůči letálním aspektům procesu přeměny, ale ani není mnohem více rezistentní než patogeny, k jejichž sledování se používá, kde indikátor je poměrně snadno kvantifikovatelný, identifikovatelný a potvrditelný, nebo ii) dobře charakterizovaného testovacího organismu nebo viru během expozice, který je ve vhodném testovacím tělese vložen do výchozího materiálu; d) ověření zamýšleného procesu podle písmene c) musí prokázat, že je procesem dosaženo tohoto celkového snížení rizik: i) u tepelných a chemických procesů: snížením *Enterococcus faecalis* nebo *Salmonella Senftenberg*o pět řádů (775W, H2S negativní) a snížením infekčního titru termorezistentních virů, jako je *parvovirus*, nejméně o tři řády, pokud jsou identifikovány jako příslušné riziko a ii) u chemických procesů rovněž snížením množství rezistentních parazitů, jako jsou vajíčka *Ascari s*sp., nejméně o 99,9 % (3 řády) životaschopných stadií; e) navržení komplexního kontrolního programu včetně postupů sledování fungování procesu podle písmene c); f) opatření, která zaručují kontinuální sledování příslušných parametrů procesu stanovených v kontrolním programu během provozu zařízení a dohled nad těmito parametry.

Podrobné údaje o příslušných parametrech procesu používaných v zařízeních na výrobu bioplynu a kompostování a rovněž o jiných kritických kontrolních bodech musí být zaznamenávány a uchovávány, aby vlastník, provozovatel nebo jejich zástupce a příslušný orgán mohli sledovat provoz zařízení. Provozovatel musí záznamy na požádání poskytnout příslušném orgánu. Komisi musí být na požádání k dispozici informace týkající se procesu povoleného podle tohoto odstavce. Dokud však nebudou přijata pravidla uvedená v čl. 15 odst. 2 písm. a) bodě ii) nařízení (ES) č. 1069/2009, příslušný orgán může odchylně od odstavce 1 povolit využití jiných zvláštních požadavků než požadavků stanovených v této kapitole, pokud v souvislosti se snížením patogenních původců zaručují rovnocenný účinek u: a) odpadu ze stravovacích zařízení, který je použit jako jediný vedlejší produkt živočišného původu v zařízení na výrobu bioplynu nebo kompostování; a b) směsí odpadu ze stravovacích zařízení a těchto materiálů: hnoje, obsahu trávicího traktu vyjmutého z trávicího traktu,…

Oddíl 3 stanoví normy pro zbytky rozkladu a kompost: a) reprezentativní vzorky odebrané ze zbytků rozkladu nebo kompostu v průběhu přeměny či ihned po přeměně v zařízení na výrobu bioplynu nebo v průběhu kompostování či ihned po zkompostování v zařízení na kompostování musí za účelem sledování procesu splňovat tyto normy: *Escherichia coli*: n = 5, c = 1, m = 1 000, M = 5 000 v 1 g; nebo *Entero coccaceae*: n = 5, c = 1, m = 1 000, M = 5 000 v 1 g; a b) reprezentativní vzorky odebrané ze zbytků rozkladu nebo kompostu v průběhu nebo při vyskladnění musí splňovat tyto normy: *Salmonella*: nepřítomnost v 25 g produktu: n = 5, c = 0, m = 0, M = 0; kde v případě písmene a) nebo b): n = počet vzorků, které mají být vyšetřeny; m = prahová hodnota počtu bakterií; výsledek je považován za uspokojující, pokud počet bakterií ve všech vzorcích není vyšší než m; M = mezní hodnota počtu bakterií; výsledek je považován za neuspokojivý, pokud se počet bakterií v jednom nebo více vzorcích rovná M nebo je vyšší; a c = počet vzorků, jejichž bakteriální počet smí být v rozmezí mezi m a M, přičemž vzorek je ještě stále považován za přípustný, pokud je bakteriální počet ostatních vzorků roven m nebo nižší. Zbytky rozkladu nebo kompost, které nesplňují požadavky uvedené v tomto oddíle, se znovu podrobí přeměně nebo kompostování a v případě salmonely s nimi musí být manipulováno nebo musí být neškodně odstraněny v souladu s pokyny příslušného orgánu.

Příloha VII se věnuje standardnímu formátu žádosti o alternativní metody, kapitola II popisuje obsah žádosti. Žádosti musí obsahovat všechny nezbytné informace o následujících bodech, aby mohl úřad EFSA posoudit bezpečnost alternativní metody, která je v nich navržena: a) o kategoriích vedlejších produktů živočišného původu, které mají být podrobeny alternativní metodě, a to odkazem na kategorie uvedené v článcích 8, 9 a 10 nařízení (ES) č. 1069/2009; b) o identifikaci a charakterizaci rizikových materiálů podle těchto zásad: značně rizikové materiály musí být identifikovány odděleně. U každého materiálu musí být posouzena pravděpodobnost vystavení lidí a zvířat tomuto materiálu za běžných a mimořádných/abnormálních provozních podmínek. Musí být posouzeno možné riziko v případě značného vystavení; c) o snížení rizika původců podle těchto zásad: na základě přímých měření musí být odhadnuto snížení rizika pro zdraví lidí a zvířat, jehož lze procesem dosáhnout. Pokud není k dispozici přímé měření, lze rovněž použít modelování nebo extrapolaci z jiných procesů. Aby se prokázalo účinné snížení rizika, musí být identifikované nebezpečí (jako je *Salmonella*) množstevně vyjádřeno jak z hlediska vstupního (surového)

materiálu, tak výsledného výstupního materiálu. Pro účely této kapitoly sestává výstupní materiál z konečných produktů, které jsou výsledkem procesu, a vedlejších produktů získaných z procesu. Odhady musí být doloženy důkazy. Sem patří – u měření – informace o použité metodice (citlivost a spolehlivost použitých metod), povaha vzorků, které byly analyzovány, a důkaz, že jsou vzorky reprezentativní (příslušné reálné vzorky, počet provedených vyšetření). Pokud jsou pro měření prionů použity náhrady, měla by být vysvětlena jejich relevance. Musí být předloženo hodnocení validity s ohledem na příslušné nejistoty; d) o omezení rizika podle těchto zásad: Musí být analyzována pravděpodobná účinnost technických opatření použitých k tomu, aby se zaručilo, že jsou rizika omezena. Tato analýza musí odrážet běžné a abnormální/mimořádné provozní podmínky včetně selhání procesu. Musí být upřesněny postupy sledování a dohledu k prokázání omezení rizika. Pokud není možné riziko zcela omezit, je nutné možná rizika posoudit a vytvořit identifikaci vzájemně propojených procesů podle těchto zásad: musí být vyhodnoceny možné nepřímé dopady, které mohou ovlivnit schopnost konkrétního procesu snížit riziko. Nepřímé dopady mohou být výsledkem přepravy, skladování a bezpečného neškodného odstranění konečných produktů, které jsou výsledkem procesu, a vedlejších produktů získaných z procesu; f) o zamýšleném konečném využití konečných produktů a vedlejších produktů podle těchto zásad: musí být upřesněno zamýšlené konečné využití konečných produktů a vedlejších produktů procesu. Ze snížení rizika odhadnutého podle písmene c) musí být vypočtena pravděpodobná rizika pro zdraví lidí a zvířat. Žádosti se předkládají spolu s dokumentací, zejména s grafem toku, z nějž je patrné fungování procesu, s důkazy uvedenými v odst. 1 písm. c), jakož i s dalšími důkazy, které mají opodstatnit vysvětlení uvedené v rámci stanoveném v odstavci 1. Žádosti musí obsahovat kontaktní adresu zainteresovaného subjektu, která zahrnuje jméno a úplnou adresu, telefonní a/nebo faxové číslo a/nebo adresu elektronické pošty konkrétní kontaktní osoby, která nese odpovědnost buď jako zainteresovaný subjekt, nebo jeho jménem.

2.3.2 Legislativní rámec ČR

Z českého práva rozepisuji aktuální novelu Zákona o odpadech č. 185/2001 Sb. a vyhlášku č. 341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s BRO. Další zákony, které se k řešené problematice vztahují okrajově, jsou pouze vyjmenovány:

- Vyhláška č. 61/2010 Sb., kterou se mění vyhláška 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, ve znění vyhlášky č. 341/2008 Sb., a vyhláška č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, ve znění pozdějších předpisů

- Vyhláška č. 381/2001 Sb., Ministerstva životního prostředí, kterou se stanoví Katalog odpadů, Seznam nebezpečných odpadů a seznamy odpadů a států pro účely vývozu, dovozu a tranzitu odpadů a postup při udělování souhlasu k vývozu, dovozu a tranzitu odpadů (Katalog odpadů), v aktuálním znění
- Vyhláška č. 382/2001 Sb. Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě
- Zákon č. 477/2001 Sb., o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech)
- vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb. o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů

- Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu

2.3.2.1 Zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech, ve znění pozdějších předpisů

Novela Zákona o odpadech 185/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů (v době psaní práce tzv. ekoauditová novela Zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech ve znění č. 169/2013 Sb. s účinností ode dne 1. 10. 2013) se liší např. zrušením povinnosti původců odpadů zpracovávat plán odpadového hospodářství původce, avšak zůstává povinnost pro obce). Problematika BRO je rozebírána ve čtvrté části zákona v §33a - 33b. Zákon stanovuje povinnosti při sběru, výkupu nebo využívání BRO. Zákon dále ukládá povinnost zařazovat BRO podle jeho skutečných vlastností, složení a způsobu materiálového využití; označovat a vybavovat návodem k použití v souladu s jeho konečným materiálovým využitím. Zákon stanovuje podmínky provozování tzv. „malých zařízení“ (tj. zařízení, která zpracovávají využitelné BRO zejména z obecní zeleně a zahrad v množství nepřekračujícím 10 Mg těchto odpadů pro jednu zakládku. Roční množství těchto odpadů zpracovaných v malém zařízení nesmí přesáhnout 150

Mg) bez souhlasu příslušného krajského úřadu k provozu těchto zařízení a s jeho provozním řádem podle § 14 odst. 1 zákona o odpadech. Tato malá zařízení lze zřídit a provozovat na základě souhlasného vyjádření obecního úřadu obce s rozšířenou působností podle § 79 odst. 4 písm. e) zákona o odpadech, v souladu s požadavky zvláštních právních předpisů spravujících ochranu veřejného zdraví a ochranu zdraví zaměstnanců při práci, a také v souladu s technologickým popisem, kde je uveden způsob biologického zpracování odpadů spolu se základními požadavky na zřízení malého zařízení stanovenými v prováděcí vyhlášce. Jako opatření pro předcházení vzniku odpadů je, v ustanovení § 10a zákona, obci umožněno stanovit ve své samostatné působnosti obecně závaznou vyhláškou obce systém komunitního kompostování a způsob využití zeleného kompostu k údržbě a obnově veřejné zeleně na území obce.

2.3.2.2 Vyhláška č. 341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s BRO v platném znění

Podmínky nakládání s BRO vymezuje vyhláška, která vznikla spoluprací ministerstev životního prostředí, zemědělství a zdravotnictví, a to Vyhláška 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, (Vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady) s účinností ode dne 12. 9. 2008, ve znění pozdějších předpisů. Vyhláška uvádí seznam BRO využitelných v různých zařízeních pro jejich zpracování, stanovuje technologické požadavky na kompostárny a bioplynové stanice a upravuje kvalitu výstupů z těchto zařízení včetně možnosti jejich dalšího použití. Vyhláška používá pojem bioodpad, čímž míní biologicky rozložitelný odpad. Předpis vymezuje dvě zařízení k biologickému zpracování bioodpadů, a ty dělí podle používané technologie na: a) kompostárny a další zařízení s aerobním procesem zpracování bioodpadů a b) bioplynové stanice a další zařízení s anaerobním procesem zpracování bioodpadů. Nové rozdělení výstupů nakládání s bioodpadem by mělo vyřešit problematický odbyt vyrobených kompostů, hnojiv či digestátů při rekultivacích, terénních úpravách. Vyhláška dále stanoví obsah provozního řádu zařízení, způsob a kritéria hodnocení

a zařazování upravených bioodpadů do skupin podle způsobů jejich materiálového využívání a také četnost a metody vzorkování.

Vyhláška č. 341/2008 Sb. také zavádí pojem vytříděný kuchyňský odpad z kuchyní, jídelen a stravoven, který je definován jako odpad pouze rostlinného charakteru (např. zbytky ovoce a zeleniny), který nepřišel do styku se surovinami živočišného původu (např. se syrovým masem, vejci, mlékem). S vytříděným kuchyňským BRO tohoto charakteru není nutno postupovat podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady ES 1069/2009 (není tedy chápán jako vedlejší produkt živočišného původu - VPŽP), jeho zpracování se řídí předpisy pro zpracování běžných BRO. Ovšem s ostatními kuchyňskými zbytky z jídelen a stravoven by se mělo zacházet jako s VPŽP podle Nařízení ES č. 1069/2009, tj. využívat či odstraňovat je v souladu s tímto nařízením, tj. ve speciálních zařízeních schválených podle tohoto nařízení (spalovny, bioplynové stanice, kompostárny). V žádném případě tedy nelze předávat kuchyňské zbytky jídel ze stravoven fyzickým osobám (občanům) ke zkrmování, ale vždy podnikatelským subjektům k tomu oprávněným buď podle uvedeného nařízení anebo podle Zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech, ať už úplatně či bezúplatně. Toto se nevztahuje na kuchyňské odpady z domácností, s kterými lze od 4. 3. 2011 nakládat jako s běžným BRO, protože již nespadají do kategorie VPŽP.

2.4 TĚŽKÉ KOVY A BIOAKUMULAČNÍ FAKTOR (BAF)

Problematika těžkých kovů a jejich kumulace v životním prostředí by měla být významnou součástí ochrany životního prostředí. Znečištění zemědělské půdy těžkými kovy jako jsou kadmium (Cd), měď (Cu), nikl (Ni), olovo (Pb) nebo zinek (Zn), které není způsobeno zvýšeným obsahem kovů v podloží, vzniká v důsledku předchozí průmyslové činnosti, nadměrné aplikace hnojiv nebo čistírenských kalů do půdy. Plodiny pěstované na kontaminovaných půdách ukládají ve svých pletivech zvýšené koncentrace rizikových prvků. Dochází tak k postupné kumulaci těžkých kovů v potravním řetězci a ke zvyšování koncentrace v orgánech živočichů a člověka. Těžké kovy mohou způsobovat zdravotní problémy, působí především na nervovou a cévní soustavu, ukládají se v játrech a ledvinách. Znečištěná půda ovlivňuje i další složky prostředí: hydrosféru (zejména kvalitu vody) nebo atmosféru (Novotná, 2012).

Těžké kovy jsou chemické prvky o hustotě vyšší než 5 g/cm3. Patří mezi ně zejména přechodné kovy, polokovy a nekovy. Mezi nejvýznamnější těžké kovy se řadí rtuť (Hg), měď (Cu) a olovo (Pb), dále pak hliník (Al), arsen (As) nebo nikl (Ni), mangan (Mn) a chrom (Cr). Některé z nich, železo (Fe), měď (Cu), zinek (Zn), jsou pro živé organismy nezbytné, ovšem při vyšších koncentracích jsou všechny silně toxické. V životním prostředí je přirozeným zdrojem těžkých kovů zvětrávaní mateřské horniny. V současnosti velká část těžkých kovů kontaminující půdu, vodu, atmosféru a potažmo i organismy pochází z lidské činnosti. Některé kovy jako olovo (Pb) a rtuť (Hg) jsou v biologických cyklech několikanásobně hojnější, než by odpovídalo přirozenému pozadí. Těžké kovy se ukládají v tělech organismů (rostlin i živočichů) a kumulují se v potravním řetězci. Hlavním zdrojem těžkých kovů pocházejících z antropogenní činnosti je metalurgický průmysl, spalování fosilních paliv a automobilová doprava. Dále dochází k uvolňování kovů při průmyslových procesech, kde se využívají jejich sloučeniny, při používání výrobků obsahujících těžké kovy nebo při spalování odpadů a čistírenských kalů (Ulbrichová, 2013).

V atmosféře se těžké kovy vyskytují v plynné nebo pevné formě a většinou v malé koncentraci. K největší akumulaci těžkých kovů dochází v půdě. Jejich geochemické cykly záleží nejvýrazněji zejména na pH půdy, dále také na podmínkách dané lokality a přítomnosti dalších prvků v půdě. Těžké kovy přijaté organismy se z větší části opět vylučují do prostředí, část z nich však zůstává a váže (akumuluje) se v některých orgánech. U živočichů především v kostech, zubech, ledvinách a játrech, kde pak způsobují mnohá onemocnění. Na rostliny působí jednak nepřímo vlivem znečištěného ovzduší, kdy dochází k poškození nadzemních orgánů, které se pokrývají prašnými částicemi a ucpávají se jim průduchy. Především však rostliny čerpají těžké kovy přímo z půdy. U člověka těžké kovy napadají nervovou a cévní soustavu, játra a ledviny. Mírná intoxikace může způsobovat bolest hlavy, únavu nebo malátnost (Novotná, 2012).

Některé těžké kovy (např. Ni, Zn) mají významnou roli v mnoha biochemických procesech a jejich přítomnost je nezbytná pro správnou funkci organismu. Ovšem v koncentracích nad určitou úrovní vyvolávají nežádoucí účinky, čímž se z esenciálních prvků stávají toxickými (Emsley, 1991). Naopak některé kovy jsou pro organismus toxické vždy jako např. Hg, Cd, As. Tyto kovy se vyskytují v životním prostředí

v různých formách a v rozmanité toxické účinnosti. Změna redoxních podmínek prostředí způsobí změnu formy specii[4] a jejich biodostupnosti (Stoeppler, 1992). Pro organismus jsou nejvíce škodlivé rozpustné formy kovů, které do něj vstupují buď přechodem přes buněčnou membránu nebo prostřednictvím potravního řetězce (Newman a Jagoe, 1994). Za nejvíce toxické formy kovů jsou považovány jednoduché hydratované ionty kovů, zatímco nejméně toxické bývají vyhodnocovány silné komplexy a kovy vázané na koloidní částice (Jain a Ali, 2000).

Mezi základní bioprocesy, kterým těžké kovy podléhají, patří biokoncentrace, bioakumulace a bioobohacování. Procesy biokoncentrace a bioakumulace jsou si velmi blízké a dochází při nich k akumulaci látky v živém organismu (zahrnují příjem látky z okolního prostředí a její vylučování organismem). Ke kvantitativnímu vyjádření schopnosti bioakumulace slouží biokoncentrační (BCF) a bioakumulační faktory (BAF), které udávají kolikrát je obsah látky v organismu větší než v okolním prostředí. Výpočet BAF lze obecně vyjádřit jako poměr koncentrace látky v organismu ku koncentraci látky v okolním prostředí. Výsledkem procesu biokoncentrace a bioakumulace je bioobohacování, přičemž v důsledku průchodu trofickými úrovněmi vzrůstá tkáňová koncentrace látky. Biomagnifikační faktor (BMF) je rovnovážný poměr mezi koncentrací látky v organismu a koncentrací látky v přijímané potravě (Svobodová, 2013).

