

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Vliv vermikompostování na výskyt enterokoků a bakterií
rodu *Salmonella* spp.**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Sandra Ifková

Vedoucí práce: Ing. Aleš Hanč, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Ladislava Matějů

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv vermikompostování na výskyt enterokoků a bakterií rodu *Salmonella* spp." jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. 4. 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Aleši Hančovi Ph.D. za možnost psát tuto zajímavou práci, Ing. Ladislavě Matějů za ochotu, trpělivost, vstřícnost a kvalitní vedení při psaní diplomové práce a vyhledávání potřebných materiálů. Zároveň patří velké díky i kolektivu laboratoře, který mi vždy v případě potřeby pomohl v řešení různých problémů spojených s laboratorním pokusem.

Také bych ráda poděkovala České zemědělské univerzitě v Praze a Státnímu zdravotnímu ústavu za poskytnutí potřebných pomůcek pro realizaci výzkumu.

Velké díky patří také celé mé rodině za trpělivost, ochotu a veškeré prostředky, které mi poskytla ke studiu na této škole.

Vliv vermikompostování na výskyt enterokoků a bakterií rodu *Salmonella* spp.

Souhrn

Diplomová práce je zaměřena zejména na vliv vermikompostovacího procesu, který by měl eliminovat výskyt bakterií rodu *Enterococcus* a bakterií rodu *Salmonella* spp. ve výsledném produktu. Jelikož se jedná o významné lidské, ale i zvířecí patogeny byl pro potvrzení nebo vyvrácení této hypotézy založen pokus.

Celý pokus trval 10 týdnů. V prvních 14 dnech (od 9. 11. 2015) pokusu byly na výzkumné stanici FAPPZ v Červeném Újezdu odebrány materiály (matolína a jablečné výlisky) z již založených vermikompostů. Z materiálů byly vybrány žížaly a následně byly i s materiálem odvezeny na SZÚ v Praze, kde proběhla příprava a analýza vzorků.

Vzorky pro analýzu byly založeny tak, že do každé ze 48 perforovaných nádob bylo umístěno 50 g zhomogenizovaného materiálu. Materiál byl pro laboratorní pokus připraven z vermikompostu (75 %) a čerstvých surovin (25 %), aby bylo zajištěno dostatečné množství potravy pro žížaly po dobu pokusu. U takto připraveného materiálu byly stanoveny celkové počty mikroorganismů (CPM). *Salmonela* v počátečních substrátech dosahovala hodnot < 1 KTJ/g. Enterokoky u matoliny s žížalami $1,1 \cdot 10^3$ KTJ/g, u matoliny bez žížal < 750 KTJ/g a u jablečných výlisků byla hodnota vždy < 750 KTJ/g. Do poloviny nádob byly umístěny žížaly (2,5 g). Pro každý materiál bylo vždy vybráno 6 nádob, kde dvě sloužily jako kontrola, dvě byly inokulovány enterokoky a dvě salmonelou. Vždy jedna ze dvou baněk byla osazena žížalami. Po naplnění následovala inokulace sledovanými mikroorganismy. Inokulované varianty s enterokoky byly inokulovány $2,0 \cdot 10^7$ KTJ/g a varianty se salmonelou $1,1 \cdot 10^8$ KTJ/g. Po inokulaci byly nádoby umístěny do nádoby s pískem.

Vybrané vzorky byly postupně v průběhu 8 týdnů po 14 dnech odebírány k analýze. Celkem proběhly 4 analýzy: 1. analýza 23. 11. 2015; 2. analýza 7. 12. 2015; 3. analýza 21. 12. 2015 a 4. analýza 4. 1. 2016. Před samotným mikrobiologickým rozbořem byly vždy z nádob vyndány žížaly, které byly zváženy, a byla stanovena jejich vitalita.

Vliv žížal na redukci patogenů na základě provedených pokusů nelze jednoznačně prokázat. Nelze jednoznačně určit míru vlivu žížal a samotného kompostovacího procesu. U bakterií rodu *Salmonella* spp. byla redukce patogenů nejvýraznější. Totální úbytek byl pozorován již v druhém týdnu analýzy a to u obou zmíněných substrátů. U bakterií rodu

Enterococcus byl postup redukce u obou substrátů výrazně pomalejší. Tuto skutečnost lze vysvětlit mnoha způsoby, např. větší odolností enterokoků k teplotám, pH, ale i k chemickým látkám a přípravkům. K úplné redukci v tomto případě došlo až poslední týden pokusu.