Nebezpečnost těžkých kovů pro lidi, jejich zvýšená koncentrace v půdách a možnost příjmu kovu rostlinami vedou ke tvorbě modelů, které predikují množství těžkých kovů v rostlinách a také možná zdravotní rizika při zvýšení konzumaci kontaminovaných potravin. Bioakumulační (biokoncentrační) faktor je základní parametr, který se nejčastěji používá pro odhad koncentrace těžkých kovů v rostlinách a zároveň k odhadu možné expozice lidí při konzumaci především zemědělských plodin). Je možné jej chápat také jako tendence rostlin akumulovat těžké kovy ve svých

[4] Chemická specie je specifická forma prvku definovaná izotopovým složením, elektronovým nebo oxidačním stavem nebo molekulovou strukturou. Speciace se v analytické chemii začala používat poté, co byly prokázány různé toxikologické, biochemické afyziologické účinky jednotlivých chemických forem prvků. S formou prvku souvisí jeho mobilita, nutriční hodnota, transformace v jednotlivých složkách životního prostředí a následně jeho koloběh v přírodě, vstupy do potravních řetězců, lékařské aspekty a mnoho dalších dějů. Stanovení celkového obsahu prvku proto často nevypovídá o jeho vlivu na živé organizmy, zásadní vliv mnohdy má pouze některá jednotlivá forma prvku, a to i při velmi nízkých koncentracích (http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/pokrocile_metody_speciace_polutantu.pdf, 2014).

orgánech. BAF je definován jako poměr mezi koncentrací v rostlině a půdě. Bioakumulační faktory pro kovy bývají stanovovány pomocí provozních nebo laboratorních experimentů (Novotná, 2012). Faktory ovlivňující bioakumulaci lze rozdělit na biotické a abiotické. Mezi biotické faktory jsou řazeny druh organismu, způsob života organismu, věk, výběr a množství potravy. Mezi abiotické faktory patří stupeň hydrofobicity látek, historie kontaminace (doba a druh kontaktu organismu s prostředím), velikost částic sedimentu a množství a forma výskytu organického uhlíku v prostředí (Kočí a Mocová, 2009).

Významným zdrojem kontaminace půd těžkými kovy se mohou stát průmyslové komposty, k jejichž výrobě byly použity kanalizační kaly nebo netříděné tuhé komunální odpady. V současné době nejsou prozkoumány všechny negativní důsledky opakované aplikace kompostů s různým obsahem těžkých kovů na půdu a na rostliny (Váňa, 1995). Přesto by z pohledu odpadových hospodářů, a následně z hlediska environmentální šetrnosti či udržitelnosti, bylo žádoucí vnímat vztahy mezi organismy a složkami životního prostředí, neboť tyto vztahy ovlivňují přesun jak žádoucích a potřebných látek, tak i přesun škodlivých látek, které mohou ohrožovat zdraví rostlin, zvířat i lidí.

2.5 RIZIKA NAKLÁDÁNÍ S BIOLOGICKY ROZLOŽITELNÝM MATERIÁLEM

Obecná rizika nakládání s biologicky rozložitelným materiálem popisuje Zimová (2009). Při sběru, skladování, zpracovávání BRO a při jejich aplikaci do zemědělské půdy, jakožto významného článku potravního řetězce, vznikají při nedostatečném zpracovávání BRO dva okruhy možných zdravotních i ekologických rizik. První okruhem jsou rizika pro člověka, zvířata a rostliny z přítomných patogenních organismů a toxických chemických látek. Druhým okruhem je toxicita způsobená kumulací těžkých kovů a dalších nebezpečných látek v půdě, které přecházejí do rostlin, zvířat a lidí a mikrobiální kontaminace potravního řetězce a vody.

Nakládání s BRO může být spojeno s nebezpečím rozšiřování patogenních organismů pro lidi a zvířata i rostliny. Kromě posouzení výskytu patogenních

mikroorganismů v konečném produktu zpracování je třeba sledovat i možnost šíření patogenních mikroorganismů během celého procesu nakládání s BRO. Mezi nakládání s BRO patří sběr odpadu i jeho transport do míst dalšího zpracování. Při pracovních operacích s BRO jsou pracovníci vystaveni bioaerosolům, které vznikají manipulací a obsahují i různé mikroorganismy, z nichž některé mohou být patogenní či mohou mít alergizující účinek. Vzniká tak nebezpečí ohrožení pracovního prostředí a na základě případných emisí do ovzduší i možné ohrožení veřejného zdraví. Proto je nezbytné při nakládání s BRO dbát na hygienu pracovního prostředí. Zdravotní rizika vznikají především při transportu bakterií a plísní vzduchem. Přímo ohrožené jsou dýchací cesty a mohou být alergizující i na pokožku. Mikroorganismy z BRO mohou ohrozit lidské zdraví vyvoláním infekčních onemocnění či alergií a produkcí toxických látek (Zimová, 2009).

Konkrétní rizika plynoucí z využívání HI pro zpracování odpadů jsou vymezeny typickým chováním pro druh HI. Přenos onemocnění na člověka je z podstaty biologie druhu HI eliminován (dospělí jedinci nemají funkční část úst, k obživě jim stačí pouze voda), proto nejsou bráněnky HI považovány za přenašeče. Přínos larev HI lze spatřovat i v konkurenci a tedy i omezování výskytu larev mouchy domácí, která je prokázaným přenašečem patogenních onemocnění (Roques, 2010). Otázkou zůstává, zda by využíváním bráněnek HI pro zpracování biologicky rozložitelných odpadů nedocházelo ke kumulování těžkých kovů v potravním řetězci. Pravděpodobnost koncentrace těžkých kovů (např. Cr a Mn) je vyšší při konzumaci tuhých exkrementů hospodářských zvířat (Borkovcová, 2007).

Problematiku ohrožení lidského zdraví při zpracování biologicky rozložitelného odpadu řeší také Borkovcová (2007), která popisuje bakterie i hmyz jako přínosné pro proces kompostování, ale na druhou stranu také jako příčinu zdravotních komplikací. Některé druhy dvoukřídlých přilétají na kompost pouze za potravou, ale mnohé druhy z řádu dvoukřídlí prodělávají v BRO kompletní vývoj od vajíčka po dospělce. Právě tyto druhy bývají využívány v kriminalistice, kdy pomáhají přiblížit dobu smrti a upřesnit post mortem interval a mohou tedy z tohoto úhlu pohledu být vnímány jako užitečné. Naopak nežádoucí z pohledu člověka je, že prakticky všichni dvoukřídlí mají schopnost přenášet na svých tělech patogenní zárodky především mikrobiálního charakteru a různá vývojová stádia vnitřních a vnějších parazitů. Larvy některých druhů

dvoukřídlých pak mohou vyvolávat u člověka a hospodářských zvířat pravé myiáze (parazitární onemocnění postihující nejčastěji sliznice a kůži lidí i zvířat; projevuje se kožními záněty či abscesy, tj. dutinami v těle zaplněnými hnisem) nebo pseudomyiáze. V samotném kompostu může dojít k namnožení různých druhů patogenních bakterií, z nichž je velmi nebezpečná například bakterie *Clostridium botulinum.*

Riziko přenosu patogenních bakterií hrozí i v kontejnerech na domovní bioodpad či při domácím kompostování. V uzavřených prostorách malých kompostáren, kompostérů a domácích kompostech často dochází k vývoji larev much, především z čeledi Calliphoridae. Rozborem muších larev byla prokázána schopnost larev koncentrovat v sobě *C. botulinum*, zejména pak u larev 2. a 3. instaru. Larvy se tak stávají přenašečem potenciálně letální nákazy. Používání kompostu či blízkost kompostáren u lidských sídel může tedy představovat určité zdravotní riziko jak pro zvířata, tak pro člověka. V případě bakterie *C. botulinum* pak navíc může docházet ke kumulaci spor v prostředí. Je proto vždy velmi vhodné zvážit dostupnost kompostů pro veřejnost při jejich zakládání a také zlepšovat technologie pro recyklaci BRO tak, aby ohrožení zvířat i lidí bylo co nejmenší (Borkovcová, 2007).

Problematiku kompostování popisuje rovněž Kazda (2012), který tvrdí, že napodobit přírodu a vytvořit cennou organickou hmotu vyžaduje znalosti, čas a pochopitelně i nutnost přiložit ruku k dílu. Podle tohoto autora se ne každý záměr povede a stává se, že místo kvalitního kompostu je vytvořeno ohnisko šíření škodlivých organizmů – plevelů, hub nebo různých živočichů na vlastní zahrádce. Autor dále vymezuje z hlediska přežívání mikroorganismů v kompostu tři skupiny, a to za prvé organizmy, které nepřežijí proces kompostování, protože během svého vývoje nevytváří odolná stadia. Jejich šíření půdou po správném dozrání kompostu je nemožné. Za druhé organizmy přežívající v kompostu i několik let, ale které se zde dále nemnoží. Tyto druhy se mohou kompostovou zeminou pasivně šířit na nové stanoviště. A za třetí organizmy v kompostu se rozmnožující, které znamenají vážné ohrožení rostlin nejen pasivním šířením půdou, ale i aktivním šířením z místa kompostování do okolí.

Z organismů v kompostu se rozmnožujících zmiňuje následující druhy hmyzu, které vyhledávají rozkládající se substrát pro svůj vývoj: tenké dlouhé drátovce – larvy kovaříků, velké ponravy – larvy vrubounovitých brouků, larvy tiplic a muchnic, zemní housenky můry osenice a v některých oblastech i vzácnější krtonožku. Na kompostu se

mohou rozmnožovat i všechny druhy slimáků, svinky nebo škvoři (Kazda, 2012). Na jednotlivé škůdce uvádí doporučení, která ovšem platí jen pro dobře ošetřovaný, přehazovaný a za sucha zalévaný kompost. Na volně ložených hromadách rostlinného materiálu mohou být nebezpečné škodlivé organizmy všech skupin, protože v suchých nerozkládajících se rostlinných zbytcích je úplně jiné prostředí, než ve správně založeném kompostu. Pokud je kompostu věnována dostatečná péče podle moderních zásad, je nebezpečí šíření nežádoucích organismů (chorob, škůdců i plevelů) relativně malé a lze mu předcházet. Pokud je ponechán kompost bez údržby s očekáváním, že se tento problém sám vyřeší, mohou nastat velmi závažné problémy s výskytem a šířením škodlivých organizmů. Takto vytvořenou zeminu pak nelze využívat (Kazda, 2012).

Kotulán (2009) uvádí zdravotní rizika, jejich určování a výpočty. Jako velký problém spatřuje nejistoty dané limitovaným stavem současného vědeckého poznání. Numerické výpočty podle něj vytvářejí při kvantitativním hodnocení rizika dojem spolehlivých exaktních výsledků. Ovšem vzhledem k povaze podkladů, z nichž byly odvozeny doporučované koeficienty a k omezené spolehlivosti podkladů o expozicích jde však jen o velmi přibližné odhady. Proces hodnocení rizika nevnímá jako soustavu exaktních důkazů, ale pouze prognózu, odborně fundovanou aproximací budoucího stavu. Podle něj se zde pracuje s pravděpodobností, nikoli s nespornými fakty. Zhodnocení rizika tedy zdaleka nemá stejnou míru určitosti jako výsledky vědeckého výzkumu (Kotulán, 2009).

U chemických škodlivin se při výpočtu rizika vychází z trojích dat: míra nebezpečnosti látky (poměr dávka - odpověď), expozice a přijatá dávka (působící koncentraci). Všechny tyto data jsou zatíženy značnou chybou. Podklady pro nebezpečnost látky vycházejí zejména z pokusů na zvířatech, kde extrapolace výsledků na člověka je většinou značně nejistá, nebo z údajů o havarijních situacích a jiných expozicích lidí vysokým dávkám, někdy akutním, jindy subakutním, kde zdrojem nejistoty je extrapolace takových výsledků do oblasti dávek nízkých anebo do oblasti extrémně chronických stopových celoživotních expozic. Aby kvůli těmto metodickým nepřesnostem nedocházelo k nepřiměřeně příznivým závěrům, vycházejí kompetentní mezinárodní instituce ze zásady předběžné opatrnosti, tj. z nejhorších možných variant (výsledky studií s nejzávažnějšími udávanými dopady, účinky na nejcitlivější druhy pokusných zvířat, na nejcitlivější vrstvy obyvatelstva aj.). Výsledky pak popisují vždy

nejhorší myslitelnou konstelaci a jsou tedy většinou horší než budoucí realita (Kotulán, 2009).

Kompetentní instituce (jako např. US EPA) připravují rizikové koeficienty jednotlivých látek velmi svědomitě na základě kritických rozborů existující literatury resp. vlastních vědeckých studií. Vydávají jen takové koeficienty, které považují za přijatelně odůvodněné. Vzhledem k tomu, že pro mnohé látky a cesty expozice (ovzduším, potravou) zatím neexistují spolehlivé vědecké podklady, nejsou v řadě případů oficiální rizikové koeficienty k dispozici. Tato skutečnost může ovlivnit pracovníky, kteří si pak v nastalých případech vypomáhají zastaralými a dnes už neplatnými podklady či různými improvizacemi. Někteří poctivější pracovníci vyhledají v epidemiologických studiích, které se vlivem škodlivých látek zabývají, a bez kritického zhodnocení dané práce uveřejněný koeficient použijí. Ostatní však tyto podklady od nich přebírají a považují je za nesporné. Každému, kdo je si vědom nesčetných úskalí při snahách o průkaz kauzality v epidemiologických studiích, by mělo být zřejmé, že takový postup je neakceptovatelný a pokud ano, pak pouze se zevrubným a kritickým zhodnocením použitého pramene (Kotulán, 2009).

3 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem předložené dizertační práce bylo zjistit, jaké jsou možnosti využití bráněnek *Hermetia illucens* v odpadovém hospodářství České republiky

Za účelem splnění tohoto hlavního cíle práce byly stanoveny a testovány dvě hypotézy:

Hypotéza č. 1: **Larvy bráněnky HI jsou schopny svojí činností redukovat biologicky rozložitelný odpad v podmínkách České republiky**

Pro prokázání platnosti hypotézy č. 1 byly stanoveny 3 dílčí cíle:

- **dílčí cíl 1/1:** Zjistit, které vybrané druhy biologicky rozložitelných odpadů jsou larvy bráněnky HI schopny redukovat.
- **dílčí cíl 1/2:**Porovnat rozkladnou aktivitu bráněnek HI a kalifornských žížal *Eisenia andrei* při zpracovávání BRO.
- **dílčí cíl 1/3:** Srovnat provozní a laboratorní podmínky využívání HI pro redukci BRO v podmínkách ČR.

Hypotéza č. 2: **Využívání larev HI pro redukci BRO nemá negativní vliv na zdraví lidí ani na životní prostředí**

Pro prokázání platnosti hypotézy č. 2 byly stanoveny 2 dílčí cíle:

- **dílčí cíl 2/1:** Zjistit, zda výsledný substrát po redukování odpadu larvami HI a larvy HI vykazují přítomnost bakterií *Escherichia coli*, *Enterococcus* a *Salmonella*.
- **dílčí cíl 2/2:** Stanovit koncentraci těžkých kovů v dodaných larvách, ve vstupním BRO, ve zbylém substrátu a v larvách po konzumaci BRO a zároveň stanovit bioakumulační faktor (BAF) pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO.

4 MATERIÁL A METODIKA

Použití bezobratlí

V experimentech byl použit hmyz *Hermetia illucens* (HI) a kalifornské žížaly.

Larvy HI byly nakupovány z německého komerčního obchodu MD Terraristik Ammerweg, kde jsou nabízeny jako krmivo. Larvy byly doručovány v balení po 120 kusech v chovném substrátu prosa a jejich velikost byla v rozmezí 0,2 až 0,7 mm.

Dalšími zástupci bezobratlých použitých v experimentech byly kalifornské žížaly, které byly dodány firmou "Vermikompostování" Jakuba Filipa z Lužic u Hodonína v krmném substrátu. Pro účely tohoto experimentu byly použity 2 kg krmného substrátu s osmi sty žížalami. Jejich velikosti byly v rozemzí 12 až 47 mm.

Použité nádoby a přístroje

Jako experimentální nádoby byly pro pokusy s larvami HI použity BioPod Plus (ProtaCulture™ LLC, USA), které jsou speciálně navržené pro chování HI za účelem konzumace odpadů. Larvy HI požírají odpad v hlavní části nádoby, po dosažení migračního stadia vylezou po migrační rampě, ze které přepadnou do sklízecího boxu, kde se zakuklí. Žížaly byly umístěny do stejného typu nádoby.

Pro určování hmotnosti byly použity váhy KERN 572-57 s rozlišením 0,1g (UNIPRO-ALPHA - autorizovaný dovozce). Pro měření teploty a vlhkosti vzduchu v nádobách byly použity senzory typu Minikin TH a TT (EMS Brno). Složení BRO bylo v jednotlivých experimentech různorodé, proto je podrobně popsáno u každého experimentu.

4.1 METODIKA PRO STANOVENÍ VHODNÝCH ODPADNÍCH MATERIÁLŮ PRO REDUKCI LARVAMI HI

Principem metodiky bylo porovnat několik typů BRO z hlediska možného využívání HI pro zpracování odpadů. Za tímto účelem bylo ze skupin 02, 19 a 20 Katalogu odpadů (dán Vyhláškou č. 381 /2001 Sb.) vybráno 14 druhů odpadů.

4.1.1 Použité odpadní materiály

Vybrané druhy odpadních materiálů lze zařadit podle Katalogu odpadů, jak uvádí **Tab. 3**, která konkrétní experimentální nádobě přiřazuje katalogové číslo i slovní zařazení a v posledním sloupci upřesňuje, o jaký typ BRO se v experimentu jednalo.

Tab. 3 Seznam vybraných typů BRO zařazený dle Katalogu odpadů

Číslo ná-doby	**Zařazení dle Katalogu odpadů** (dán Vyhláškou č. 381 /2001 Sb.)		Typ BRO použitý v experimentu
	02	Odpady z prvovýroby v zemědělství, zahradnictví, myslivosti, rybářství a z výroby a zpracování potravin	
	02 01	Odpady ze zemědělství, zahradnictví, lesnictví, myslivosti, rybářství	
1	02 01 03	Odpad rostlinných pletiv	Odpad rostlinných pletiv
2			Zahradní odpad
3			Zahradní odpad - výluh
4	02 01 06	Zvířecí trus, moč a hnůj (včetně znečištěné slámy), kapalné odpady, soustřeďované odděleně a zpracovávané mimo místo vzniku	Drůbeží trus
5			Chlévská mrva
	19	Odpady ze zařízení na zpracováni (využívání a odstraňování) odpadu, z čistíren odpadních vod pro čištění těchto vod mimo místo jejich vzniku a z výroby vody pro spotřebu lidí a vody pro průmyslové účely	
	19 06	Odpady z anaerobního zpracování odpadu	
6	19 06 04	Produkty vyhnívání z anaerobního zpracování komunálního odpadu	Separát z BPS
7	19 08	Odpady z čistíren odpadních vod jinde neuvedené	Odpad z dešťových vpustí
8	19 08 05	Kaly z čištění komunálních odpadních vod	Kaly z ČOV
	20	Komunální odpady (odpady z domácností a podobné živnostenské, průmyslové odpady a odpady z úřadů) včetně složek z odděleného sběru	
9	20 01	Složky z odděleného sběru (kromě odpadů uvedených v podskupině 15 01)	Kvalitně vytříděné BRKO
10	20 01 08	Biologicky rozložitelný odpad z kuchyní a stravoven	BRO z vývařoven
11			Kuchyňský odpad
	20 02	Odpady ze zahrad a parků (včetně hřbitovního odpadu)	
12	20 02 01	Biologicky rozložitelný odpad	Zahradní odpad
13			Zahradní odpad - výluh
	20 03	Ostatní komunální odpady	
14	20 03 01	Směsný komunální odpad	Nekvalitně vytříděné BRKO

4.1.2 Vlastní postup

Do každé experimentální nádoby bylo přidáno 10 kg typu odpadu a 240 kusů larev HI. Experiment byl ukončen dnem, kdy první dospělci začali vylétávat, což bylo po 35 dnech od začátku experimentu. Tento experiment byl za účelem statistického vyhodnocení opakován 3x. Vždy na konci experimentu byl zvážen zbytek odpadu a proběhlo měření 30 zástupců HI (larvy, kukly, dospělci) z každé pokusné nádoby. Teplota a vlhkost byly měřeny kontinuálně (interval 10 min) po celou dobu experimentu**.**

Podrobnější popis jednotlivých typů BRO v nádobách:

Nádoba č. 1: odpad rostlinných pletiv, konkrétně směs materiálů s následující procentuální zastoupení: 46% jádřince, nahnilá jablka; 29% meloun (převážně slupky); 7,4% nahnilé broskve; 4,2% vnitřek kukuřice; 3,5% okurek; 3,2% slupky brambor; 3% slupky od banánů; 1,8% rajčata, 1% paprika; 0,6% natě mrkví, 0,3% cibule. Maximální velikost částic byla 120 mm (vnitřek kukuřice, okurek, banán a meloun), další velikost částic byla 30-50 mm pro jádřince a jablka, broskve; 20-30 mm slupky brambor, zelenina. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole.

Nádoba č 2: zahradní odpad - směs čerstvé trávy (85%), *Taraxacum officinale* (10%) a *Trifolium pratense* (5%)**.** Tráva obsahovala zejména druhy *Festuca pratensis, Lolium perenne, Poapratensis*a *Festuca rubra.* Čerstvá tráva byla nasekána na 20-25 mm kousky a byla ponechána v plastovém pytli, aby se zapařila a podpořil se tak počáteční rozklad. Místo odběru: areál Mendelovy univerzity v Brně.

Nádoba č 3: výluh ze zahradního odpadu - tekutá frakce vylučovaná z druhé pokusné nádoby, kde byla ke konzumaci předložená zapařená směs travin. Místo odběru: areál Mendelovy univerzity v Brně.

Nádoba č. 4: drůbeží trus - drůbeží exkrementy z betonové podlahy. Pro účely dopravy se exkrementy nechaly proschnout, po dovezení byly opět zvlhčeny. Materiál se skládal z 98 % z trusu slepic a ze 2 % slámy. Velikost trusu se pohybovala mezi 2 - 3,5 cm a 10 - 15 cm pro slámu. Místo odběru: drůbeží farma Olbramovice.

Nádoba č. 5: odpadní materiál chlévské mrvy se skládal z 93 % z exkrementů krav a ze 7 % slámy. Místo odběru: farma Drásov.

Nádoba č. 6: separát z bioplynové stanice (dále jen BPS) neboli sušená část digestátu byla směs kukuřičné siláže a kejdy, která byla zpracována fermentací a částečně odvodněná. Fermentovaná biomasa byla homogenní s maximální velikostí částic 12 mm. Suchost materiálu lze vyjádřit pomocí tzv. pěstní zkoušky, která se používá jako orientační zkouška při určování správné vlhkosti v kompostovací zakládce. Hrst kompostovaného substrátu se vezme do dlaně a pevně zmáčkne, pokud materiál zůstane pohromadě a nerozpadne se, je vlhkost kompostu správná. V opačném případě je žádoucí materiál vlhčit tak, aby se zmáčknutí materiálu objevily mezi prsty kapičky vytlačené vody (Maňáková, 2011; Plíva *et al.*, 2002). Substrát po zmáčknutí nedržel pohromadě. Místo odběru: BPS Čejč.

Nádoba č. 7: odpad z dešťových vpustí, který byl získán z ČOV Boskovice. Byla to směs pevných látek z komunikací a veřejných ploch, která byla spláchnuta do oddělené kanalizace. Směs obsahovala písek, štěrk, dřevěné větvičky, listy, konce cigaret, kovový šrot a erodovanou půdu. Místo odběru: ČOV Boskovice.

Nádoba č. 8: kal v odvodněném stavu z ČOV Modřice. Kal měl konzistenci lepkavého bahna se silným zápachem. Koncentrace těžkých kovů v kalu nepřekročila hygienické limity. Místo odběru: ČOV Modřice.

Nádoba č. 9: kvalitně vytříděný BRKO obsahoval směs kuchyňského a zahradního odpadu vhodného ke kompostování, tedy bez nežádoucích příměsí. Konkrétní zastoupení odpadního materiálu bylo následující: jablečný odpad (ohryzky, jádřince, shnilá jablka) 27,2 %, rajčata 16,5 %, kukuřice 15,7 %, meloun 12,9 %, papriky 12,6 % okurek 4,8 %, slupky od banánu 2,9 %, cibule 2,6 %, tráva 2,4 % a slupky od brambor 2,4 %. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole.

Nádoba č. 10: BRO z vývařoven a odpadní materiál z přípravy jídla. Procentuální zastoupení směsi bylo následující: vařená zelenina 22,1 %; rýže 12,3 %; brambory 11,6 %; těstoviny 8,9 %; chleba 8,1 %; knedle 7,4 %; buchta 5,3 %; slupky melounu 4,7 %; cukety 4,3 %; uzené maso 3,4 %; okurek 3,1 %; rajčata 2,8 %; plesnivá slanina 2,4 %; kosti od kuřete 1,9 %, paprika 1,7 %. Místo odběru: menza Mendelovy univerzity a domácnosti Brno - Černá pole.

Nádoba č. 11: kuchyňský odpad z domácností, který měl následující procentuální zastoupení: šunkofleky 24,1 %; brambory 16,7 %; jádřince 14,9 %; rýže 13,4 %; chleba 7,4 %; těstoviny 6,4 %; slupka melounu 5,2 %; cukety 4,3 %; rajčata 3,7 %; paprika 2,7 % a okurek 1,2 %. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole.

Nádoba č. 12: zahradní odpad, který obsahoval kromě travin i listy a shnilá jablka, protože to více odpovídá charakteru zahradního komunálního odpadu. Procentuální zastoupení bylo následující: traviny 58,4 %; shnilá jablka 29,4 % a listy 12,2 %. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole a areál Mendelovy univerzity v Brně.

Nádoba č. 13: výluh z výše popsaného zahradního komunálního odpadu. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole a areál Mendelovy univerzity v Brně.

Nádoba č. 14: nekvalitně vytříděné BRKO měl následující procentuální zastoupení: chleba 12,4 %; kuřecí stehno 11,2 %; jablka 11,0 %; frgál 9,4 %; sekaná 8,3 %; zkysaná smetana 7,8 %; cuketa 7,6 %; kosti a hlava makrely 7,4 %; rajčata 4,8 %; pomazánkové máslo 4,3 %; papírové kapesníky 2,7 %; chleba s paštikou 2,1 %; biologicky rozložitelné sáčky (na bázi kukuřičného škrobu) 1,9 %; špinavý ubrousek 1,7 %; plastový sáček 1,7 %. Nekvalita vytřídění byla míněna především z pohledu materiálu vhodného pro kompostování. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole.

4.2 METODIKA SROVNÁNÍ ROZKLADNÉ AKTIVITY VYBRANÝCH BEZOBRATLÝCH

4.2.1 Použitý odpadní materiál

Předkládaný biologicky rozložitelný odpad (BRO) měl charakter komunálního BRO, protože obsahoval odpady jak rostlinného tak živočišného původu. Složení odpadu bylo vytvářeno dle přirozené produkce odpadů dvou domácností, čímž by měla být alespoň částečně zachována odpovídající podoba BRKO i sezónní proměnlivost. Největší podíl měla shnilá jablka (60,4 %), dále chlévská mrva (19,8 %), která byla použita kvůli pestrosti, poté slupky od brambor (6,7 %), jádřince (4,4 %), okurek (3,5, %), tráva a listy (1,6 %), kedluben, rajče, paprika (1,6 %) a z odpadů živočišného původu jogurt (1,5 %) a kůže kuřete (0,5 %). Maximální velikost částic byla 80 mm (okurek), velikost odpadů byla v rozmezí 30-50 mm. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole a areál Mendelovy univerzity v Brně.

4.2.2 Vlastní postup

Principem metodiky bylo srovnání působení larev HI, kalifornských žížal i jejich případného spolupůsobení na redukci BRKO, který obsahuje i složky nevhodné ke kompostování jako je jogurt či kůže kuřete. Varianta samostatného rozkladu nebyla

rozhodně vnímána jako kompostování, protože nesplňuje podstatná kritéria (velikost zakládky, provzdušňování, velikost částic a mnohé další). Pokus probíhal ve 3 opakováních v uzavřených prostorách ústavu zoologie. 5 kg BRO bylo dáno do každé experimentální nádoby, a to následovně:

Nádoba A: 480 kusů dodaných larev HI o velikosti mezi 2 až 7 mm.

Nádoba B: 480 kusů larev HI o velikosti mezi 2 až 7 mm a 400 kusů kalifornských žížal o velikosti mezi 12 až 47 mm.

Nádoba C: 400 kusů kalifornských žížal o velikosti mezi 12 až 47 mm o celkové hmotnosti 133 g.

Nádoba D: bez cílené přítomnosti bezobratlých

Experiment byl ukončen v den, kdy první dospělci HI začali vylétávat z nádoby, což bylo 40 dní od začátku experimentu. Na konci experimentu proběhlo jak vizuální posouzení zbylého odpadu, tak jeho zvážení. 30 kusů kukel a 30 kusů žížal bylo měřeno po ukončení experimentu. Teplota a vlhkost ve venkovních pokusných nádobách byly měřeny kontinuálně (interval 10 min) po celou dobu experimentu. Průměrná teplota vzduchu ve venkovních nádobách byla zjištěna 21,2±8 °C a průměrná vlhkost vzduchu v nádobách byla 62,3±10 %.

4.3 METODIKA SROVNÁNÍ LABORATORNÍCH A PROVOZNÍCH PODMÍNEK VYUŽÍVÁNÍ HI V ČR

4.3.1 Použitý odpadní materiál

Předkládaný biologicky rozložitelný odpad (BRO) měl charakter komunálního BRO, protože obsahoval jak odpady z kuchyní, tak ze zahrad. Největší podíl měla shnilá jablka (42,3 %), dále odpady ze zeleniny (slupky mrkve, celeru, petržele, košťál brokolice) (14,8 %), posečená tráva a listí (12,9 %), zbytky jídla (bramborová kaše) (10,6 %), slupky melounu (9,4 %), plesnivé pečivo (5,6 %) a shnilá rajčata (4,4 %). Největší velikost částic byla 170 mm (slupky melounu), velikost ostatních odpadů byla v rozmezí 30 až 50 mm.

4.3.2 Vlastní postup

Principem metodiky bylo porovnání úspěšnosti redukce BRO larvami HI v laboratorních a provozních podmínkách. Do šesti experimentálních nádob značky BioPod bylo dáno 10 kg BRO a 360 larev o velikosti 0,2 - 0,7 mm. Tři nádoby byly ponechány v laboratoři a tři experimentální nádoby byly umístněny na soukromou zahradu z důvodu ochrany experimentálních nádob (v obci Vilémovice v Moravském krasu). Teplota a vlhkost byly měřeny kontinuálně (interval 10 min) po celou dobu experimentu. Experimenty byly ukončeny v den, kdy první dospělci začali vylétávat, což bylo 35 dní od začátku experimentu. Po ukončení experimentů byl zbylý odpad zvážen. Z každé experimentální nádoby bylo odebráno 30 kusů larev, kukel či dospělců a poté byly bráněnky v různých vývojových fázích změřeny.

4.4 STANOVENÍ (NE)PŘÍTOMNOSTI *E. COLI, SALMONELLA* A *ENTEROCOCUS* V LARVÁCH HI A V REDUKOVANÉM SUBSTRÁTU

4.4.1 Použitý odpadní materiál

Předkládaný biologicky rozložitelný odpad (BRO) měl charakter sezónního BRKO. Největší podíl měla shnilá jablka (62,7 %), shnilá rajčata (14,2 %), košťály květáku (7,5 %), slupky okurek (4,3 %), staré pečivo (4,2 %), tvrdý sýr s plísní (4,0 %) a rýže (3,1 %). Velikost odpadů byla v rozmezí 30 až 70 mm.

4.4.2 Vlastní postup

Principem metodiky bylo stanovení přítomnosti bakteriálních společenstvech v redukovaném substrátu a larvách HI. Stěžejní bylo stanovení přítomnosti bakterií řešených platným legislativním předpisem[5], a to *E. coli, Salmonella* a *Enterococcus.* Stanovení bakterie rodu *Salmonella* bylo provedeno dle ČSN EN ISO 6579.

[5] Nařízení (EU) komise č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a provádí směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice.

Do pěti experimentálních nádob značky BioPod bylo dáno 10 kg BRO a 360 larev o velikosti v rozmezí 0,2 až 0,7 mm. Pro měření teploty a vlhkosti byly použity senzory typu Minikin TH a TT (EMS Brno). Tyto senzory měří teplotu a vlhkost neustále, ovšem každých deset minut zaznamenají patřičné hodnoty.

Experimenty byly ukončeny v den, kdy začaly vylétavat dospělci, což bylo 31 dnů po zahájení experimentu. Po ukončení experimentů byl odebrán výsledný substrát a larvy, popřípadně kukly HI k mikrobiologickému rozboru. Byly odebrány 5 vzorků výsledného substrátu o hmotnosti 500g. Zástupců HI bylo odebráno 50 g.

Stanovení *E. coli*

Stanovení *E. coli* je založeno na zachycení uvedených mikroorganismů ze zkoušeného podílu vzorku na povrchu selektivní pevné půdy obsahující laktózu. Určený objem výchozí suspenze se očkuje na povrch předsušeného pevnou kultivační půdu. Jako kultivační půda se používá pro tento postup mFC agar. Kultivace se provádí při 43±1,0 °C, 18–24 hod. Jako termotolerantní koliformní bakterie se hodnotí modré kolonie. Stupeň ředění je třeba volit tak, aby výsledný počet kolonií na jedné plotně byl 15 až 150 KTJ (kolonie tvořící jednotku). Za stejných podmínek se desetinásobným ředěním výchozí suspenze inokulují další dvojice ploten. Pro každé ředění se očkují dvě plotny. Z počtu typických kolonií pro termotolerantní koliformní bakterie se získá počet KTJ v 1gramu vzorku. Výsledky se vyjádří podle požadavku legislativy buď v KTJ/g nebo přepočtené na sušinu vzorku KTJ/g suš. *E. coli.* Jako *E. coli* se hodnotí modré kolonie, které jsou upřesněny konfirmačními testy pro *E. coli*, počet se vyjádří v KTJ/g vzorku nebo sušiny vzorku.

4.4.2.1 Stanovení Salmonella spp.

Průkaz bakterií rodu *Salmonella* vyžaduje čtyři po sobě následující stupně. Bakterie rodu *Salmonella* mohou být přítomny v nízkých počtech a jsou často provázeny značně vyššími počty jiných příslušníků čeledi Enterobacteriaceae nebo příslušníků jiných čeledí. Proto je nezbytné selektivní pomnožení, kromě toho je nezbytné předpomnožení, které umožňuje průkaz často subletálně poškozených bakterií rodu *Salmonella.*

Předpomnožení v neselektivní tekuté půdě

Do tlumivé peptonové vody se inokuluje zkušební vzorek a inkubuje se při 36±2 °C po dobu 16 – 20 hodin.

Předpomnožení v selektivních tekutých půdách

Kultura získaná v neselektivní tekuté půdě se inokuluje do dvou tekutých půd, a to do půdy podle Rappaporta (1956) a Vassiliadise (1978) s chloridem hořečnatým a malachitovou zelení a do půdy se seleničitanem a cystinem. Půda s chloridem hořečnatým a malachitovou zelení se inkubuje při 41±1 °C po dobu 24 h a po dalších 24 h, půda se seleničitanem a cystinem se inkubuje při 36±2 °C po dobu 24 h a dalších 24 h.

Vyočkování na pevné půdy a zjišťování přítomnosti suspektních kolonií

Každá z kultur získaných podle 2.3.2.3 se vyočkuje na dvě pevné selektivní půdy: agar s fenolovou červení a briliantovou zelení anebo xylózo-lyzín-deoxycholátový agar. Inkubuje se při 36±2 °C po dobu 24 h, a pokud je to nutné, rovněž po 48 h se zjišťuje přítomnost kolonií, které jsou na základě svých znaků považovány za suspektní kolonie bakterií rodu *Salmonella.*

Konfirmace

Suspektní kolonie bakterií rodu *Salmonella* získané vyočkováním, jak je popsáno výše, se subkultivují a konfirmují pomocí vhodných biochemických a sérologických testů.

4.4.2.2 Stanovení bakterií rodu Enterococus

Určený objem výchozí suspenze se očkuje na povrch předsušeného pevného kultivačního média, který obsahuje azid sodný (k potlačení růstu G-bakterií) a 2,3,5-trifenyltetrazolium chlorid (který je redukován na červený formazan, způsobující charakteristické zbarvení kolonií). Vyrostlé kolonie jsou dále podrobeny konfirmačním testům (růst na žluč-eskulin azidovém agaru, katalátový test). Stanoví se počet KTJ/g sušiny nebo KTJ/g vzorku.

Zjišťování přítomnosti suspektních kolonií

Po inkubaci se počítají jako presumptivní enterokoky všechny vyrostlé kolonie, které jsou kaštanově, červenohnědě, červeně či růžově zbarvené. Stupeň ředění je třeba volit tak, aby výsledný počet kolonií na jedné plotně byl 15 až 150 KTJ. Za stejných podmínek se desetinásobným ředěním výchozí suspenze inokulují další dvojice ploten. Pro každé ředění se očkují dvě plotny.

Konfirmace

Selektivita používané kultivační půdy není absolutní. Na m-enterokokovém agaru mohou růst též streptokoky, které nepatří do skupiny D, dále mikrokoky, někdy i sporulující mikroby. Proto je nutné provést konfirmační testy. Vybrané kolonie (alespoň 5) pro konfirmaci se přeočkují na konfirmační kultivační médium žluč-eskulin-azidový agar a plotny se inkubují při 44 °C po dobu 4 až 24 hodin. Enterokoky rostou na tomto kultivačním médiu a hydrolyzují aeskulin. Konečný produkt hydrolýzy je 6,7-dihydroxikumarin, který v kombinaci s Fe^{3+} ionty dává tříslově hnědou až černou sloučeninu, která difunduje do kultivačního média. Další vybrané kolonie (alespoň 5) pro konfirmaci se přeočkují na živný agar a po 24 hodinové kultivaci se pro potvrzení může provést test na pyrrolidonylpeptidázovou aktivitu, která je charakteristická pro všechny druhy enterokoků. Provede se test na katalázu s 3% peroxidem vodíku. Zpočtu potvrzených typických kolonií pro enterokoky se získá počet KTJ v 1 gramu vzorku.

4.5 METODIKA STANOVENÍ KONCENETRACE TĚŽKÝCH KOVŮ A BAF PRO LARVY HI

Cílem tohoto experimentu bylo zjistit koncentraci vybraných těžkých kovů (V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sb, Pb) v odpadním materiálu a výsledném substrátu, v larvách HI před a po konzumaci odpadů. Přesun těžkých kovů do tkání larev HI živených na BRO je vyjádřen bioakumulačním faktorem.

4.5.1 Použitý odpadní materiál

Pro účely tohoto experimentu bylo vybráno šest odpadních materiálů z experimentu 4.1, a to následovně:

Nádoba č. 1: odpad rostlinných pletiv, konkrétně směs materiálů s následující procentuální zastoupení: 46% jádřince, nahnilá jablka; 29% meloun (převážně slupky); 7,4% nahnilé broskve; 4,2% vnitřek kukuřice; 3,5% okurek; 3,2% slupky brambor; 3% slupky od banánů; 1,8% rajčata, 1% paprika; 0,6% natě mrkví, 0,3% cibule. Maximální velikost částic byla 120 mm (vnitřek kukuřice, okurek, banán a meloun), velikost částic byla 30-50 mm pro jádřince a jablka, broskve; 20-30 mm slupky brambor, zelenina. Místo odběru: domácnosti Brno - Černá pole.

Nádoba č 2: zahradní odpad - směs čerstvé trávy (85%), *Taraxacum officinale* (10%) a *Trifolium pratense* (5%). Tráva obsahovala zejména druhy *Festuca pratensis, Lolium perenne, Poapratensis*a *Festuca rubra.* Čerstvá tráva byla nasekána na 20-25 mm kousky a byla ponechána v plastovém pytli, aby se zapařila a podpořil se tak počáteční rozklad. Místo odběru: areál Mendelovy univerzity v Brně.

Nádoba č. 4: drůbeží trus - drůbeží exkrementy z betonové podlahy. Pro účely dopravy se exkrementy nechaly proschnout, po dovezení byly opět zvlčeny. Materiál se skládal z 98 % z trusu slepic a ze 2 % slámy. Velikost trusu se pohybovala mezi 2 - 3,5 cm a 10 - 15 cm pro slámu. Místo odběru: drůbeží farma Olbramovice.