Klíčová slova: bioodpad, vermikompostování, enterokoky, *Salmonella* spp.

Effect of vermicomposting on occurrence of enterococci and *Salmonella* spp.

Summary

Diploma work focuses mainly on the influence of vermicomposting process, which should reduce the incidence of bacteria of family *Enterococcus* and bacteria of family of *Salmonella* spp. in the product. As these are among the famous and important human and animal pathogens there was an experiment done to prove this statement.

The experiment took 10 weeks. During the first 14 days (from 9th November 2015) there were samples (pomace of grape vine and apple pomace) taken in the research institute FAPPZ in Červený Újezd. The earthworms were taken from the materials and then taken to SZÚ in Prague with the material, where there was the preparation and analyses of the sample done.

The procedure of sample work was as following. 50g of homogenised material was placed into 48 perforated dishes. The material for the lab experiment was prepared from vermicompost (75%) and from the raw material (25%) so that there was enough nourishment for the earthworms for the duration of the trial. There were certain numbers of microorganisms stated (CPM) in this material. *Salmonella* reached the values of < 1 CFU/g as the initial substrate. Enterococci in the pomace from the grape vine with earthworms reached the values of 1,1.10 CFU/g, at pomace from the grape vine without earthworms < 750 CFU/g and at apple pomace the value was always < 750 CFU/g. The earthworms were placed up to the half of the glass (2,5g) 6 dishes were chosen from each material, 2 of them served as a check, 2 were inoculated enterococci and 2 with salmonella. There was always one out of 2 dishes placed with earthworms. After the filling there was inoculated of the examined microorganisms. Inoculated variants with enterococci were inoculated of 2.0.107 CFU/g and variants of salmonella by 1.1.108 CFU/g. After inoculated there was sand placed to the dish.

During 8 weeks in frequency of 14 days the chosen samples were taken for analyses. The first analyses was done 23rd November 2015, the 2nd analyses was done 7th December, 3rd analyses was done 21st December 2015 and the 4th analyses was done 4th January 2016. Before the analyses was done the earthworms were taken out of the dish, they were weighted then their vitality was stated.

It was proved there there isn't any influence of earthworms on the reduction of pathogens according to the experiments. It is impossible to state that there is the influence of earthworms on the process of making compost. The reduction of pathogens was the highest at the family of *Salmonella* spp. There was obvious reduction at the second week of analyses and in both materials. Bacteria of the family *Enterococcus* showed slower process of reduction because of higher resistance to temperatures, pH, chemical substances and preparations. The absolute reduction was obvious the during the last week of the experiment.

Keywords: biowaste, vermicomposting, enterococci, *Salmonella* spp.

Obsah

1	Úvod	10
2	Cíl práce.....	11
3	Literární rešerše	12
3.1	Předpisy pro proces kompostování a nakládání s bioodpady.....	12
3.2	Kompostování	13
3.2.1	Faktory nezbytné pro kompostování.....	15
3.2.1.1	Vlhkost	15
3.2.1.2	Vzduch.....	16
3.2.1.3	Hodnota pH	16
3.2.1.4	Složení výchozího materiálu	17
3.2.1.5	Teplota a fáze procesu kompostování	17
3.3	Vermikompostování.....	20
3.3.1	Materiály vhodné k vermikompostování	21
3.3.1.1	Chlévská mrva a hnůj	22
3.3.1.2	Výlisky ovoce a révy vinné	23
3.3.1.3	Kuchyňský odpad	24
3.3.2	Technologie vermikompostování	25
3.3.2.1	Malé vermikompostéry.....	25
3.3.2.2	Jednoduché technologické systémy vermikompostování.....	26
3.3.2.3	Složitější technologické systémy vermikompostování.....	27
3.4	Žížaly.....	29
3.4.1	Životní cyklus žížal.....	30
3.4.1.1	Rozmnožování a vývoj	30
3.4.1.2	Faktory ovlivňující vývoj žížal.....	31
3.4.1.2.1	Potravní zdroje.....	31
3.4.1.2.2	Půdní vlhkost	32
3.4.1.2.3	Teplota.....	32
3.4.1.2.4	Půdní reakce	32
3.4.1.2.5	Textura půdy.....	33
3.4.1.2.6	Amoniak	33
3.4.2	Žížaly a vermikompostování	33
3.4.2.1	Charakteristika vybraných druhů žížal.....	35

3.5	Mikroorganismy	37
3.5.1	Mikroorganismy v kompostech	37
3.5.2	Enterokoky	38
3.5.3	Salmonella spp.	39
3.5.4	Přežívání enterokoků v kompostech	41
3.5.5	Přežívání salmonel v kompostech	43
4	Materiál a metody	44
4.1	Postup práce	44
4.1.1	Vermikompostování	44
4.1.2	Uspořádání laboratorních pokusů	45
4.1.3	Provedení laboratorních pokusů	46
4.2	Stanovení indikátorových organismů	46
4.2.1	Příprava vzorků	46
4.2.2	Stanovení enterokoků	47
4.2.3	Stanovení salmonely	47
5	Výsledky	48
5.1	Sledování přežívání enterokoků během vermikompostování	48
5.2	Sledování přežívání salmonel během vermikompostování	55
6	Diskuse	62
7	Závěr	67
8	Seznam použitých zkratk a symbolů	69
9	Použitá literatura	70
10	Přílohy	80

1 Úvod

Tato práce se zabývá životními pochody a významem žížal, využitím žížal ve vermikompostu, ale také tím zda se pomocí žížal druhu *Eisenia* dají eliminovat enterokoky a bakterie rodu *Salmonella* spp.

Půdu každý z nás jistě dobře zná, všichni po ní každý den chodíme nebo ji aktivně využíváme, ale málokdo se pozastaví nad myšlenkou, že ji všichni velice potřebujeme. Půda je domovem mnoha rostlin, které více či méně potřebujeme k životu, vody, ale i spousty organismů, mezi něž patří i žížaly. Jedná se o bezobratlé kroužkovce podílející se na řadě významných půdních procesů, kteří jsou schopni do našich půd vložit velkou část minerálních, ale i organických látek, které jsou velice důležité pro další mikrobiální činnost a růst rostlin. Tito všestranní živočichové mohou být nápomocni i lidem. Zejména v odstranění biologicky rozložitelného odpadu, který máme povinnost od 1. ledna 2015 třídit. Povinnost je dána zákonem o odpadech a o změně některých dalších zákonů č. 185/2001 Sb. Pomoc spočívá v přeměně biologicky rozložitelného odpadu pomocí žížal na úrodný humus, který lze dále využívat a navracet tak stabilizované cenné organické látky a rostlinné živiny zpět do přírodního koloběhu. Tento proces nazýváme vermikompostování.

Jednou z metod, kterou lze regulovat počty patogenů, se ukazuje již zmíněné vermikompostování. Ovšem tato fakta nejsou v praxi dostatečně potvrzena. Vzhledem k tomu, že vermikompost je zdrojem mnoha užitečných minerálních a organických látek, lze ho aplikovat na půdu. S touto činností se mohou do životního prostředí rozšířit patogeny, které představují riziko pro člověka. Proto je cílem této diplomové práce zjistit podrobnosti o přežívání patogenů v průběhu vermikompostování.

2 Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo zjistit, zda má vermikompostovací proces schopnost redukovat počty enterokoků a bakterií rodu *Salmonella* spp. i přes to, že je zde hygienizace bioodpadu vysokou teplotou vyloučena z důvodu nebezpečí úhynu žížal. Pro vermikompostování bylo využito surovin odlišného složení. Mezi suroviny používané k analýze patří matolína a jablečné výlisky.

3 Literární rešerše

3.1 Předpisy pro proces kompostování a nakládání s bioodpady

Výroba kompostů je v ČR regulována pomocí tří základních zákonných norem, na které navazují prováděcí vyhlášky:

1. Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech (připravuje se novela)
2. Zákon č. 263/2014 Sb., kterým se mění zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech
3. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu
 - Pokud se v zakládce kompostu vyskytují kuchyňské odpady a nebo VŽP (živočišné produkty) tak se kvalitativní parametry řídí tímto nařízením a příslušné mikrobiologické parametry se řídí předpisem rady EU č. 142/2011 Sb.