Nádoba č. 6: separát z BPS neboli sušená část digestátu byla směs kukuřičné siláže a kejdy, která byla zpracována fermentací a částečně odvodněná. Fermentovaná biomasa byla homogenní s maximální velikostí částic 12 mm. Suchost materiálu lze vyjádřit pomocí tzv. pěstní zkoušky[1]: substrát po zmáčknutí nedržel pohromadě. Místo odběru: BPS Čejč.

Nádoba č. 7: odpad z dešťových vpustí, který byl získán z čistírny odpadních vod (dále jen ČOV) Boskovice. Byla to směs pevných látek z komunikací a veřejných ploch, která byla spláchnuta do oddělené kanalizace. Směs obsahovala písek, štěrk, dřevěné větvičky, listy, konce cigaret, kovový šrot a erodovanou půdu. Místo odběru: ČOV Boskovice.

Nádoba č. 8: kal v odvodněném stavu z ČOV Modřice. Kal měl konzistenci lepkavého bahna se silným zápachem. Koncentrace těžkých kovů v kalu nepřekročila hygienické limity. Místo odběru: ČOV Modřice.

Podrobná charakteristika odpadů i úspěšnost jejich redukce je popsána v **Tab. 5**. Každý odpadní materiál byl bráněnkami osazen ve třech opakováních v počtu 240 ks larev. Z každé nádoby byly odebrány 3 dílčí vzorky (o hmotnosti 50 g) z různých částí odpadního materiálu (před i po konzumaci bráněnkami) a smíchány do vzorku o hmotnosti 150 g. Tento směsný vzorek byl dále zpracován pro potřeby analýzy. Všechny larvy byly odděleny od vzorků ručním tříděním. Zbytky zpracovávaného odpadu byly vyjmuty z nádob a zváženy. Vzorky byly vysušeny za laboratorní teploty, důkladně ručně homogenizovány (bez změny velikosti částic u kalu) a skladovány při teplotě laboratoře před analýzou. Larvy náhodně odebrané ze zbývajícího materiálu byly promyty vodou z vodovodu, vysušeny papírovou utěrkou a změřeny. Larvy byly ponechány přes noc na mokrém filtračním papíru v Petriho miskách k pročištění. Larvy

byly usmrceny zmrazením a uloženy v mrazicím boxu (-20 °C). Pro každý vzorek byla určena hodnota pH (ve formě suspenze 1 g vzorku v 10 ml vody), hustota a celkový organický uhlík.

4.5.2 Vlastní postup stanovení koncentrace vybraných kovů

4.5.2.1 Odběr a zpracování vzorků před analýzou

Vzorky (150 g) byly vytvořeny jako směsice tří dílčích vzorků náhodně odebraných ze 3 míst z odpadních materiálů za účelem celkového stanovení těžkých kovů. Vzorky odpadů z dešťových vpustí byly přesáty přes 2mm síto a zbytek na sítu (sklo, kameny, vázací drát, cigaretové pahýly, plast) byl odstraněn. Vzorky kalů a drůbežího trusu byly homogenizovány na jemný prášek (částice < 10 μm) v laboratorním kulovém mlýnu (Mixer Mill MM 301, Německo). Vzorky odpadů rostlinných pletiv byly zmraženy na -80 °C, lyofilizovány a důkladně homogenizovány ručně. Vzorky zahradního odpadu byly rozstříhány keramickými nůžkami k zajištění homogenity. Vzorky separátu z BPS byly důkladně homogenizovány ručně bez změny velikosti částic odpadu. Vzorky s celými larvami byly zmraženy na -80 °C, lyofilizovány a následně nastříhány keramickými nůžkami pro zajištění homogenity.

4.5.2.2 Stanovení koncentrace kovů

Stanovení koncentrace kovů probíhalo následovně. Ve vzorcích kalů a odpadu dešťových vpustí byly těžké kovy stanoveny z extrakce lučavky královské podle postupu doporučeného Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO 11466). 1,00(±0,01)g homogenizovaného vzorku odpadů dešťových vpustí a kalů bylo mineralizováno lučavkou královskou (2,3 ml 70% kyseliny dusičné a 7 ml 37% kyseliny chlorovodíkové) po dobu 16 hodin při laboratorní teplotě a následně při 2 hodinovém varu při 250°C na topné desce pod zpětným chladičem. Po vychladnutí byl obsah baněk kvantitativně převeden do 200 ml odměrných baněk a doplněn deionizovanou vodou po značku 200 ml. Vzorek byl převeden do plastových dekontaminovaných lahviček bez filtrace. Mineralizace vzorků byla provedena ve třech opakováních. Stejným způsobem byly zpracovány i slepé vzorky. Pro stanovení celkového množství těžkých kovů ve vzorcích bylo využito hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS Agilent7500ce, Japonsko). Během analýzy

byly využívány pouze skleněné a plastové nádoby, předem dekontaminované v 5% kyselině dusičné (po dobu nejméně 24 hodin, třikrát propláchnuty destilovanou vodou).

Mikrovlnný rozklad byl použit pro analýzu organických a biologicky rozložitelných vzorků. Vzorky drůbežího trusu, odpadů rostlinných pletiv, separátu z BPS, zahradního odpadu a larev byly rozloženy pomocí mikrovlnného laboratorního systému Speedwave MWS-3 +(Berghof, Německo) s automatickou regulací teploty. Pro toto stanovení bylo cca 500 mg vzorku naváženo do teflonových patron a poté byly přidány 4 ml HNO_3 (65%) a 2 ml peroxidu vodíku (30%). Zahřívání teflonových patron bylo dosaženo pěti krokovým teplotním programem (5 min při 180°C, 10 min při 190°C, a 3 x 5 min při 100°C), a to bez odpařování. Po ukončení mineralizace se nádoby nechaly vychladnout, jejich obsah byl kvantitativně převeden do 50 ml odměrných baněk a doplněn neionizovanou vodou po značku. Vzorek byl převeden do plastových dekontaminovaných lahviček, které byly předem vypláchnuty malým podílem vzorku. Analýzy všech vzorků byly provedeny ve třech opakováních. Stejným způsobem byly zpracovány i slepé vzorky. Obsah kovů v larvách byl určen taktéž stejným způsobem.

STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Výsledky byly zpracovány statistickým programem Adstat verze 1,25 (TriloByte) a Statistica verze 12 (StatSoft Company).

Nejprve byla provedena průzkumová analýza jednorozměrných dat (EDA) k ověření základních předpokladů. Ve všech případech byl test normality přijat a tak lze vyčíslit klasický odhad polohy a rozptýlení, t.j. aritmetický průměr $\bar{x}$ a směrodatnou odchylku σ. Pro interval spolehlivosti, kdy hladina významnosti je α, platí**:**

$$\overline{X} - \frac{S_n}{\sqrt{n}} t_{n-1}(1 - \frac{\alpha}{2}) < \mu < \overline{X} + \frac{S_n}{\sqrt{n}} t_{n-1}(1 - \frac{\alpha}{2})$$

Chceme-li stanovit interval, kdy hledané hodnoty se budou z 95% pravděpodobností v tomto intervalu nalézat, pak alfa = 0,05. Následně hledáme v tabulce kvantil Studentova rozdělení hodnotu kvantily pro $t_{0,975}$ pro n-1 stupňů volnosti, v našem případě n=3 (počet měření). Tento vzorec platí pro malé výběry - méně než 20.

Legenda:

S_n, σ = směrodatná odchylka

$\bar{x}$ = aritmetický průměr

n=počet měření

α = zvolená hladina významnosti

$t_{0,975}$ = kvantila Studentova rozdělení

Ke zjištění zdroje variability dat byla použita jednofaktorová analýza variance (ANOVA). V případě zamítnutí nulové hypotézy ($p < 0,05$) se k testování shody variance mezi skupinami byl použit Tukey post-hoc test. V případě porovnávání dvou různých výběrových souborů (pokus A, pokus B) byl použit Mann-Whitny U test.

5 VÝSLEDKY

5.1 VHODNÉ ODPADNÍ MATERIÁLY PRO REDUKCI LARVAMI HI

5.1.1 Rozdělení odpadů podle dokončených vývojových cyklů HI

Během 35 dnů testování larvy dosáhly jednotlivé vývojové fáze a zůstaly buď larvami nebo se zakuklily či vylíhly do dospělců. Na základě tohoto objektivního kritéria byly odpady rozděleny do tří skupin: odpady, kde larvy byly nejvyšším vývojovým stádiem; odpady, kde se larvy zakuklily; a odpady, u kterých se objevili dospělci (**Tab. 4**). Skupina 1 zahrnovala experimentální nádoby 1, 9, 10 a 14, ve kterých se larvy postupně zakuklily a poté vylíhly v "dospělce". Průměrná redukce hmotnosti odpadů v této skupině byla 48 %, nezkonzumované zbytky činily 52 %. Bráněnky HI nejvíce redukovaly hmotnost odpadů rostlinných pletiv. HI ve skupině 2 dosáhly vývojového stadia "kukly", průměrné snížení odpadu v této skupině bylo 18 % z původní hmotnosti. Ve skupině 3 se larvy téměř nevyvinuly. Tato skupina zahrnovala experimentální nádoby 6, 7 a 8. Průměrné snížení odpadů v této skupině bylo 14 %. Bráněnky HI nejméně redukovaly hmotnost separátu z BPS.

Tab. 4 Rozdělení odpadů dle konečné úrovně vývojového cyklu HI po 35 dnech

	Konečná úroveň vývojového cyklu	Číslo nádoby	Typ BRO použitý v experimentu	Redukce hmotnosti o [g]
1	dospělci	1	Odpad rostlinných pletiv	6650
		9	Kvalitně vytříděné BRKO	4480
		10	BRO z vývařoven	4590
		14	Nekvalitně vytříděné BRKO	3500
2	kukly	2	Zahradní odpad	1240
		3	Zahradní odpad - výluh	850
		4	Drůbeží trus	1680
		5	Chlévská mrva	970
		11	Kuchyňský odpad	4600
		12	Zahradní odpad	1220
		13	Zahradní odpad - výluh	1690
3	larvy	6	Separát z BPS	880
		7	Odpad z dešťových vpustí	1800
		8	Kaly z ČOV	1550

5.1.2 Rozdělení odpadů dle účinnosti redukce HI

Podrobné výsledky pro každý typ odpadu jsou uvedeny v **Tab. 5**. Teplota vzduchu a relativní vlhkost vzduchu byly měřeny kontinuálně (interval 10 min) po celou dobu experimentu**.** Průměrná teplota vzduchu v nádobách v laboratorních podmínkách činila 27,2±2 °C a průměrná relativní vlhkost vzduchu v nádobách 45,2±5 %.

Tab. 5 Snížení hmotnosti vybraných druhů odpadních materiálů po 35 dnech; intenzita konzumace a fáze životního cyklu po 35 dnech pozorování.

Katalo-gové číslo	Čísl o ná-doby	Typ BRO použitý v experimentu	Redukce hmotnosti odpadu o [g]	Stan-dardní od-chylka	% redukce hmotnosti (o kolik % se m snížila)	Fáze vývojového cyklu HI po 5 týdnech	Statisticky prokazatelně odlišné skupiny (hladina významnosti 0,05)	Velikost larev, kukel a dospělců [mm]
02 01 03	1	Odpad rostlinných pletiv	6653	668,2	66,53	Vylétávající dospělci	A	3
	2	Zahradní odpad	1242	123,9	12,42	Střední kukly	C	2,7-3,5
	3	Zahradní odpad - výluh	847	83,7	8,47	Plavající larvy	C	1,7-2,7
02 01 06	4	Drůbeží trus	1680	183,6	16,8	Střední kukly	C	2,7-3,5
	5	Chlévská mrva	974	142,6	9,75	Malé kukly	C	1,0-2,7
19 06 04	6	Separát z BPS	875	83,8	8,75	Malé larvy	C	1,0
19 08	7	Odpad z dešťových vpustí	1797	180,1	17,97	Malé, střední larvy	C	1,0-1,7
19 08 05	8	Kaly z ČOV	1552	147,7	15,52	Malé larvy	C	0,5-1,0
20 01	9	Kvalitně vytříděné BRKO	4475	423,1	44,75	Vylétávající dospělci	B	3
20 01 08	10	BRO z vývařoven	4589	428,1	45,89	Pářící se dospělci, extrémně velké kukly	B	3,5
	11	Kuchyňský odpad	4604	431,7	46,04	Velké kukly	B	3,0-3,5
20 02 01	12	Zahradní odpad	1219	122,8	12,19	Velké kukly	C	3,0- 3,5
	13	Zahradní odpad - výluh	1694	192,6	16,94	Plavající larvy	C	1,7-2,7
20 03 01	14	Nekvalitně vytříděné BRKO	3498	346,2	34,98	Vylétávající dospělci	B	3

Na základě statistického zpracování dat vyplynulo, že významně nejvyšší (testováno na α =0,05) redukce hmotnosti odpadu byla dosažena u odpadu rostlinných

pletiv (o 66,53 % původní hmotnosti). Statisticky významně odlišná (testováno na α =0,05) je skupina odpadů s nízkou mírou redukce hmotnosti. Do této skupiny patří zahradní odpad, zahradní odpad-výluh, drůbeží trus, chlévská mrva, separát z BPS, odpad z dešťových vpustí a kaly z ČOV. Nejméně byla hmotnost snížena o pouhých 17,97 % původní hmotnosti odpadu (u odpadů z deštných vpustí) nebo dokonce jen o 2,19 % (u zahradního odpadu, katalogové číslo 20 02 01).

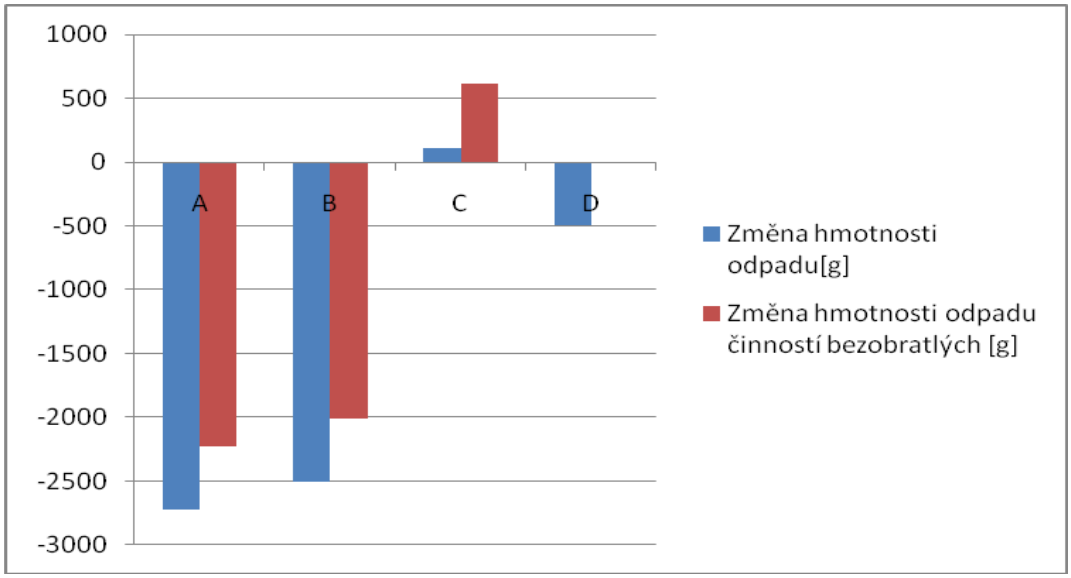
5.2 SROVNÁNÍ ROZKLADNÉ AKTIVITY VYBRANÝCH BEZOBRATLÝCH

V pokusu byly srovnávány aktivity HI a žížal v nádobách A,B,C,D (**Tab. 6**). Kukly z první nádoby A dosáhly průměrné velikosti 29±4 mm. Hmotností úbytek materiálu byl v této nádobě největší, a to 2721 g. V nádobě B nebyl po ukončení experimentu zaznamenán žádný výskyt kukel. Průměrná velikost žížal v nádobě B byla 50±7,5 mm. Hmotnostní úbytek nebyl statisticky významně menší než v nádobě A, a to 2503 g. Žížaly v nádobě C byly průměrně velké 45±4 mm, menší než v nádobě B. K hmotnostnímu úbytku v této nádobě nedošlo, naopak jeho objemová hmotnost vzrostla o 112 g. V nádobě D došlo v důsledku sesychání k hmotnostnímu úbytku o 498 g (tato hodnota byla přičtena k naměřeným změnám hmotností v nádobách A, B, C, aby byla získána změna hmotnosti odpadu pouze činností bezobratlých). Grafické znázornění změn hmotnosti odpadu v jednotlivých nádobách ukazuje **Obr. 13**. Teplota vzduchu a relativní vlhkost vzduchu byly měřeny kontinuálně (interval 10 min) po celou dobu experimentu. Průměrná teplota vzduchu v nádobách byla zjištěna 21,2±8 °C a průměrná vlhkost vzduchu v nádobách byla 62,3±10 %.

Tab. 6 Srovnání rozkladné aktivity HI a kalifornských žížal

Nádoba	Bezobratlí	Hmotnostní úbytek $\bar{x}$ [g]	σ [g]
A	HI	2721	212
B	HI + žížaly	2503	208,3
C	žížaly	+112	162,8
D	Bez bezobratlých	498	162,4

Statisticky bylo prokázáno, že redukci substrátu významně ovlivňuje činnost larev HI.



Obr. 13 Změna hmotnosti opadu a změna hmotnosti odpadu činností bezobratlých

5.3 SROVNÁNÍ LABORATORNÍCH A PROVOZNÍCH PODMÍNEK VYUŽÍVÁNÍ HI V ČR

Srovnání redukce BRO odpadu v laboratorních a provozních podmínkách je uvedeno v **Tab. 7**. Po 35 dnech redukce odpadů se larvy HI v provozních podmínkách vylíhly v dospělce (37,6 %) anebo byly nalezeny ve stádiu kukly (62,4 %). V laboratorních podmínkách se 89,5 % larev HI vylíhlo v dospělce, 10,5 % bráněnek se zakuklilo. V laboratorních podmínkách byli změřeni dospělci, jejichž velikost se pohybovala v rozmezí 2,5 až 3,5 mm, kukly v laboratorních podmínkách dosahovaly velikosti až 3,8 mm. Průměrná redukce odpadu larvami HI v laboratorních podmínkách byla 64%, nezkonzumované zbytky byly 36% původní hmotnosti odpadu. V provozních podmínkách dosáhly larvy HI vývojových stádií dospělců, jejichž velikost se pohybovala v rozmezí 1,8 až 2,2 mm, a kukel, jejich velikost byla v rozmezí 2,2 až 2,8 mm. Průměrná redukce odpadu larvami HI v provozních podmínkách byla 47% z původní hmotnosti, nezkonzumovaných zbytků bylo tedy 53%. Teplota vzduchu a relativní vlhkost vzduchu byly měřeny kontinuálně (interval 10 min) po celou dobu experimentu. Průměrná teplota vzduchu byla pro laboratorní podmínky zjištěna na

úrovni 27,2±2°C a průměrná relativní vlhkost vzduchu byla 45,2±5%. Ve venkovních podmínkách pak teplota vzduchu činila 18,6±11°C a průměrná relativní vlhkost vzduchu 68,5±12%.

Tab. 7 Srovnání redukce BRO odpadu v laboratorních a provozních podmínkách

Typ odpadu	Laboratorní podmínky [g]		Provozní podmínky [g]	
	$\overline{x}$	σ	$\overline{x}$	σ
BRO	6380	608,1	4670	426,2

Na základě statistického hodnocení získaných dat lze konstatovat, že redukce substrátu v laboratorních podmínkách se statisticky průkazně liší od redukce substrátu v provozu.

5.4 STANOVENÍ (NE)PŘÍTOMNOSTI *E. COLI, SALMONELLA* A *ENTEROCOCUS* V LARVÁCH HI A V REDUKOVANÉM SUBSTRÁTU

Průměrná teplota byla pro laboratorní podmínky vypočítána 28,2±2 °C a průměrná vlhkost byla 45,2±4 %. Stanovení bakterie *Salmonella* bylo provedeno dle ČSN EN ISO 6579 a bylo ve všech případech negativní. Stanovené hodnoty *E. coli* v redukovaném substrátu (**Tab. 8)** splňují legislativní požadavky[5]. V larvách HI byly stanoveny celkové počty *E. coli* v rozmezí $8*10^4$ až $1,2*10^5$ a celkové počty *Enterococus* v rozmezí $3,0*10^5$ až $3,8*10^5$ KTJ/g vzorku.

Tab. 8 Celkové počty stanovených mikroorganizmů vyjádřené v KTJ/g vzorku

Mikroorg.	1		2		3		4		5	
	$\overline{x}$	σ	$\overline{x}$	σ	$\overline{x}$	σ	$\overline{x}$	σ	$\overline{x}$	σ
E.coli	<10		<10		<10		<10		<10	
Enterococus	$3,0*10^4$	$0,45*10^4$	$3,8*10^4$	$0,55*10^4$	$3,1*10^4$	$0,45*10^4$	$1,1*10^5$	$0,36*10^5$	$3,2*10^4$	$0,47*10^4$
Salmonella	0		0		0		0		0	

Legenda: 1,2,3,4,5 - jsou čísla vzorků odebraného redukovaného substrátu

5.5 STANOVENÍ KONCENTRACE TĚŽKÝCH KOVŮ A BAF PRO LARVY HI

5.5.1 Vliv HI na koncentraci těžkých kovů v substrátu

Koncentrace vybraných těžkých kovů ve vstupních materiálech uvádí **Tab. 9.** Nejvyšší koncentrace vybraných těžkých kovů byly stanoveny u kalů z ČOV (jsou uvedeny červeně). Nejnižší koncentrace vybraných těžkých kovů byly stanoveny u odpadu rostlinných pletiv (jsou uvedeny modře). Nejvyšší koncentrace byla stanovena v kalu pro zinek, a to 1035,94±183,77 mg/kg sušiny. Druhým typem vstupního materiálu, který vykazuje vysoké koncentrace, byl odpad z dešťových vpustí (kromě kadmia, které mělo vyšší koncentraci ve drůbežím trusu). Koncentrace olova v odpadu dešťových vpustí (37,9±5,4 mg/kg) se blíží i koncentraci olova v kalech z ČOV (40,97±7,25 mg/kg). Třetí nejvyšší koncentrace vybraných těžkých kovů byly stanoveny u drůbežího trusu s výjimkou mědi, která měla vyšší koncentraci v separátu z BPS.

Tab. 9 Koncentrace vybraných těžkých kovů ve vstupním BRO před zahájením experimentu [mg/kg]

Druh odpadu	V	σ	Cr	σ	Co	σ	Ni	σ	Cu	σ
kaly z ČOV	35,00	4,2	76,51	8,1	7,88	0,63	33,90	2,9	257,11	24,7
separát BPS	0,97	0,06	1,85	0,08	0,39	0,05	1,32	0,19	21,25	2,5
drůbeží trus	13,33	1,6	12,91	1,3	2,34	0,19	7,80	0,82	16,35	1,9
o. dešťových vpustí	17,34	1,6	19,10	2,1	4,56	0,42	11,61	0,98	51,38	4,8
zahradní odpad	1,32	0,11	1,33	0,11	0,26	0,03	1,50	0,14	11,11	1,2
o. rostlinných pletiv	0,01		0,04	0,02	0,01		0,11	0,05	2,89	0,3

Druh odpadu	Zn	σ	As	σ	Mo	σ	Cd	σ	Sb	σ	Pb	σ
kaly z ČOV	1035,94	109	4,45	0,49	6,96	0,71	1,18	0,09	4,78	0,49	40,97	4,3
separát BPS	96,30	9,1	0,21	0,02	1,29	0,13	0,04	0	0,02	0,01	0,31	0,03
drůbeží trus	167,13	15,9	2,86	0,3	4,86	0,5	0,38	0,04	0,05	0,02	13,36	1,29
o. dešť.vpustí	176,10	18,2	3,32	0,28	0,91	0,08	0,17	0,01	0,54	0,05	37,90	3,2
zahradní odpad	62,18	5,9	0,22	0.03	2,64	0,32	0,10	0,01	0,04	0,02	1,04	0,01
o. rostl. pletiv	11,42	1,2	0,02	0,01	0,41	0,04	0,02	0,01	0,00		0,06	0,02

Koncentrace vybraných těžkých kovů ve výstupním substrátu po ukončení experimentu uvádí **Tab. 10**. Nejvyšší koncentrace vybraných těžkých kovů jsou zvýrazněny červeně a nejnižší koncentrace modře. Nejvyšší koncentrace vybraných

těžkých kovů byly stanoveny v substrátu po kalech z ČOV s výjimkou olova, kterého bylo stanoveno nejvíce v substrátu po odpadech dešťových vpustí. Nejnižší koncentrace vybraných těžkých kovů byly stanoveny v substrátu po odpadu rostlinných pletiv s výjimkou kadmia, kterého byo stanoveno nejméně v substrátu po separátu BPS, a antimonu, kterého bylo stanoveno nejméně v substrátu po drůbežím trusu.

Z výstupních substrátů vykazoval nejvyšší koncentrace těžkých kovů substrát po kalech z ČOV, maximální hodnota byla stanovena opět pro zinek, a to 993,32±170,62 mg/kg. Koncentrace olova byla vyšší u substrátu po odpadech z dešťových vpustí: 41,37±7,08 mg/kg oproti 38,55±6,58 mg/kg olova v substrátu po kalech. Substrát po drůbežím trusu má vyšší koncentrace než substrát po odpadech z dešťových vpustí pouze v případě zinku, molybdenu a kadmia.

Tab. 10 Koncentrace vybraných těžkých kovů v substrátu po redukci BRO larvami HI

[mg/kg]	V	σ	Cr	σ	Co	σ	Ni	σ	Cu	σ
kaly z ČOV	32,76	4,1	72,10	7,9	7,71	0,65	32,39	2,8	244,48	25,1
separát BPS	1,14	0,92	2,47	0,28	0,46	0,05	1,87	0,19	27,76	2,8
drůbeží trus	13,17	1,4	12,36	13	2,49	0,21	7,12	0,82	18,15	1,9
o. dešťových vpustí	15,66	1,6	19,54	2,1	4,32	0,41	12,32	1,31	40,67	4,3
zahradní odpad	1,98	0,21	2,09	0,2	0,46	0,05	2,45	0,25	22,42	2,4
o. rostlinných pletiv	0,17	0,02	0,30	0,04	0,12	0,01	1,31	0,01	9,73	0,88

[mg/kg]	Zn	σ	As	σ	Mo	σ	Cd	σ	Sb	σ	Pb	σ
kaly z ČOV	993,32	101,2	4,29	0,36	7,04	0,67	1,13	0,12	4,89	0,51	38,55	3,9
separát BPS	116,58	12,2	0,21	0.02	1,35	0,12	0,05	0,01	0,18	0,02	0,39	0,04
drůbeží trus	178,54	18,2	2,93	0,32,	5,49	0,48	0,36	0,04	0,10	0,01	11,53	1,12
o. dešťových vpustí	132,20	14,2	2,96	0.30	0,95	0,1	0,13	0,01	0,71	0,06	41,37	4,2
zahradní odpad	94,30	9,1	0,63	0,07	3,76	0,42	0,16	0,02	0,43	0,05	1,66	0,02
o. rostlinných pletiv	24,60	2	0,10	0,01	0,51	0,05	0,08	0,01	0,44	0,04	0,18	0,02

Rozdíly v koncentracích jsou statisticky nevýznamné s výjimkou všech sledovaných kovů v odpadu rostlinných pletiv a Cu, As a Sb v zahradním odpadu. Množství Cu, As a Sb v zahradním odpadu a množství všech sledovaných kovů v rostlinném pletivu se významně liší. Rozdíly množství kovů v ostatních substrátech jsou statisticky nevýznamné.

5.5.2 Akumulace těžkých kovů v larvách HI během redukce odpadu

Koncentraci vybraných těžkých kovů v larvách HI po redukci BRO uvádí **Tab. 11**. Nejvyšší koncentrace vybraných těžkých kovů v larvách jsou zvýrazněny červeně a nejnižší koncentrace modře. Nejvyšší koncentrace vanadu byla vyhodnocena pro larvy živené na drůbežím trusu 5,83±1,01 mg/kg. Pro larvy živené na kalech z ČOV byla stanovena nejvyšší koncentrace pro chrom, kobalt, nikl, měď, zinek a antimon. Pro larvy živené na drůbežím trusu byla dále vyhodnocena nejvyšší koncentrace arsenu, molybdenu a kadmia. Nejvyšší koncentrace olova byla vyhodnocena v larvách živených na odpadech dešťových vpustí 30,50±0,54 mg/kg.

Nejvyšší koncentrace v larvách živených na všech typech odpadů byly stanoveny pro zinek. Druhé nejvyšší koncentrace byly stanoveny pro měď ve všech larvách s výjimkou larev živených na odpadech dešťových vpustí, které měly po zinku nejvíce olova (30,50 mg/kg). Larvy živené na drůbežím trusu obsahovaly 9,22±1,87 mg/kg olova. Koncentrace chromu u larev živených na kalech z ČOV byla stanovena 10,96±2,00 mg/kg a u larev živených na odpadech z dešťových vpustí byla 8,48±1,52 mg/kg, což jsou vysoké koncentrace především z pohledu minimální redukce (tj. konzumace) odpadu larvami HI. Nejmenší koncentrace byly stanoveny pro antimon u všech larev HI. Vysoké koncentrace těžkých kovů vykazovaly larvy živené na kalech z ČOV, drůbežím trusu a odpadech dešťových vpustí.

Tab. 11 Koncentrace vybraných těžkých kovů v larvách HI před a po redukci BRO

[mg/kg]	V	σ	Cr	σ	Co	σ	Ni	σ	Cu	σ
larvy HI před experimenty	0,19	0,02	0,19	0,02	0,08	0,01	0,21	0,02	6,62	0,07
kaly z ČOV	5,07	0,52	10,96	1,2	1,86	0,2	4,84	0,46	56,23	5,8
separát BPS	0,23	0,02	0,53	0,06	0,18	0,02	0,52	0,05	25,86	2,6
drůbeží trus	5,83	0,6	5,75	0,6	1,27	0,09	3,40	0,35	19,52	2,1
o. dešťových vpustí	5,20	0,51	8,48	0,9	1,27	0,13	4,30	0,45	27,65	2,8
zahradní odpad	1,02	0,12	1,74	0,18	0,24	0,03	1,16	0,01	22,27	2,3
odpad rostlinných pletiv	0,02	0.002	0,04	0.02	0,01		0,11	0,01	8,18	0,9

[mg/kg]	Zn	σ	As	σ	Mo	σ	Cd	σ	Sb	σ	Pb	σ
larvy HI před ex.	74,96	7,6	0,08	0,01	0,68	0,07	0,14	0,01	0,01		0,20	0,02
kaly z ČOV	825,26	86,5	0,98	0,1	1,87	0,19	2,51	0,25	1,46	0,15	7,62	0,78
separát BPS	473,99	48,6	0,28	0.03	1,89	0,19	0,86	0,09	0,75	0,08	0,67	0,08
drůbeží trus	287,44	30,5	3,44	0,38	4,97	0,52	3,81	0,4	0,23	0,02	9,22	1,11
o. dešť.vpustí	286,46	30,2	1,71	0,18	1,28	0,14	0,73	0,08	0,19	0,02	30,50	0,32
zahradní o.	312,38	35,2	0,42	0,05	1,44	0,15	0,95	0,1	0,91	0,1	1,45	0.15
o. rostl. pletiv	76,96	8,2	0,07	0,01	0,44	0,05	0,26	0,03	0,16	0,02	0,09	0,01

Obsah Zn a As v larvách krmených na rostlinném pletivu se statisticky průkazně neliší od larev před redukcí ($p>0,05$). Obsah ostatních sledovaných kovů se statisticky významně liší ($p<0,01$).

5.5.3 BAF pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO

Bioakumulační faktory, tedy vyjádření kolikrát je koncentrace látky v larvách HI větší než ve vstupním odpadu, uvádí **Tab. 12**. Nejnižší hodnoty bioakumulačního faktoru u jednotlivých prvků jsou psány modrou barvou a nejvyšší hodnoty BAF jsou psány červeně. Největší bioakumulace vanadu byla vyhodnocena u larev živených na odpadu rostlinných pletiv. Pro chrom byl největší BAF vyhodnocen u larev živených na zahradním odpadu. Pro larvy živené na odpadu rostlinných pletiv byl vyhodnocen největší BAF pro kobalt, nikl, měď, zinek a arsen. Pro larvy živené na separátu BPS byl vyhodnocen největší BAF pro molybden, kadmium, antimon a olovo. Nejnižší BAF všech řešených prvků byl vyhodnocen u larev živených na kalech z ČOV.

Tab. 12 BAF larev HI živených na jednotlivých typech odpadů

Druh odpadu	**V**	**Cr**	**Co**	**Ni**	**Cu**
kaly z ČOV	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2
separát BPS	0,2	0,3	0,5	0,4	1,2
drůbeží trus	0,4	0,4	0,5	0,4	1,2
o. dešť. vpustí	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5
zahradní o.	0,8	1,3	0,9	0,8	2,0
o. rostl. pletiv	1,9	1,2	1,5	1,0	2,8

Druh odpadu	**Zn**	**As**	**Mo**	**Cd**	**Sb**	**Pb**
kaly z ČOV	0,8	0,2	0,3	2,1	0,3	0,2
separát BPS	4,9	1,4	1,5	20,0	39,2	2,2
drůbeží trus	1,7	1,2	1,0	10,0	4,2	0,7
o. dešť. vpustí	1,6	0,5	1,4	4,4	0,4	0,8
zahradní o.	5,0	1,9	0,5	9,9	22,4	1,4
o. rostl. pletiv	6,7	3,5	1,1	14,6	35,2	1,5

6 DISKUSE

6.1 VHODNÉ ODPADNÍ MATERIÁLY PRO REDUKCI LARVAMI HI

Úspěšnost redukce může být ovlivněna mnoha faktory. Jeon *et al.* (2011) uvádí, že významným faktorem je množství a složení bakterií v trávicím traktu larev HI. Yu *et al.* (2011) dokonce prokázal vliv na růst a vývoj larev HI naočkováním drůbežím hnojem s bakteriemi z larev HI. Skutečná redukce hmotnosti nemusí být jediným ukazatelem přínosnosti používání larev HI pro zpracování biologického odpadu. Popa a Green (2012) prokázali v odpadním materiálu pětkrát až šestkrát vyšší koncentraci (NH_4^+) vzhledem k larvami nezpracovanému výluhu.

Nejlepších výsledků v redukci odpadního materiálu bylo dosaženo u odpadu rostlinných pletiv, kde byl odpad snížen o 66,53 %. Obecně lepších výsledků bylo dosaženo v těch nádobách, které obsahovaly kašovitý odpad od začátku experimentu. Larvy mohly konzumovat podstatně méně odpadu v nádobách, kde se odpad postupně proměňoval v kašovitou hmotu. Druhá nejvyšší redukce (na 53,96 % původní hmotnosti) byla dosažena v nádobě s kuchyňským odpadem, který byl dostatečně vlhký a bez tvrdých částí. Největší kukly byly na konci experimentu v nádobách s kuchyňským odpadem, odpadem z vývařoven, odpadem rostlinných pletiv, hnojem, s kvalitně i nekvalitně vytříděným BRKO. Tyto odpadní materiály jsou vhodné pro zpracování larvami HI. Životní cyklus larvy HI nedokončily v těchto nádobách: separát z BPS, odpad z dešťových vpustí, kaly z čištění odpadních vod. Tyto odpadní materiály nejsou vhodné pro redukci larvami HI. Důvodem může být jak vlhkost materiálu, tak množství vhodné výživy pro larvy HI.

Teplota a vlhkost jsou další důležité podmínky pro život, růst a aktivitu hmyzu obecně. Pro larvy HI je ideální teplota mezi 27 a 37 °C, protože zaručuje 74-97 % přežití (Tomberlin *et al.*, 2009). Larvy HI konzumují odpad i při nižších teplotách, ale ne příliš rychle, protože jejich chování je obecně pomalejší (Lord *et al.*, 1994, Tomberlin *et al.*, 2009). Optimální hodnota vlhkosti se liší v závislosti na různých fázích vývojového cyklu bráněnky HI. Zvláště poté, co larvy opustí jejich zdroj potravy, jsou vystaveny okolní vlhkosti, která významně ovlivňuje kuklení a vznik dospělých

jedinců (Holmes *et al.*, 2012). V našich experimentech byla průměrná vlhkost 45,2±5 %, což bylo dostačující pro konzumaci odpadu larvami i rozvoj much. V těchto podmínkách dokončily svůj životní cyklus během 35 dnů jen některé larvy. Byly to larvy v pokusné nádobě s kuchyňským odpadem, dále v nádobě s odpady rostlinných pletiv, v kvalitně i nekvalitně vytříděném BRKO. U ostatních typů odpadu, ačkoliv larvy měly stejné podmínky teplotní a vlhkostní, byl vývoj výrazně pomalejší, což bylo patrné z velikosti larválních stádií a jejich chování (velikost larev na konci pokusu uvádí **Tab. 5**). Vývoj HI při teplotě 27,8 °C může včetně následného dokončení životního cyklu trvat dalších 55 dnů (Lord *et al.*, 1994).

Z našich pozorování lze vyvodit, že vývoj larev HI závisí nejen na teplotě, ale i na různých typech rozkládajících se materiálů, jejich množství a také podílu kapalných složek. Životní cyklus HI nedokončily v těchto nádobách: separát z BPS, odpad z dešťových vpustí, kaly z čištění odpadních vod. Důvodem může být jak vlhkost materiálu, tak množství vhodné výživy pro larvy HI. V nádobě s nekvalitně vytříděným BRKO larvy k zakuklení nelezly po migrační rampě do suchého místa ke kuklení, jak to obvykle dělají (Diener *et al.*, 2011), protože jim překážel odpadní materiál. Plavající larvy ve výluhu ze zahradního odpadu je překvapující, protože se o tomto jevu zatím žádný literární zdroj nezmiňuje. Ovšem aerobní podmínky při plavání jsou nezbytné kvůli dýchání.

Kukly (a následně dospělci) jsou vhodné pro zajištění další generace HI. Je zde ale také možnost využití kukly a dospělce jako krmivo pro ryby (Sealey *et al.*, 2011; Kroeckel e*t al.*, 2012), drůbež a prasata (Newton *et al.*, 2005, Veldkamp *et al.*, 2012), plazy a další zájmová zvířata (Arango Gutierrez *et al.*, 2004). Další potenciální oblastí, kde by mohla být používána bráněnka HI je předcházení vzniku odpadů. Tato možnost je zajímavá z hlediska nakládání s BRKO, který je typický svým problematickým využitím zejména při nekvalitním vytřídění (vhodný vstupní materiál se liší pro kompostování a pro zpracování na bioplyn) vzhledem k závazku omezit množství BRO ukládaného na skládky, jak vyžaduje Směrnice Rady 1999/31/ES o skládkách odpadů.

6.2 SROVNÁNÍ ROZKLADNÉ AKTIVITY VYBRANÝCH BEZOBRATLÝCH

Z časového hlediska je úspěšnější redukce za přítomnosti larev HI, ovšem pouze za vyšších teplot vzduchu, řádově od 21 °C a výše, ideální teplota pro konzumaci a množení je 27 °C (Lord *et al.*, 1994). Průměrná teplota vzduchu v průběhu našich pokusů byla 21,2±8 °C. Tyto teploty s sebou nesou také větší aktivitu rozkladných bakterií, které degradaci materiálu způsobují. Nejpomalejší rozklad probíhal v nádobě D (bez cílené přítomnosti bezobratlých). Výsledky byly ovlivněny volbou pokusných nádob: larvy by pravděpodobně neprosperovaly ve vermikompostérech tak dobře jako v nádobách Biopodu, respektive by nemusely dokončit svůj vývojový cyklus. Dalším faktorem, který je výhodnější pro larvy HI, je ukončení experimentu v okamžiku, kdy začnou dospělci HI vylétávat. Kdyby experiment pokračoval delší dobu, byly by ve výhodě žížaly, které se rozmnožují v krmném materiálu na rozdíl od HI, jejichž kukly lezou do suchého místa (Diener *et al.*, 2011) a jejichž dospělci se rozmnožují za světla a tepla a teprve vajíčka kladou do odpadu (Holmes *et al.*, 2012). Nenalezení HI v nádobě B lze vysvětlit buď hromadným dokončením vývoje ve stejnou dobu a následným vylétnutím anebo byly larvy sežrány žížalami, což by vysvětlovala větší velikost žížal z nádoby B oproti žížalám z nádoby C. K hmotnostnímu úbytku v nádobě C nedošlo, naopak jeho objemová hmotnost vzrostla o 112 g. Toto lze vysvětlit významnou aktivitou žížal v tomto substrátu.