Na ně navazují následující prováděcí vyhlášky:

- **Zákon č. 185/2001 Sb., O odpadech**

- vyhláška MŽP č. 381/2001 Sb., kterou se stanoví Katalog odpadů
- vyhláška MŽP č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě
- vyhláška MŽP č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady

- **Zákon č. 263/2014 Sb., kterým se mění zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech**

Uvádění kompostů do oběhu prodejem a užívání kompostů na zemědělské půdě je upraveno tímto zákonem, který dle § 1, odst. 1 stanovuje podmínky pro uvádění do oběhu a pro používání hnojiv, statkových hnojiv, pomocných půdních látek, pomocných rostlinných přípravků a substrátů. Dále tento zákon řeší registraci výstupů (hnojiv) ze zařízení na zpracování bioodpadů. O registraci hnojiva rozhoduje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský na základě žádosti výrobce, dovozce nebo dodavatele hnojiva.

- Vyhláška č. 341/2008 Sb. O podrobnostech nakládání s BRO a 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 BRO).
- Vyhláška č. 131/2014 Sb., kterou se mění vyhláška MZ č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů, a vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv.

- uvádí rizikové prvky a jejich limitní hodnoty v hnojivech a substrátech a stanoví typy hnojiv

- Vyhláška č. 377/2013 Sb. o skladování a způsobu používání hnojiv
- Vyhláška č. 400/2004 Sb., kterou se mění vyhláška MZ č. 275/1998 Sb., o agrochemickém zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků, ve znění vyhlášky č. 477/2000 Sb.
- Nařízení vlády č. 117/2014 Sb., kterým se mění nařízení vlády č. 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním plánu, ve znění pozdějších předpisů.

Způsob zpracování biologicky rozložitelných odpadů a výroba kompostů v kompostárně se řídí normou ČSN EN 46 5735 o průmyslových kompostech. Tato norma je doporučena pro výrobu, zkoušení, dodávku a užívání průmyslově vyráběných kompostů používaných jako organické hnojivo. Průmyslovým kompostem se dle této normy rozumí „organické hnojivo vyráběné mícháním, biologickým zráním různých látek obsahující rozložitelné organické látky a rostlinné živiny“. Navíc také tato norma stanovuje nejvyšší přípustné množství látek kompostovatelného odpadu včetně těžkých kovů a patogenních mikroorganismů (ČSN ISO 10381).

3.2 Kompostování

Kompostování je biochemickým procesem, při kterém za aerobních podmínek dochází k rozkladu organických látek a k jejich následné přeměně na látky humusové. Při těchto rozkladných procesech je konečným akceptorem elektronů kyslík (Plíva a kol., 2006).

Pro kompostovací proces se využívá organických odpadů (Kalina, 2004), které se postupem času rozloží a rozpadnou (Flowerdew, 2010). Samotné kompostování urychluje

proces rozkladu, takže se odpadový materiál přemění v tmavou, křehkou, hrubozrnnou, lesní půdě podobnou hmotu, která by měla vonět a mít strukturu zemitého materiálu (Flowerdew, 2010). Cílem kompostování je produkce hygienicky nezávadného a zemědělsky užitečného produktu (Tiquia and Tam, 1998), zpětné vnesení organické hmoty a rostlinných živin do přírodního koloběhu, usmrcení semen plevelů, usmrcení původců rostlinných chorob a patogenů nebezpečných pro lidi a zvířata. Dále pak produkce přírodního humusu, který se tvoří přeměnou látek a to vše bez nepříjemných pachů (Kalina, 2004).

Základem kompostování je biodegradace organické hmoty účinkem aerobních mikroorganismů, kombinovaná s některými dalšími reakcemi jako je oxidace a hydrolyza. Zastoupení mikroorganismů závisí na složení kompostu, ale i na stupni humifikace kompostovaného materiálu. Obecně však platí, že se na humifikačním procesu zúčastňují hlavně heterotrofní mikroorganismy, tj. mikroorganismy, které pro svůj růst využívají okolní prostředí jako zdroj uhlíku a kyslíku. Mikroorganismy tohoto typu odbourávají organické látky a část z nich oxiduje až na konečné produkty s nízkým obsahem energie, tj. CO₂ a H₂O. Štěpením vazeb získávají mikroorganismy zdroj energie pro svůj metabolismus, a zároveň vzniká zdroj biogenních látek pro růst a vývoj. Biodegradaci podléhají nejprve jednoduché organické látky jako sacharidy, organické kyseliny a bílkoviny. Degradace polysacharidů je pomalejší a začíná nejprve depolymerací. Poměrně stabilní složkou je lignin, který tvoří podstatnou část rostlinných materiálů, a to 15 - 30 %.