Dalším významným faktorem je velikost zakládky, respektive hmotnost odpadu předloženého k rozkladu. Zkoumaných 5 kg BRO bylo dostatečné pro konzumaci larev, ale nebylo dostatečné pro vytvoření termofilních podmínek v odpadu bez přítomnosti larev, jak by se to dělo v ideálním případě termofilní fáze kompostování (Plíva, 2005, Diaz *et el.* 2007). K vermikompostování je používán předkompostovaný materiál, který prošel termofilní fází (Tesařová, 2010). Termofilní fázi kompostování (teploty až 70 °C) by nepřežily jak larvy HI, tak i kalifornské žížaly, proto bylo předkládáno pouze 5 kg BRO. Z vizuálního posouzení lze vyvodit, že kalifornské žížaly jsou vhodné pro vytváření hnojiva a larvy HI jsou vhodné pro redukci odpadního materiálu. K omezování množství biologicky rozložitelného materiálu ukládaného na skládky se jako lepší řešení jeví využívání larev HI, za předpokladu vhodných teplotních podmínek a pro chov nutnosti uzavřeného prostoru. Dospělci by mohli být použiti jako krmivo pro

ryby (Sealey *et al.*, 2011; Kroeckel e*t al.*, 2012), drůbež a prasata (Newton *et al.*, 2005, Veldkamp *et al.*, 2012), plazy a další zájmová zvířata (Arango Gutierrez *et al.*, 2004). Toto řešení je výhodné pro producenty i zpracovatele velkého množství BRO jako jsou velké podniky či města a větší obce.

6.3 SROVNÁNÍ LABORATORNÍCH A PROVOZNÍCH PODMÍNEK VYUŽÍVÁNÍ HI V ČR

Nejvýznamnějším faktorem byla teplota vzduchu. Teplota a vlhkost vzduchu jsou důležité podmínky pro život, růst a aktivitu hmyzu obecně. Pro larvy HI je ideální teplota mezi 27 a 37 °C, protože zaručuje 74-97 % přežití (Tomberlin *et al.*, 2009). V rozmezí těchto teplot byla stanovena i průměrná teplota v laboratorních podmínkách (27,2±2 °C). Pro uzavřené prostory jsou typické i menší teplotní výkyvy oproti venkovnímu prostředí, což je pro redukci BRO larvami HI výhodnější. Larvy HI konzumují odpad i při nižších teplotách, ale ne příliš rychle, protože jejich chování je obecně pomalejší. Nejnižší teplota pro uspokojivou konzumaci odpadů byla stanovena 21 °C (Kalová, 2011, Lord *et al.*, 1994). Teplota vypočítána v rámci dílčího cíle 1/3 pro provozní podmínky je nad touto hranicí (22,2 °C).

Optimální hodnota vlhkosti se liší v závislosti na různých fázích vývojového cyklu bráněnky HI. Zvláště poté, co larvy opustí jejich zdroj potravy, jsou vystaveny okolní vlhkosti, která významně ovlivňuje kuklení a vznik dospělých jedinců, stejně jako přítomnost a druh kuklícího substrátu (Holmes *et al.*, 2012). Průměrná vlhkost v provozních podmínkách (62,3±10 %) byla vyšší než v laboratorních podmínkách (45,2±5 %), což bylo pro vylíhnutí dospělců vhodnější, neboť i za nižších teplot dokončily larvy HI svůj přirozený vývoj, i když byla zaznamenána jejich menší velikost: v provozních podmínkách byli dospělci 1,8 až 2,2 mm dlouzí (kukly dosahovaly velikosti 2,2 až 2,8 mm) oproti laboratorním podmínkám, kde se velikost dospělců pohybovala v rozmezí 2,5 až 3,5 mm a velikost kukel v rozmezí 3,3 až 3,8 mm. Kukly bráněnek HI jsou vždy o něco delší, nežli dospělci, kteří se z nich vylíhnou. Využití pro kukly i dospělce se nabízí jako krmivo pro ryby (Sealey *et al.*, 2011; Kroeckel e*t al.*, 2012), drůbež a prasata (Newton *et al.*, 2005, Veldkamp *et al.*, 2012), plazy a další zájmová zvířata (Arango Gutierrez *et al.*, 2004).

6.4 STANOVENÍ (NE)PŘÍTOMNOSTI *E. COLI, SALMONELLA* A *ENTEROCOCUS* V LARVÁCH HI A V REDUKOVANÉM SUBSTRÁTU

Na rozdíl od jiných druhů much není HI vektorem pro přenášení onemocnění, protože dospělec (moucha) nemůže jíst kvůli jeho nefunkčnímu ústnímu ústrojí, takže nepřijde do styku s nehygienickými odpady (van Huis *et al.*, 2013). Navíc, larvy HI upravují mikroflóru hnoje, potenciálně snižují škodlivé bakterie jako je *Escherichia coli* (Liu *et al.*, 2008) a *Salmonella enterica* (van Huis *et al.*, 2013). Také existuje studie, že larvy obsahují přírodní antibiotika (Newton *et al.*, 2008).

Stanovené počty mikroorganismů v redukovaném substrátu splňují legislativní požadavky dané oddílem 3 v Nařízení (EU) komise č. 142/2011 ze dne 25. února 2011[6]. Stanovené počty mikroorganismů v larvách HI jsou pro *E. coli* v rozmezí $8*10^4$ až $1,2*10^5$ a pro *Enterococus* v rozmezí $3,0*10^5$ až $3,8*10^5$. Tyto mikroorganismy jsou nápomocné pro trávení organického materiálu. Larvy HI nevykazovaly přítomnost bakterií rodu *Salmonella*.

6.5 STANOVENÍ KONCENTRACE TĚŽKÝCH KOVŮ A BAF PRO LARVY HI

6.5.1 Koncentrace těžkých kovů ve zbylém substrátu a v larvách HI před a po konzumaci BRO

Zbylé substráty po redukci odpadů larvami HI

Výstupní materiály by mohly být používány jako součást hnojiva či půdních směsí, proto je vhodné vztáhnout na tyto výstupní materiály limity závazné pro půdy a hnojiva. Konkrétně byly použity hodnoty maximálně přípustných koncentrací pro rizikové prvky v půdě z Vyhlášky Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb.

[6] Kterým se provádí Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě a provádí Směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice.

Tabulka č. 2 uvedená v příloze č. 1 vyhlášky stanoví obsah rizikových prvků v půdách náležejících do zemědělského půdního fondu (mg/kg). Za účelem srovnání substrátu jsou vybrány maximálně přípustné hodnoty pro ostatní půdy, a to za podmínky stanovení celkového obsahu rizikových prvků v půdách rozkladem lučavkou královskou (**Tab. 13** - ostatní půdy). Toto srovnání je uváděno s vědomím, že dle řešené vyhlášky údaje o obsahu rizikových prvků neplatí pro organické půdy a že obecně uvedené údaje platí pro směsné vzorky získané z horní vrstvy minerálních půd v tloušťce 0,25 m, vysušené na vzduchu do konstantní hmotnosti.

Další hodnoty pro srovnání uvádí příloha č. 1 k Vyhlášce č. 474/2000 Sb. o stanovení požadavků na hnojiva, která vymezuje limitní hodnoty rizikových prvků v hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech. Pro účely srovnání se zbylými experimentálními substráty jsou vybrány limity pro substráty a organická a statková hnojiva se sušinou nad 13% (**Tab. 13** - substráty a organická hnojiva).

Tab. 13 Srovnání koncentrace těžkých kovů ve zbylém substrátu po redukci HI a limitů pro půdu dle Vyhlášky MŽP č. 13/1993 Sb. a limitních hodnot rizikových prvků v organických hnojivech a substrátech dle Vyhlášky č. 474/2000 Sb. o **stanovení požadavků na hnojiva**

	Experimentální výsledky						**Srovnání**		
[mg/kg]	kaly z ČOV	separát BPS	drůbeží trus	o. dešť. vpustí	zahradní o.	o. rostl. pletiv	ostatní půdy	substráty	organická hnojiva
V	32,76	1,14	13,17	15,66	1,98	0,17	220	-	-
Cr	72,10	2,47	12,36	19,54	2,09	0,30	200	100	100
Co	7,71	0,46	2,49	4,32	0,46	0,12	50	-	-
Ni	32,39	1,87	7,12	12,32	2,45	1,31	80	50	50
Cu	244,48	27,76	18,15	40,67	22,42	9,73	100	100	150
Zn	993,32	116,58	178,54	132,20	94,30	24,60	200	300	600
As	4,29	0,21	2,93	2,96	0,63	0,10	30	20	20
Mo	7,04	1,35	5,49	0,95	3,76	0,51	5	5*	20
Cd	1,13	0,05	0,36	0,13	0,16	0,08	1	2**	2
Sb	4,89	0,18	0,10	0,71	0,43	0,44	-	-	-
Pb	38,55	0,39	11,53	41,37	1,66	0,18	140	100	100

* Neplatí pro substráty používané v zahradnictví vyjma těch, které jsou používány k pěstování ovoce a zeleniny.

** 1 mg/kg pro substráty určené pro pěstování zeleniny a ovoce.

Čtyři z šesti zbylých substrátů po redukci odpadu larvami HI nepřekračují žádnou limitní hodnotu. Zbylý substrát po drůbežím trusu překračuje pouze limitní koncentraci

molybdenu, a to jen pro ostatní půdy, nikoliv pro organická hnojiva a limit pro substrát překračuje pouze v případě k pěstování ovoce a zeleniny - pro použití v zahradnictví není koncentrace molybdenu nadlimitní. Zbylý substrát po kalech z ČOV má nadlimitní hodnoty mědi, zinku, molybdenu (pro limity ostatních půd a limity substrátů) a kadmia (ve srovnání s limitem pro ostatní půdy). Kaly z ČOV byly redukovány přítomností larev HI jen nepatrně, což může být i důvod pro vysoké koncentrace těžkých kovů, které nebyly akumulovány do těl larev HI. Kaly z ČOV nebyly vyhodnoceny jako vhodný odpad pro redukci larvami HI, nejsou tedy nadlimitní hodnoty ve zbylém substrátu nijak znepokojivé. Koncentrace vanadu, chromu, kobaltu, niklu, arsenu a olova se neblíží žádné z hraničních hodnot u žádného výchozího substrátu.

Larvy HI po redukci odpadů

Vzhledem k možnosti využití kukel a dospělců jako krmivo je žádoucí určit, které druhy odpadních materiálů jsou vhodné jako obživa larev HI z pohledu akumulace těžkých kovů v potravním řetězci. Pro rámcové srovnání koncentrací těžkých kovů v larvách jsou použity maximální přípustné hodnoty kovů pro potraviny. Hodnocení limitních hodnot je samozřejmě nutné brát pouze orientačně, protože při zkrmování larev HI by docházelo k akumulaci i u hospodářských zvířat. Navíc koncentrace těžkých kovů v larvách HI je spočítána ze sušiny (**Tab. 14)** a v legislativě se uvádí koncentrace v mg/kg čerstvé hmotnosti.

Z hlediska kontaminace potravin mají význam především toxické prvky olovo, kadmium, rtuť a také např. arsen. Ve vyšších koncentracích mohou toxické účinky vykazovat také některé prvky, které jsou z hlediska potřeb organismu v nižších koncentracích zásadně potřebné - železo, zinek, cín, chrom, měď, nikl, selen aj. V případě velkých množství těžké kovy poškozují játra, ledviny a nervový systém. (Bezpečnost potravin, 2014).

Přípustné mezní hodnoty obsahu olova a kadmia v některých potravinách jsou stanoveny nařízením 629/2008/ES. Mezní hodnoty kadmia jsou nejvyšší pro ledviny, mlže a hlavonožce, a to 1,0 mg/kg čerstvé hmotnosti. Nejnižší mezní hodnoty kadmia jsou pro různé druhy zeleniny v rozmezí 0,05 až 0,2 mg/kg čerstvé hmotnosti. Pro doplňky stravy je přípustná maximální hodnota kadmia 3,0 mg/kg v suplementech vyrobených převážně z mořských řas, zatímco v ostatních doplňcích stravy je

maximální přípustná hodnota jen 1,0 mg/kg. Vyšší hodnoty kadmia pro mořské řasy jsou zdůvodněny skutečností, že tyto rostliny tento prvek přirozeně akumulují. Přípustné mezní hodnoty kadmia překračují larvy živené na kalech z ČOV a drůbežím trusu. Larvy živené na kalech nepřekračují hodnoty kadmia v suplementech, ovšem nesplňují podmínku převážného podílu mořských řas. Nejnižší koncentraci kadmia mají larvy živené na odpadu rostlinných pletiv.

Pro olovo v suplementech je Nařízením 629/2008/ES stanoven limit 3,0 mg/kg. Nejmenší přípustnou koncentraci olova mají mít šťávy a nektary (0,05 mg/kg), samozřejmě až po mléku a kojenecké výživě (0,02 mg/kg). Největší přípustnou koncentraci mají ryby a mořští živočichové (až 1,5 mg/kg). Pro vnitřnosti je stanovena přípustná hodnota 0,5 mg/kg. Největší přípustnou koncentrací olova nepřekračují pouze larvy živené na separátu z BPS, zahradním odpadu a odpadu rostlinných pletiv. Ostatní larvy překračují i hodnoty povolené pro obsah olova v suplementech. Nejvyšší koncentraci olova vykazují larvy živené na odpadu dešťových vpustí.

Vyhláška č. 305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách, uvádí nejvyšší povolené množství i pro další kovy. Pro zinek je stanoven limit pouze pro ovocné šťávy, a to 5,0 mg/kg. Navíc zinek je organismu spíše prospěšný (je součástí a aktivačním faktorem řady enzymů) a jeho nadbytek je tělo schopno vylučovat střevem, ledvinami a kůží: v horku se potem vyloučí 2 až 3 mg Zn. Denní potřeba zinku se odhaduje na 12 až 20 mg (Bezpečnost potravin, 2014). Koncentrace zinku je vyšší u larev živených na všech typech odpadů, což je pochopitelné z důvodu vysokého obsahu zinku v larvách HI před redukcí odpadů (74,96 mg/kg). Vyhláškou č. 305/2004 jsou stanoveny limity pro obsah arsenu v čokoládě, výrobcích z kakaa (0,5 resp. 1,0 mg/kg), v dětské a kojenecké výživě (0,1 mg/kg), octu (1,0 mg/kg) a ovoci a šťávách (0,2 mg/kg). Arsenu obsahují nadlimitní množství larvy živené na drůbežím trusu a odpadech dešťových vpustí. Hraniční hodnotě se blíží larvy HI živené na kalech z ČOV.

Tab. 14 Koncentrace vybraných těžkých kovů v larvách HI před a po redukování odpadů

[mg/kg]	kaly z ČOV	separát BPS	drůbeží trus	o. dešť. vpustí	zahradní o.	o. rostl. pletiv	larvy před redukcí o.
V	5,07	0,23	5,83	5,20	1,02	0,02	0,19
Cr	10,96	0,53	5,75	8,48	1,74	0,04	0,19
Co	1,86	0,18	1,27	1,27	0,24	0,01	0,08
Ni	4,84	0,52	3,40	4,30	1,16	0,11	0,21
Cu	56,23	25,86	19,52	27,65	22,27	8,18	6,62
Zn	825,26	473,99	287,44	286,46	312,38	76,96	74,96
As	0,98	0,28	3,44	1,71	0,42	0,07	0,08
Mo	1,87	1,89	4,97	1,28	1,44	0,44	0,68
Cd	2,51	0,86	3,81	0,73	0,95	0,26	0,14
Sb	1,46	0,75	0,23	0,19	0,91	0,16	0,01
Pb	7,62	0,67	9,22	30,50	1,45	0,09	0,20

Larvy jako krmivo pro hospodářská či zájmová zvířata jsou vhodné živit na odpadu rostlinných pletiv či zahradním odpadu. Méně vhodné pro účely zkrmování jsou larvy živené na separátu z BPS, a to jak z pohledu koncentrací těžkých kovů, tak z důvodu nízkého přírůstku larev HI živených pouze na separátu z BPS. Nevhodné pro účely zkrmování jsou larvy živené na drůbežím trusu, odpadech dešťových vpustí a kalech z ČOV. Kaly z ČOV ani odpady z dešťových vpustí nebyly vyhodnoceny jako vhodný odpad pro redukci larvami HI, tudíž nejsou nadlimitní hodnoty v larvách HI živených na těchto odpadech nijak znepokojivé.

Diskutabilní je živení larev HI na drůbežím trusu. Nabízí se možnost pomocí larev HI záměrně akumulovat těžké kovy z životního prostředí, ovšem nadále zůstává otázka, jak z nich poté těžké kovy získat. Další alternativou pro larvy s nadlimitním obsahem těžkých kovů mohou být postupy získávání bionafty ze sušených larev HI, jak je popsáno pro larvy HI živené na hnoji (Li *et al.*, 2011). K obecnému závěru o nevhodnosti zpracování drůbežího trusu larvami HI by bylo potřeba dalších experimentů s více zdroji drůbežího trusu.

6.5.2 BAF pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO

Bioakumulační faktory vyjadřují, kolikrát je koncentrace látky v larvách HI větší než ve vstupním odpadu. Bioakumulační faktory bývají používány v problematice biodostupnosti perzistentních organických látek (POP) v tuhých matricích jako je půda

či sedimenty (Kosková, 2010). V ekotoxikologických studiích biodostupnosti a bioakumulace cizorodých látek v půdním prostředí jsou často používány dekompoziční organismy, které jsou důležitým prvkem řady potravních řetězců: roupice (*Enchytraeus albidus*) a žížaly hnojní (Peštová, 2007). Peštová určovala BAF žížal *E. fetida* pro polykondenzované aromatické uhlovodíky (PAHs), polychlorované bifenyly (PCBs) a DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorfenyl)-ethan), ovšem z těžkých kovů pouze pro kadmium. BAF kadmia u žížal po jednom dni byl stanoven 3,2, po 4 dnech 6,7; po 9 dnech 16,9 a po 14 dnech 35,8 (Peštová, 2007). Ačkoliv je to nesrovnatelné, lze uvést, že larvy HI živené na odpadu rostlinných pletiv 35 dní akumulovaly kadmium obdobně (BAF 14,6) jako žížaly z testů Peštové po 9 dnech (BAF 16,9).

Nízké hodnoty BAF u larev živených na kalu z ČOV a odpadu z dešťových vpustí lze vysvětlit nízkou konzumací odpadního materiálu (**Tab. 5**) nebo také nízkým obsahem kovů v biodostupné frakci, nemobilitou kovů a tedy i minimalizací přestupu. Olovo a arsen z odpadů larvy HI akumulovaly ve většině odpadních materiálů, kde byly larvy HI schopny alespoň částečně vyrůst na předkládané potravě (konkrétně v separátu BPS, drůbežím trusu, odpadech dešťových vpustí, zahradním odpadu a odpadu rostlinných pletiv).

Nejvíce docházelo k akumulaci antimonu a kadmia, a to především v larvách krmených separátem z BPS, zahradním odpadem, odpadem rostlinných pletiv i drůbežím trusem. Oba tyto těžké kovy vykazují toxické vlastnosti. Toxické vlastnosti antimonu bývají uváděny především v souvislosti s expozicí lidí při zaměstnání (inhalace, pokožka). Akutní otrava antimonem orální cestou může způsobovat zvracení, nucení ke zvracení, břišní křeče a průjem. Kadmium bývá klasifikováno jako lidský karcinogen. Výrazný příjem kadmia má na svědomí kouření cigaret, ovšem značná část kadmia je přijímána i potravou. Chronická toxicita kadmia se projevuje poruchou funkce ledvin, zvýšeným krevním tlakem, anémií, poškozením kostní dřeně a osteoporózou (Bezpečnost potravin, 2014). Možností pro další výzkumy by mohlo být, zda není vhodné použít právě larvy HI pro shromažďování kadmia a antimonu, tedy omezování jejich výskytu v životním prostředí a tedy i potravním řetězci.

Larvy byly schopny akumulovat také olovo i arsen z odpadních materiálů, což by mohlo být vhodné z pohledu snahy omezovat výskyt olova a arsenu v životním prostředí kvůli jeho nežádoucímu chronickému působení na lidský organismus. Pro kvalitnější interpretaci výsledků by samozřejmě bylo vhodnější znát konkrétní formy těžkých kovů, protože ty rozhodují o dostupnosti pro veškeré organismy. Vzhledem k tomu, že tyto experimenty jsou prvotním šetřením v této problematice, nemají ambice zacházet do podrobností, ale spíše přinést první zmapování přesunu těžkých kovů z odpadních materiálů do jejich konzumentů, což může rámcově odkazovat i k člověku jakožto konzumentovi.

7 ZÁVĚR

Hlavním cílem předložené disertační práce bylo zjistit, jaké jsou možnosti a následky využití bráněnek *Hermetia illucens* v odpadovém hospodářství České republiky.

Byly vytvořeny dvě hypotézy a stanoveno 5 dílčích cílů.

Hypotéza č. 1: Larvy bráněnky HI jsou schopny svojí činností redukovat BRO v podmínkách České republiky

Dílčí cíl 1/1: Zjistit, které vybrané druhy biologicky rozložitelných odpadů jsou larvy bráněnky HI schopny redukovat a zároveň úspěšnost případné redukce

Dílčí cíl byl splněn. V experimentu larvy HI konzumovaly různý rozkládající se materiál. Nejlepší výsledky byly dosaženy u odpadu rostlinných pletiv, kde byl odpad snížen o 66,53 %. Největší kukly byly na konci experimentu v nádobách s kuchyňským odpadem, odpadem z vývařoven, odpadem rostlinných pletiv, hnojem, s kvalitně i nekvalitně vytříděným BRKO. Tyto odpadní materiály jsou vhodné pro zpracování larvami HI. Životní cyklus larvy HI nedokončily v těchto nádobách: separát z BPS, odpad z dešťových vpustí, kaly z čištění odpadních vod. Tyto odpadní materiály nejsou vhodné pro redukci larvami HI. Důvodem může být jak vlhkost materiálu, tak množství vhodné výživy pro larvy HI. Bylo také zjištěno, že při vhodných teplotách jsou larvy HI schopné dokončit svůj životní cyklus, když jsou v blízkosti vhodná místa ke kladení vajec. Larvy, které se vylíhnou z vajec, mohou být použity pro další experimenty, a tím zajistit cyklický přísun larev HI pro zpracování dalších odpadních materiálů.

Dílčí cíl 1/2: Porovnat rozkladnou aktivitu bráněnek HI a kalifornských žížal *Eisenia andrei* při zpracovávání BRO

Také tento dílčí cíl byl splněn. V podmínkách našich experimentů se jeví výhodnější redukce BRO za přítomnosti larev HI, ovšem pouze za vyšších teplot, řádově od 21°C a výše, ideální teplota pro konzumaci a množení HI je 27 °C. Naopak kalifornské žížaly jsou vhodné pro vytváření hnojiva, protože produkují více výkalů, které mají vhodné vlastnosti pro půdu i růst plodin. Uživatelsky snazší je využívání kalifornských žížal pro zpracování BRO, protože mohou být využívány kontinuálně v jednom prostoru

a nepotřebují prodělávat vývojové fáze odděleně jako HI. Ovšem z pohledu zpracovatelů velkého množství BRO (na úrovni států, krajů, měst, velkých podniků) se jako lepší řešení k omezování množství biologicky rozložitelného materiálu ukládaného na skládky jeví využívání larev HI, za předpokladu vhodných teplotních podmínek a pro chov nutnosti uzavřeného prostoru.

Dílčí cíl 1/3: Srovnat provozní a laboratorní podmínky využívání HI pro redukci BRO v podmínkách ČR

I tento dílčí cíl byl splněn. Redukce odpadů larvami HI byla v nastavení našich experimentů úspěšnější v laboratorních podmínkách, kde larvy HI zredukovaly 64% BRO z původní hmotnosti (nezkonzumovaných zbytků zůstalo tedy 36%), v provozních podmínkách byla redukce méně úspěšnější (larvy HI redukovaly původní BRO o 47%, po redukci zůstalo tedy 53% nezkonzumovaných zbytků odpadů), a to především z důvodů nižších teplot, které jsou stěžejní pro aktivitu bráněnek HI (průměrná teplota v laboratorních podmínkách byla 27,2±2°C). O lepších podmínkách pro redukci odpadů v laboratoři svědčí i větší velikost kukel HI, která byla o 0,7 mm větší než u kukel v provozních podmínkách. Ačkoliv není redukce odpadu larvami HI v provozních podmínkách tak úspěšná jako v laboratorních podmínkách, je alespoň v teplých letních měsících možná i ve venkovním prostředí České republiky.

Hypotéza H1 byla potvrzena: larvy HI jsou schopny svojí činností redukovat BRO v podmínkách České republiky. Ze 13 typů odpadů byly pouze tři typy odpadů vyhodnoceny jako nevhodné pro redukci larvami HI, a to kal z ČOV, separát z BPS a odpady dešťových vpustí. Naopak jako velmi vhodné odpady k redukci larvami HI byly vyhodnoceny jak kvalitně, tak nekvalitně vytříděné biologicky rozložitelné složky komunálního odpadu, a to i z důvodu snižování BRO ukládaného na skládky.

Hypotéza č. 2: Využívání larev HI pro redukci BRO nemá negativní vliv na zdraví lidí ani na životní prostředí

Dílčí cíl 2/1: Zjistit, zda výsledný substrát po redukování odpadu larvami HI vykazuje přítomnost *Escherichia coli, Enterococcus* a *Salmonella*

Dílčí cíl byl splněn, výsledný substrát obsahoval bakterie *E. coli a Enterococcus* v podlimitním množství pro využití jako biokompost, a zároveň v substrátu nebyly nalezeny žádné bakterie rodu *Salmonella.*

Dílčí cíl 2/2: Vyjádřit koncentraci těžkých kovů v dodaných larvách, ve vstupním BRO, ve zbylém substrátu a v larvách po konzumaci BRO a zároveň stanovit bioakumulační faktor (BAF) pro larvy HI živené na jednotlivých typech BRO

Také tento dílčí cíl byl splněn. Koncentrace vybraných těžkých kovů byla stanovena v dodaných larvách, ve vstupním BRO, zbylém substrátu i larvách po redukci odpadů. Čtyři z šesti zbylých substrátů po redukci odpadu larvami HI nepřekračují žádnou limitní hodnotu obsahu kovů pro půdy ani pro hnojiva. Zbylý substrát po drůbežím trusu překračuje pouze limitní koncentraci molybdenu, a to jen pro ostatní půdy a pro substrát určený pouze k pěstování ovoce a zeleniny. Zbylý substrát po kalech z ČOV má nadlimitní hodnoty mědi, zinku, molybdenu a kadmia, což nemusí být vnímáno jako negativní důsledek, protože kal z ČOV nebyl larvami HI nijak výrazně redukován, a proto ani není reálné jej používat jako krmné médium pro larvy HI.

Larvy jako krmivo pro hospodářská či zájmová zvířata je z pohledu obsahu těžkých kovů vhodné živit na odpadu rostlinných pletiv či zahradním odpadu. Méně vhodné pro účely zkrmování jsou larvy živené na separátu z BPS, a to jak z pohledu koncentrací těžkých kovů, tak z důvodu nízkého přírůstku larev HI živených pouze na separátu z BPS. Nevhodné pro účely zkrmování jsou larvy živené na drůbežím trusu, odpadech dešťových vpustí a kalech z ČOV. Kaly z ČOV ani odpady z dešťových vpustí nebyly vyhodnoceny jako vhodný odpad pro redukci larvami HI, tudíž nejsou nadlimitní hodnoty v larvách HI živených na těchto odpadech nijak znepokojivé. Drůbeží trus v našich experimentech nebyl vyhodnocen jako vhodné krmné médium pro larvy HI, které by dále měly sloužit ke zkrmování. K obecnému závěru o nevhodnosti zpracování

drůbežího trusu larvami HI by bylo potřeba dalších experimentů s více zdroji drůbežího trusu.

Bioakumulační faktory byly stanoveny pro larvy živené na různých typech odpadů. Nejvíce docházelo v larvách HI k akumulaci antimonu a kadmia, a to především v larvách krmených separátem z BPS, zahradním odpadem, odpadem rostlinných pletiv i drůbežím trusem. Jak antimon, tak kadmium vykazují toxické vlastnosti. Otázkou pro další výzkumy by mohlo být, zda není vhodné použít právě larvy HI pro shromažďování kadmia a antimonu, tedy omezování jejich výskytu v životním prostředí a tedy i potravním řetězci z důvodů jejich toxických vlastností.

Rovněž hypotéza H2 byla výsledky práce potvrzena. Využívání larev HI pro redukci BRO nemá negativní vliv na zdraví lidí ani na životní prostředí. Stanovené počty patogenních mikroorganismů v redukovaném substrátu splňují legislativní kritéria. Larvy jako krmivo pro hospodářská či zájmová zvířata je z pohledu obsahu těžkých kovů vhodné živit na odpadu rostlinných pletiv či zahradním odpadu.

V oblasti odpadového hospodářství byl obdobně zaměřený výzkum realizován poprvé. Obecně je proto možné konstatovat, že získané výsledky přispěly k rozvoji poznání v oblasti nakládání s biologicky rozložitelnými odpady. Výsledným doporučením je zahrnout larvy HI do systému nakládání s BRO, ač v uzavřených prostorách.

8 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

AIRA, M., MONROY, F., DOMÍNIGUEZ, J., 2006: C to N ratio strongly affects population structure of *Eisenia fetida* in vermicomposting systems. European Journal of Soil Biology, č. 42, s. 127-131.

ALTMANN, V., 2010: Nakládání s biologicky rozložitelnými odpady. Databáze online [cit. 2014-03-23]. Dostupné na: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/nakladani-s-biologicky-rozlozitelnymi-odpady>. ISSN: 1801-2655.

ANONYMOUS, 2012: Bioremediation of toxic metals using worms: Earthworms soak up heavy metal. Databáze online [cit. 2015-06-4]. Dostupné na http://www.sciencedaily.com /releases/2012/08/120816133420.htm

ARANGO GUTIERREZ, GP; VERGARA RUIZ, RA, MEJIA VELEZ, H., 2004: Compositional, microbiological analysis and protein digestibility of larval meal of *Hermetia illucens* **(***Diptera: Stratiomyida**e***) at Guardian Angel-Antioquia, Colombia. Revista - Facultad Nacional de Medellin Agronomy, 57 (2): 2491-2499.

BARRY, T., 2004: Evaluation of the economic, social, and biological feasibility of bioconverting food wastes with the Black soldier fly (*Hermetia illucens*). PhD Dissertation, University of Texas, August 2004, 176 pp.

BEZPEČNOST POTRAVIN. Informační centrum bezpečnosti potravin, 2014. Databáze online [cit. 2014-04-13]. Dostupné na: http://www.bezpecnostpotravin.cz/

BIOLIB, 2014: BioLib-mezinárodní encyklopedie rostlin, hub a živočichů. Databáze online [cit 2014-02-10]. Dostupné na: http://www.biolib.cz/

BIOPOD, 2014. Databáze online [cit. 2014-03-24]. Dostupné na: *http://www.thebiopod.com/*

BORKOVCOVÁ M., 2007: Problematika zdravotních rizik při kompostování bioodpadu, s. 116–117. In: *Sborník z III. Mezinárodní konference biologicky rozložitelné odpady: jejich zpracování a využití v zemědělské a komunální praxi konané 9.–11. října 2007*. ZERA, Náměšť nad Oslavou, 121 s. ISBN 80-903548-3-1.

BORKOVCOVÁ M., VESELÝ P., 2008. Pseudomyiáze larvami dvoukřídlých (Diptera) v souvislosti s bioodpady - první záchyt v České republice. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis : Acta of Mendel University of agriculture and forestry Brno = Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně,* č. 1, s. 19-23. ISSN 1211-8516.

BYRD J. H., CASTNER J. L., 2010: *Forensic entomology*. The utility of arthropods in legal investigations. Second edition. Tayler and Francis group. 705 s. ISBN: 978-0-8493-92153

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD, 2014. Databáze online [cit. 2014-03-03]. Dostupné na: http://www.czso.cz/csu/tz.nsf/i/v_recyklovani_se_zlepsujeme_na_evropu_ale_nestacime _20130930

DIAZ, L. F., DE BERTOLDI, M., 2007: *Compost science and technology.* Boston, MA: Elsevier, 2007. 364 s. ISBN 978-0-08-043960-0.

DICLARO, J. W., KAUFMAN, P. E., 2009: Black soldier fly *Hermetia illucens* Linnaeus (Insecta: Diptera: Stratiomyidae). EENY-461, Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

DIENER, S., ZURBRÜGG, C. and TOCKNER, K., 2009. Conversion of organic material by Black soldier fly larvae: Establishing optimal feeding rates. *Waste Management and Research*, 27(6), pp. 603-610.

DIENER, S.; ZURBRÜGG, C.; ROA GUTIÉRREZ, F.; NGUYEN DANG HONG; MOREL, A.; KOOTTATEP, T.; TOCKNER, K., 2011: Black soldier fly larvae for organic waste treatment – prospects and constraints. *WasteSafe 2011 – 2nd Int. Conf. on Solid Waste Management in the Developing Countries*, 13-15 February 2011, Khulna, Bangladesh, pp 52-59.

DOMÍNGUEZ J., EDWARDS C. A., 2010a: Biology and Ecology of Earthworms Species used for Vermicomposting. In: Clive A. Edwards, Norman Q. Arancon, Rhonda L. Sherman (Eds.) *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Waste and Environmental Managemen*t. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 25-37.

DOMÍNGUEZ J., EDWARDS C. A., 2010b: Relationships between composting and vermicomposting: relative values of the products. In: Clive A. Edwards, Norman Q. Arancon, Rhonda L. Sherman (Eds.) *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Waste and Environmental Management*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 11-25.

DOMÍNGUEZ J., 2010: The Microbiology of Vermicomposting. In: Clive A. Edwards, Norman Q. Arancon, Rhonda L. Sherman (Eds.) *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Waste and Environmental Management.* CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 51-63

DOMÍNGUEZ J., EDWARDS C. A., 2004: Vermicomposting organic wastes: A review. In: Shakir Hanna SH, Mikhail WZA (eds) *Soil Zoology for sustainable Development in the 21st century*, Cairo. pp 369-395

DOMÍNGUEZ J., VELANDO A., FERREIRO A., 2005: Are Eisenia fetida (Savingy, 1826) and Eisenia andrei (Bouché, 1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species? Pedobiologia 49. pp 81-87. Databáze online [cit. 2014-03-21]. Dostupné na: http://webs.uvigo.es/avelando/pdfs_archivos/Eisenias.pdf:

EKODOMOV, 2014. Databáze online [cit. 2014-03-16]. Dostupné na: http://www.kompostuj.cz/

EKOVERMES, ekologická hnojiva. Karel Pecl. Databáze online [cit. 2014-03-12]. Dostupné na: http://www.ekovermes.cz/

EMSLEY, J. (Ed.), 1991: The Elements. *Oxford Chemistry Guides*. Clarendon Press,Oxford, 250 p. ISBN: 0198552378

EARTHFARMS, 2014. Databáze online [cit. 2014-03-16]. Dostupné na: http://www.earthfarms.org/blog/?p=157

ESR INTERNATIONAL, 2014. Databáze online [cit. 2013-06-16]. Dostupné na: http://www.esrint.com/pages/bioconversion.html

FLY CONTROL in Livestock and Poultry production, 2014. Databáze online [cit. 2014-03-24]. Dostupné na: http://www.flycontrol.novartis.co.uk/species/soldierfly/en/index.shtml

GUTIERREZ A., VERGARA RUIZ G.P., MEJIA VELEZ R.A., 2004: Compositional, microbiological and protein digestibility analysis of larval meal of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyiidae) at Angelopolis-Antioquia, Colombia. *Revista - Facultad Nacional de Agronomia Medellin*, 57(2): 2491-2499.

HAVELKA, P., 2013: Jak je to s často opakovatelnými mýty okolo skládkování. *Odpadové fórum.*Waste management forum, č. 12, s.14 - 16.

HEJÁTKOVÁ, K., KŘÍŽOVÁ O., 2013: Podpora rozšíření využívání kompostů vyrobených z BRO v zemědělství. *Odpadové fórum.*Waste management forum, č. 2, s.10.

HOLMES, L.A., VANLAERHOVEN, S.L. and TOMBERLIN, J.K., 2012. Relative humidity effects on the life history of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Environmental Entomology,* **41**(4), pp. 971-978.

HŘEBÍČEK, J., 2009: Prognóza nakládání s biodegradabilním odpadem v ČR do roku 2020. Databáze online [cit. 2014-03-23]. Dostupné na: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/prognoza-nakladani-s-biodegradabilnim-odpadem-v-cr-do-roku-2020>. ISSN: 1801-2655.

HŘEBÍČEK, J., HORSÁK, Z., CHUDÁREK T., 2014: Jak dál s bioodpady? *Odpadové fórum.* Waste management forum, č. 2, s.10 - 11.

HUMPLÍK M., 2013: Bioodpady končí jinde než by měly. Důsledkem je nedostatek kompostu, s. 11. In *Odpady* 5/2013. Databáze online [cit. 2013-06-12]. Dostupné na: http://odpady.ihned.cz/c1-59837700-bioodpady-konci-jinde-nez-by-mely-dusledkem-je-nedostatek-kompostu

HNOJNÍ ŽÍŽALY, 2013. Databáze online [cit. 2013-06-12]. Dostupné na: http://hnojnizizaly.cz/

JAIN, C. K., ALI, I., 2000: Arsenic: Occurrence, Toxicity and Speciation Techniques. *Water Research* 34/17, pp 4304-4312.

JEON H., PARK S., CHOI J., JEONG G., LEE S. B., CHOI Y., LEE S.A., 2011: The Intestinal Bacterial Community in the Food Waste-Reducing Larvae of Hermetia illucens. *Current Microbiology*. 2011, roč. 62, č. 5, s. 1390-1399. ISSN 0343-8651. DOI: 10.1007/s00284-011-9874-8. Dostupné na:http://www.springerlink.com/index/10.1007/s00284-011-9874-8.

KALOVÁ M., 2011: Možnosti využití bráněnky *Hermetia illucens* při zpracování biologického odpadu. Databáze online [cit. 2014-03-25]. Diplomová práce. Mendelova univerzita. Agronomická fakutla. Vedoucí práce Marie Borkovcová. Dostupné na: https://is.mendelu.cz/auth/lide/clovek.pl?id=21118;zalozka=7; studium=41953

KALOVÁ, M., BORKOVCOVÁ, M., 2013: Voracious larvae Hermetia illucens and treatment of selected types of biodegradable waste. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis.* 2013. sv. 61, č. 1, s. 77--83. ISSN 1211-8516.

KATALOG ODPADŮ stanovený Vyhláškou 381/2001 Sb., 2011. Databáze online [cit. 2014-03-31]. Dostupné na: http://www.envigroup.cz/www/podnikova-ekologie/katalog-odpadu.html

KAZDA, J., 2012: Výskyt škodlivých organizmů při kompostování . Databáze online [cit. 2014-03-19]. Dostupné na: http://www.kompostuj.cz/vime-jak/literatura-tematicke-clanky-slovnicek-pojmu/vyskyt-skodlivych-organizmu-pri-kompostovani/

KOČÍ V., MOCOVÁ K., 2009: Ekotoxikologie pro chemiky. Vydavatelství VŠCHT Praha, 1.ed., p. 180. ISBN 978-80-7080-699-9.