Účelem kompostování není úplná biodegradace všech složek. Při kompostování by biodegradace měla proběhnout jen v takovém rozsahu, aby se materiál biologicky stabilizoval (Junga a kol., 2015). Biologicky stabilizovaný materiál již nepodléhá další degradaci, a však nezaniká riziko z šíření patogenních organismů do půdy a podzemních a povrchových vod při aplikaci na půdu.

Bakterie jsou organismy, které jako první začnou rozkládat rostlinné tkáně. Později se k rozkladu připojí plísňe a kvasinky. Dále pak vyšší organismy jako jsou např. stonožky, brouci a žížaly, kteří materiál rozmělní, což je výhodné pro mikroorganismy (Maynard, 2000).

Organické látky, které vstupují do procesu kompostování, jsou následně postupně rozkládány až mineralizovány.

Obecná rovnice:



Výsledkem výše uvedených reakcí je vznik stabilního produktu – kompostu. Dále pak snížení objemu a hmotnosti, snížení obsahu vody a nežádoucích druhů mikroorganismů (Plíva a kol., 2006).

Výhody kompostování

- tvorba cenných humusových látek, které mají za následek oživení půdy a množství a druhovou pestrost bakterií, plísni a hub
- eliminace mnoha toxických látek
- redukce většiny původců chorob rostlin, zvířat i lidí
- eliminace výskytu životaschopných semen plevelů
- rozklad těžko rozpustných látek na přístupné základní živiny i stopové
- tvorba přírodních antibiotik (z části přijímány rostlinou → odolnost proti škůdcům)
- obsah téměř 100 % organicky vázaného dusíku
- příznivé působení na životní prostředí, a to proto, že živiny, zejména dusičnany, se nevyplavují do podzemní vody.

Nevýhody kompostování

- vysoká pracnost procesu
- únik plynného čpavku, CO₂ do ovzduší a ztráta některých živin (Kalina, 2004).

Tato práce se zabývá vermikompostováním, a proto je nezbytné uvést, že informace a parametry (až na pár výjimek, např.: teplota) uváděné pro kompostování jsou důležité i pro vermikompostování.

Kompostování vstupních substrátů se využívá jako předstupeň před samotným vermikompostováním. Značně se tak zlepšuje kvalita konečného produktu v několika směrech. Předřazená krátká termofilní fáze, je nezbytnou součástí procesu vermikompostování. Během kompostování dochází k redukci patogenních organismů v konečném produktu (Abbasi et al., 2009). Termofilní fáze pak u samotného vermikompostu nenastává. Samotné vermikompostování je podrobně popsáno v kapitole 3.2.

3.2.1 Faktory nezbytné pro kompostování

3.2.1.1 Vlhkost

Vlhkost je důležitý faktor ovlivňující činnost mikroorganismů (Kalina, 2004). Mikroorganismy obsažené v kompostu potřebují pro svůj život vodu, proto vlhkost patří mezi parametry, které z velké části ovlivňují zdárný průběh kompostovacího procesu (Jelínek a

Kollárová, 2004). Pokud je v kompostu nedostatek vody, mikroorganismy zastavují svoji činnost, ovšem pokud je kompost přemokřen, dochází k nežádoucím anaerobním procesům v důsledku nedostatku vzduchu (Kalina, 2004). Vlhkost čerstvého kompostu optimalizujeme na hodnotu, při níž je přibližně 70% objemu pórovitosti kompostu zaplněno vodou. Komposty zemité struktury vyžadují optimální vlhkost 50 - 55% a komposty s převahou dřevní štěpky nebo stromové kůry vlhkost 65-70% (Váňa, 2002). Pro zakládání kompostu je vhodnější volit nižší vlhkost vstupních surovin, kterou v případě potřeby upravíme závlahovou vodou. Vysoká vlhkost kompostu se upravuje obtížněji (Jelínek a Kollárová, 2004)

3.2.1.2 Vzduch

Důležitým ukazatelem správného průběhu kompostovacího procesu je obsah kyslíku v pórech kompostu. Při nedostatku kyslíku klesá mikrobiální aktivita, některé mikroorganismy vymírají, jiné přecházejí do anabiózy, nebo u nich nastupuje anaerobní metabolismus. Dochází ke zpomalení, v některých případech až k zastavení kompostovacího procesu, k tvorbě nežádoucích látek a uvolňování amoniaku a metanu (Jelínek a Kollárová, 2004).