KOSKOVÁ, P., 2010: Biodostupnosti organických látek v tuhých matricích. Databáze online [cit. 2014-04-25]. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Branislav Vrana. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/239219/prif_b/>.

KOTULÁN, J., 2009: Výpočty zdravotních rizik a jejich nejistoty. s. 7–9. In: *EIA – IPPC – SEA*, č. 1. Databáze online [cit. 2014-03-30]. Dostupné na: http://www.mzp.cz/osv/edice.nsf/FD14294662714D5DC1257544005703AC/$file/60375976.pdf.

KROECKEL, S., HARJES, A. G. E., ROTH, I., KATZ, H., WUERTZ, S., SUSENBETH, A., SCHULZ, C., 2012: When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the Black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima***)**. Aquaculture, 364/365: 345-352.

LALANDER, C., DIENER, S., MAGRI, M. E., ZURBRÜGG, C., LINDSTRÖM, A., VINNERÅS, B., 2013: Faecal sludge management with larvae of the Black soldier fly (*Hermetia illucens*) – From a hygiene aspect. *Science of The Total Environment*. Vol. 458-460, pp. 312-318.

LI, Q., ZHENG, L., QIU, N., CAI, H., TOMBERLIN, J.K.,YU, Z., 2011: Bioconversion of dairy manure by Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. *Waste Management*, **31**(6), pp. 1316-1320.

LIU, Q., TOMBERLIN, J.K., BRADY, J.A., SANFORD, M.R., YU, Z., 2008: Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environmetal Entomology*, 37(6):1525-30.

MANHART, J., 2012: Aktuální stav a dlouhodobá koncepce MŽP - nakládání s bioodpady v ČR. In: Tisková zpráva z konference Biologicky rozložitelné odpady. Databáze online [cit. 2014-03-30]. Dostupné na: http://www.zeraagency.eu/dokumenty/008007/manhart_jaromir.pdf.

MAŇÁKOVÁ, B., 2011: Možnosti snížení rizikovosti arsenu v problematických kalech. Databáze online [cit. 2014-03-25]. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Jakub Hofman. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/211127/prif_m/>.

MEJZLÍK, P., 2013: Technologie kompostování ve vacích a vermikompostování. [online]. 2013 [cit. 2014-02-28]. Bakalářská práce. JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, Zemědělská fakulta. Vedoucí práce Marie Šístková. Dostupné z: < https://theses.cz/id/b3197t/BP_Mejzlk_Petr_3__ZT.pdf

MYERS H. M.,TOMBERLIN J. K., LAMBERT B.D., KATTES D., 2008: Development of the Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Fed Dairy Manure. *Environmental Entomology*, 37(1): 11-15.

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení Nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu). Databáze online [cit. 2013-05-21]. Dostupné na: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/ LexUriServ.do?uri=CELEX:32009R1069:CS:NOT.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) Č. 629/2008 ze dne 2. července 2008, kterým se mění Nařízení (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Databáze online [cit. 2014-03-21]. Dostupné na: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008: 173:0006:0009:CS:PDF

NAŘÍZENÍ (EU) KOMISE č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, kterým se provádí Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a provádí Směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice[cit. 2013-06-21]. Dostupné na: http://eur-lex.europa.eu/ LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:054:FULL:CS:PDF

NEWMAN, M.C., JAGOE, C.H., 1994: Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. In: Hamelink, J.L., Landrum, P.F., Bergman, H.L., Benson, W.H. (Eds.), Bioavailability: Physical, Chemical, and Biological Interactions. CRC Press, pp. 39–62.

NEWTON L., SHEPPARD C., WATSON DW., BURTLE G., DOVE, R., 2005: Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. *Waste Management Programs.* North Carolina State University. Dostupné na: http://www.cals.ncsu.edu/waste_mgt/smithfield_projects/phase2report05/cd,web%20files/A2.pdf

NOVOTNÁ, M., 2012: Modely přestupu těžkých kovů do rostlin. Databáze online [cit. 2014-03-17]. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Klára Komprdová. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/270122/prif_m/>.

ODPAD JE ENERGIE. Databáze online [cit. 2014-03-12]. Dostupné na: www.odpadjeenergie.cz

PÉREZ-LOSADA, M., EIROA J., MATO S., DOMÍNGUEZ J, 2005: Phylogenetic species delimitation of the eartworms Eisenia fetida (Savingy, 1826) and Eisenia andrei Bouché, 1972 (Oligochaeta, Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Pedobiologia 49. pp 317-324. Databáze online [cit. 2014-03-21]. Dostupné na: http://webs.uvigo.es/jdguez/wp-content/uploads/2011/10/phylogenetic-species-delimitation-of-Eisenia.pdf

PEŠTOVÁ, J., 2007: Bioakumulace polutantů bezobratlými v půdě ve vztahu k jejich biodostupnosti. Databáze online [cit. 2014-04-25]. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Jakub Hofman. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/78147/prif_m/>.

PLÍVA, P., 2005: *Technika pro kompostování v pásových hromadách*. Praha: Výzkumný ústav zemědělské techniky, 72 s. ISBN 80-86884-02-3.

PLÍVA, P., JELÍNEK, A., HEJÁTKOVÁ, K., 2002: Obecná podoba podnikové normy pro faremní kompost vyrobený kontrolovaným mikrobiálním procesem. Databáze online [cit. 2014-03-25]. Dostupné na: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/obecna-podoba-podnikove-normy-pro-faremni-kompost-vyrobeny-kontrolovanym-mikrobialnim-procesem>. ISSN: 1801-2655

POKORNÁ A., HAVRÁNKOVÁ V., SPÁČIL R., 2007: Současná připravovaná legislativa v oblasti biologicky rozložitelných odpadů, stav plnění Plánu odpadového hospodářství ČR a realizačních programů pro bioodpady,s. 6–8. In: *Sborník z III. Mezinárodní konference biologicky rozložitelné odpady: jejich zpracování a využití v zemědělské a komunální praxi konané 9.–11. října 2007*. ZERA, Náměšť nad Oslavou, 121 s. ISBN 80-903548-3-1.

POKROČILÉ METODY STUDIA SPECIACE POLUTANTŮ. Databáze online [cit. 2014-03-19]. Dostupné na: http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/pokrocile_metody_speciace_polutantu.pdf

PROCHÁZKA, O., 2013: Předcházení vzniku a opětovné použití odpadů. *Odpadové fórum.* Waste management forum č. 9, s. 10.

PŠENIČKA, P., 2009: Jsou kalifornské žížaly rizikové řešení? Jak moc je kalifornský druh invazní? Databáze online [cit. 2013-05-29]. Dostupné na: http://www.kompostuj.cz/index.php?id=162&backPID=162&tx_faq_faq=63

RAPPAPORT, F., N. KONFORTI, B. NAVON, 1956: A new enrichment medium for certain *Salmonellae. Journal Clinical Pathology*. 9: 261-266.

REDWORMS, 2014. Databáze online [cit. 20140-04-2]. Dostupné na: http://www.redworms.com/

ROQUES A. (ed) 2010: *Alien terrestrial arthropods of Europe.* 4. Pensoft, 2010. 558 s. Databáze online [cit. 2011-02-31].Dostupné na:http://pensoftonline.net/biorisk/index.php/journal.

SEALEY, W.M., GAYLORD, T.G., BARROWS, F.T., TOMBERLIN, J.K., MCGUIRE, M.A., ROSS, C. and ST-HILAIRE, S., 2011. Sensory Analysis of Rainbow Trout, Oncorhynchus mykiss, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, Hermetia illucens. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(1), pp. 34-45.

SHEPPARD D. C., TOMBERLIN J. K., JOYCE J. A., KISER B. C., SUMNER S. M., 2002: Rearing methods for the Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Medical Entomology*, 95(4): 695-698.

SLEJŠKA, A., 1999: Vermikompostování. Regena, č. 5, s. 19. ISSN 1212-2289.

SMĚRNICE RADY 1999/31/ES O SKLÁDKÁCH ODPADŮ. Databáze online [cit. 2013-06-21]. Dostupné na: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:15:04:31999L0031:CS:PDF.

SMĚRNICE EP A RADY Č. 98/2008 O ODPADECH. Databáze online [cit. 2013-06-21]. Dostupné na: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:312:0003:0030:CS:PDF.

ST-HILAIRE, S., CRANFILLl, K., MCGUIRE, M. A., MOSLEY, E. E., TOMBERLIN, J. K., NEWTON, L., SEALEY, W., SHEPPARD, C., IRVING, S., 2007: Fish offal recycling by the Black soldier fly produces a foodstuff high in omega-3 fatty acids. J. *World Aquacult. Soc*., 38 (2): 309-313.

STOEPPLER, M., 1992: *Hazardous Metals in the Environment*. Elsevier, pp. 198.

STRNADOVÁ, L., 2013: Produkce druhotných surovin v roce 2011. *Odpadové fórum*. Waste management forum č. 7-8, s. 20-21.

SVOBODOVÁ, M., 2013: Vliv vlastností reálných půd České republiky na přestup perzistentních organických polutantů do žížal [online]. 2013 [cit. 2014-01-13]. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Jakub Hofman. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/322690/prif_m/>.

THARMARAJ, K. *et al.*, 2011: Vermicompost – A Soil Conditioner cum Nutrient Supplier. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, č. 2, s. 1615-1620. ISSN 0976-3333.

TERRAMUSCA. BIOREPS. Databáze online [cit. 2014-03-03]. Dostupné na: http://www.terramusca.de/cz/bioreps//.

TESAŘOVÁ, M., 2010: *Biologické zpracování odpadů*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 129 s. ISBN 978-80-7375-420-4.

TOMBERLIN J. K., ADLER P. H., MYERS H. M., 2009: Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) in Relation to Temperature. *Environmental Entomology*, 38(3): 930-934.

TOMBERLIN J. K., SHEPPARD D. C., JOYCE J. A., 2002: Select Life-History Traits of Black Soldier Flies (Diptera: Stratiomyidae) Reared on three Artificial Diets. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(3): 379-386.

ULBRICHOVÁ, I.: Skripta ekologie lesa. Databáze online [cit. 2014-03-13]. Dostupné na: http://fle.czu.cz/~ulbrichova/Skripta_HIO/kapitoly/Skodliviny/Tezkovyuvod.htm

VÁŇA, J., 1995: Obsahy těžkých kovů v půdě a rostlinách po dlouhodobém hnojení průmyslovými komposty. In: *Sborník z česko-bavorského semináře "Těžké kovy v zemědělské půsě a rostlinách" konanného dne 18.10.1995 ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Praze - Ruzyni*. Databáze online [cit. 2014-03-03]. Dostupné na: http://stary.biom.cz/sborniky/sb95vana/vana.html

VAN HUIS, A. ; VAN ITTERBEECK, J. ; KLUNDER, H. ; MERTENS, E. ; HALLORAN, A.; MUIR, G. ; VANTOMME, P., 2013: Edible insects - Future prospects for food and feed security. *FAO Forestry Paper* 171

VASSILIADIS, P., D. TRICHOPOULOS, A. KALANDIDI, E. XIROUCHAKI, 1978: Isolation of *Salmonellae* from sewage with a new procedure of enrichment. *Journal Applied Bacteriology*. 44:233-239.

VERMICOMPOSTERS. Databáze online [cit. 2014-03-12]. Dostupné nahttp://vermicomposters.ning.com/

VERMIKOMPOSTOVÁNÍ, 2014. Databáze online [cit. 2014-03-12]. Dostupné na: http://www.vermikompostovani.cz/

VELDKAMP, T., VAN DUINKERKEN, G., VAN HUIS, A., LAKEMOND, C. M. M. ; OTTEVANGER, E., BOSCH, G., VAN BOEKELl, M. A. J. S., 2012: Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets - a feasibility study. Rapport 638 - Wageningen Livestock Research. ISSN 1570-8616.

VYHLÁŠKA Č. 305/2004 SB., KTEROU SE STANOVÍ DRUHY KONTAMINUJÍCÍCH A TOXIKOLOGICKY VÝZNAMNÝCH LÁTEK A JEJICH PŘÍPUSTNÉ MNOŽSTVÍ V POTRAVINÁCH. Databáze online [cit. 2014-04-03]. Dostupné na: http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006047&docType=ART&nid=11816

VYHLÁŠKA 341/2008 SB. O PODROBNOSTECH NAKLÁDÁNÍ S BIOLOGICKY ROZLOŽITELNÝMI ODPADY. Databáze online [cit. 2014-03-03]. Dostupné na: http://www.inisoft.cz/public/upload/attachments/k-strankam/podp_dokument/Novinky/341_2008.pdf

VYHLÁŠKA MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ Č. 474/2000 Sb. O STANOVENÍ POŽADAVKŮ NA HNOJIVA, 2014. Databáze online [cit. 2014-04-03]. Dostupné na: http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-474#prilohy

VYHLÁŠKA MINISTERSTVA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ Č. 13/1994 Sb., KTEROU SE UPRAVUJÍ NĚKTERÉ PODROBNOSTI OCHRANY ZEMĚDĚLSKÉHO PŮDNÍHO FONDU. Databáze online [cit. 2014-03-03]. Dostupné na: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/100313828.html

WONTAE, K., SUNGWOO, B., KWANHO, P., SANGBEOM, L., YOUNGCHEOL, C., SANGMI, HA., YOUNGHO, K., 2011: Biochemical characterization of digestive enzymes in the Black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 14(1):11

WORMERY. Databáze online [cit. 2013-06-12]. Dostupné na: http://www.wormery.co.uk/

YU, G., CHENG, P., CHEN, Y., LI, Y., YANG, Z., CHEN, Y. and TOMBERLIN, J.K., 2011. Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Environmental Entomology*, 40(1), pp. 30-35.

ZAJONC, I., 1992:*Chov žížal a výroba vermikompostu*. 1.vyd. Povoda: Animapress, 59 s. ISBN 80-85567-07-S.

ZÁKON O ODPADECH 185/2001 SB. ve znění pozdějších předpisů (novela 169/2013 Sb.). Databáze online [cit. 2014-03-12]. Dostupné na: http://www.enviweb.cz/clanek/ekologove/96243/zakon-kterym-se-meni-zakon-c-185-2001-sb-o-odpadech.

ZHENG, L., HOU, Y., LI, W., YANG, S., LI, Q. and YU, Z., 2012. Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing Black soldier fly assisted by microbes. *Energy*, 47(1), pp. 225-229.

ZORPAS, A. A., VASSILIS, I., LOIZIDOU, M, 2008: Heavy metals fractionation before, during and after composting of sewage sludge with natural zeolite. *Waste Manage.*, vol. 28, pp. 2054–2060.

ZIMOVÁ M., 2009. Aktuální trendy a možná zdravotní a ekologická rizika při nakládání s biologicky rozložitelnými odpady, s. 2–6. In: *EIA – IPPC – SEA*, č. 1. Databáze online.[cit. 2014-03-23]. Dostupné na: http://www.mzp.cz/osv/edice.nsf/FD14294662714D5DC1257544005703AC/$file/60375976.pdf.

ŽÍŽALOV. Databáze online [cit. 2013-06-12]. Dostupné na: http://www.zizalov.cz/

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Žížaly hnojní (Zdroj: www.hnojnizizaly.cz, 2014)..... 15

Obr. 2 Kalifornské žížaly (Zdroj: http://www.ireceptar.cz/zahrada/okrasna-zahrada/chov-kalifornskych-zizal-doma-i-na-zahrade/, 2014)..... 16

Obr. 3 *Dendrobaena veneta* (Zdroj: Zizalov, 2014) 17

Obr. 4 Dospělý jedinec *Hermetia illucens* (foto: V. Hula, 2012) 18

Obr. 5 Detail části hlavy dospělce bráněnky *Hermetia illucens*. (foto: V. Hula, 2012)..... 19

Obr. 6,7, 8 Pářící se dospělci *Hermetia illucens* (foto: Kalová, 2012) 20

Obr. 9 Larva HI a detail: ústní ústrojí drásací sací (Zdroj: Flycontrol, 2014)..... 20

Obr. 10, 11 Zpracování organického odpadu - farma Tinroofranch, zaměřená na produkci "organického jídla", především vajec. Haleiwa, 2012 (foto: Kalová, 2012)..... 26

Obr. 12 Hierarchie nakládání s odpady (Zdroj: www.odpadjeenergie.cz, 2013)..... 33

Obr. 13 Změna hmotnosti opadu a změna hmotnosti odpadu činností bezobratlých..... 71

10 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Srovnání vybraných biologických charakteristik u vybraných druhů žížal vhodných pro vermikompostování (Domínguez a Edwards, 2010a) 13

Tab. 2 Optimální podmínky pro chov druhů žížal *Eisenia fetida* a *Eisenia andrei* v organickém odpadu (Dominguéuz aEdwards, 2010a) 14

Tab. 3 Seznam vybraných typů BRO zařazený dle Katalogu odpadů 55

Tab. 4 Rozdělení odpadů dle konečné úrovně vývojového cyklu HI po 35 dnech 68

Tab. 5 Snížení hmotnosti vybraných druhů odpadních materiálů po 35 dnech; intenzita konzumace a fáze životního cyklu po 35 dnech pozorování. 69

Tab. 6 Srovnání rozkladné aktivity HI a kalifornských žížal 70

Tab. 7 Srovnání redukce BRO odpadu v laboratorních a provozních podmínkách 72

Tab. 8 Celkové počty stanovených mikroorganizmů vyjádřené v KTJ/g vzorku 72

Tab. 9 Koncentrace vybraných těžkých kovů ve vstupním BRO před zahájením experimentu [mg/kg] 73

Tab. 10 Koncentrace vybraných těžkých kovů v substrátu po redukci BRO larvami HI 74

Tab. 11 Koncentrace vybraných těžkých kovů v larvách HI před a po redukci BRO 75

Tab. 12 BAF larev HI živených na jednotlivých typech odpadů 76

Tab. 13 Srovnání koncentrace těžkých kovů ve zbylém substrátu po redukci HI a limitů pro půdu dle Vyhlášky MŽP č. 13/1993 Sb. a limitních hodnot rizikových prvků v organických hnojivech a substrátech dle Vyhlášky č. 474/2000 Sb. o stanovení požadavků na hnojiva 82

Tab. 14 Koncentrace vybraných těžkých kovů v larvách HI před a po redukování odpadů 85

11 SEZNAM ZKRATEK

As – arsen

BPS – bioplynová stanice

BRKO – biologicky rozložitelný komunální odpad

BRO – biologicky rozložitelný odpad

BSF – Black soldier fly (výraz pro *Hermetia illucens*)

C. botulinum – Clostridium botulinum

Cca – přibližně

Cd – kadmium

Co – kobalt

Cr – chrom

Cu – měď

ČOV – čistírna odpadních vod

ČR – Česká republika

DDT – 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorfenyl)-ethan

dešť. – dešťových

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EIA – Environmental Impact Assessment (vyhodnocení vlivů na životní prostředí)

EU – Evropská unie

HI – *Hermetia illucens*

IARC – International Agency for Research on Cancer (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny)

IPPC – Integrated Pollution Prevention and Control (Integrovaná prevence a omezování znečištění)

KO – komunální odpad

KTJ – kolonie tvořící jednotku

Mg – megagram (neboli také tuna)

Mo – molybden

např. – například

Ni – nikl

o. – odpad

OH – odpadové hospodářství

PAHs – polykondenzované aromatické uhlovodíky

Pb – olovo

PCBs – polychlorované bifenyly

POH – Plán odpadového hospodářství

r. – rok

s. – strana

Sb – antimon

SEA – Strategic Environmental Assessment (Posuzování vlivů koncepce na životní prostředí)

tj. – to je

tzv. – takzvané

US EPA – US Environmental Protection Agency (Agentura ochrany životního prostředí Spojených států amerických)

USA – Spojené státy americké

V – vanad

Zn – zinek