Dle některých výpočtů je kyslík, který je obsažen v 1 m³ (v případě ideálních podmínek, kdy je zkrácena počáteční lag fáze a okamžitě nastupuje exponenciální fáze kompostování), spotřebován během dvou hodin. To znamená, že materiál musí být tak kyprý, aby mohl vzduch neustále cirkulovat a to až do středu kompostu (Kalina, 2004).

Kompostovací proces probíhá intenzivně v podmínkách provzdušňování. Provzdušňování se provádí nejčastěji překopáváním kompostu, ale také tlakovou aerací nebo odsáváním vzduchu nasyceného oxidem uhličitým z kompostu zpravidla přes vzdušný filtr. Čím vyšší intenzita provzdušňování, tím rychleji kompost zraje. Při nedostatečném provzdušňování zrajícího kompostu dochází k anaerobním procesům a kompost tzv. "kysne". Největší potřeba provzdušňování zrajícího kompostu je v hydrolyzní fázi zrání (Váňa, 2002).

3.2.1.3 Hodnota pH

Optimální hodnota pH u čerstvého kompostu se pohybuje v rozmezí 6-8. Toto pH je nejprůzračnější pro rozvoj a aktivitu většiny mikroorganismů. U kompostů založených z převážné části z travní biomasy je toto rozmezí udržitelné bez přidavku vápenatých látek (Kara a kol. 2002)

3.2.1.4 Složení výchozího materiálu

Čím pestřejší je složení výchozí směsi, tím kvalitnější je konečný produkt. Proto při složení respektujeme počáteční poměr C:N v rozmezí 20 až 30:1 (Kalina, 2004), minimální přítomnost fosforu, neutrální pH a správnou vlhkost (Vaňa, 2002). Uhlík je oxidován za vzniku energie, zatímco dusík je hlavní složkou aminokyselin (stavební kameny bílkovin) (Maynard, 2000). Vstupní suroviny by měly být rozmělněny a homogenizovány. Správným poměrem uhlíku a dusíku lze dosáhnout optimálních podmínek pro rozvoj mikroorganismů. Poměr C:N by v čerstvém kompostu měl být v rozmezí 30 – 35:1 a ve zralém kompostu 25 – 30:1. Vysoký poměr C:N prodlužuje zrání kompostu, naopak při malém poměru C:N v čerstvém kompostu dochází ke ztrátám čpavkového dusíku a klesá tak produktivita tvorby humusových látek (Vaňa, 2002). Tento jev lze nejčastěji poznat intenzivním zápachem čpavku, což se často vyskytuje v kompostech z drůbežního trusu. Velmi podobné je to i s uhlíkem, který při nadbytku uniká do vzduchu ve formě oxidu uhličitého. Poměr C:N u nejrůznějších výchozích materiálů je uveden v Tab. 1 (Kalina, 2004). Koncentrace organického uhlíku v kompostovaném materiálu je hlavním faktorem ovlivňujícím mikrobiální společenstva. U kuchyňského odpadu je koncentrace vyšší než např. u kalu z ČOV (Ishii and Takii, 2003).

Tab. 1 Poměr C:N v některých surovinách ke kompostování (upraveno dle Kaliny, 2004)

Suroviny	C:N	Suroviny	C:N
Kůra	120 : 1	Drůbeží trus	10 : 1
Piliny	500 : 1	Močůvka	2 : 1
Papír, karton	350 : 1	Kejda skotu	10 : 1
Odpad z kuchyně	15 : 1	Hněj skotu	25 : 1
Odpad ze zahrady	40 : 1	Sláma (žito, oves)	60 : 1
Listí	50 : 1	Sláma (pšenice, ječmen)	100 : 1
Posekaná tráva	20 : 1	Odpad z domácí zabíjačky	16 : 1

3.2.1.5 Teplota a fáze procesu kompostování

Teplota zakládky kompostu je jedním ze základních měřitelných ukazatelů zrání kompostu, s nímž souvisí i intenzita činnosti mikroorganismů.

Sledováním průběhu teplot kompostu je možné určit termín překopávek, a tak řídit průběh kompostovacího procesu. Jestliže po založení kompostu a první homogenizaci teplota nestoupá, nebo po předchozím vzestupu nastává její výrazný pokles, signalizuje to chybu v kompostovacím procesu (Jelínek a Kollárová, 2004).

Teplota je parametr, který lze pomocí sondy velmi snadno kontrolovat. Důležitá pro zahájení rozkladu je počáteční teplota. Optimální je materiál, který vykazuje teplotu 20 až 25 °C. Pokud je proces kompostování zahájen, nehraje vnější teplota téměř žádnou roli. Pokud v zóně intenzivního rozkladu není ještě třetí den dosaženo nejméně 50 °C, je to pravděpodobně způsobeno následujícími příčinami:

- Příliš vysoká vlhkost materiálu. To má za následek nedostatek vzduchu což je příčinou malého vývoje tepla. Situaci lze řešit přimícháním suchého materiálu a překopáním kompostu.

- Příliš vzdušné založení kompostu. Materiál je nadměrně překypřený a většinou také příliš suchý. Kompostování proto nemůže začít. Zde je dobré materiál částečně zhutnit a v případě potřeby zvlhčit.

- Kompostování již z části proběhlo. Tento jev probíhá například u dlouhodobě skladovaných surovin. U takového materiálu byly lehce odbouratelné sloučeniny již rozloženy a materiál se nachází již po fázi rozkladu. Požadovaný proces rozkladu lze opět nastartovat, pokud starý materiál promícháme s čerstvým materiálem. V tomto případě je nejlepší použít například blokově ukládaný hnůj, výlisky, posečenou zelenou hmotu nebo podobný materiál. V případě, že se teplota příliš zvýší (neměla by překročit 65 °C) dochází ke ztrátě dusíku, a může dojít k „samosterilizaci“ a kompost velmi snadno vysychá. Mezi velmi záhřevné materiály patří například chlévská mrva, posečená zelená hmota a částečně i výlisky (Kalina, 2004).

Kterákoliv z uvedených příčin znamená zhoršení podmínek pro mikrobiální aktivitu a tím zpomalení, nebo až zastavení kompostovacího procesu (Jelínek a Kollárová, 2004).

Proces kompostování se dělí do tří fází (Obr. 1):

1. Fáze rozkladu
2. Fáze přeměny
3. Fáze syntézy (zralosti)

ad 1) Fáze rozkladu

Doba trvání této fáze je asi 3 až 4 týdny. V důsledku činnosti milionu bakterií (termofilní b.) plísní a hub, které rozkládají lehce rozložitelné sloučeniny, jako jsou například

cukry, bílkoviny a škrob, dochází ke stoupání teploty na 50 až 70 °C. Konečným produktem jsou zde například dusičnany, oxid uhličitý, čpavek, aminokyseliny, polysacharidy a voda. Živiny, které jsou vázány v organické hmotě, se tak uvolňují a částečně přecházejí až do původní minerální formy. Tento proces se také nazývá „mineralizace“ (Kara a kol., 2002).

Tato fáze se také vyznačuje relativně rychlým poklesem objemu směsi. Nejde přitom pouze o sedání a hutnění materiálu a o odpařování vody. Jedná se přímo o bilanční pokles celkové hmotnosti, vyplývající z produkce oxidu uhličitého a dalších plynných produktů metabolismu činnosti mikroorganismů. Celkový pokles hmotnosti je až 30 % původního množství.

Vzhled směsi se prozatím příliš nemění. Pach směsi je stejný jako na počátku procesu, později můžeme cítit i amoniak i když toho by nemělo příliš mnoho unikát. V této fázi nemá kompost vlastnosti humusu a není schopen aplikace do půdy. V některých případech může dokonce vykazovat známky fytotoxicity. Důležité je, že v této fázi dochází k hygienizaci kompostu. Vysoká teplota způsobuje zneškodnění bakterií a likviduje klíčivost semen plevelů (Junga a kol., 2015).

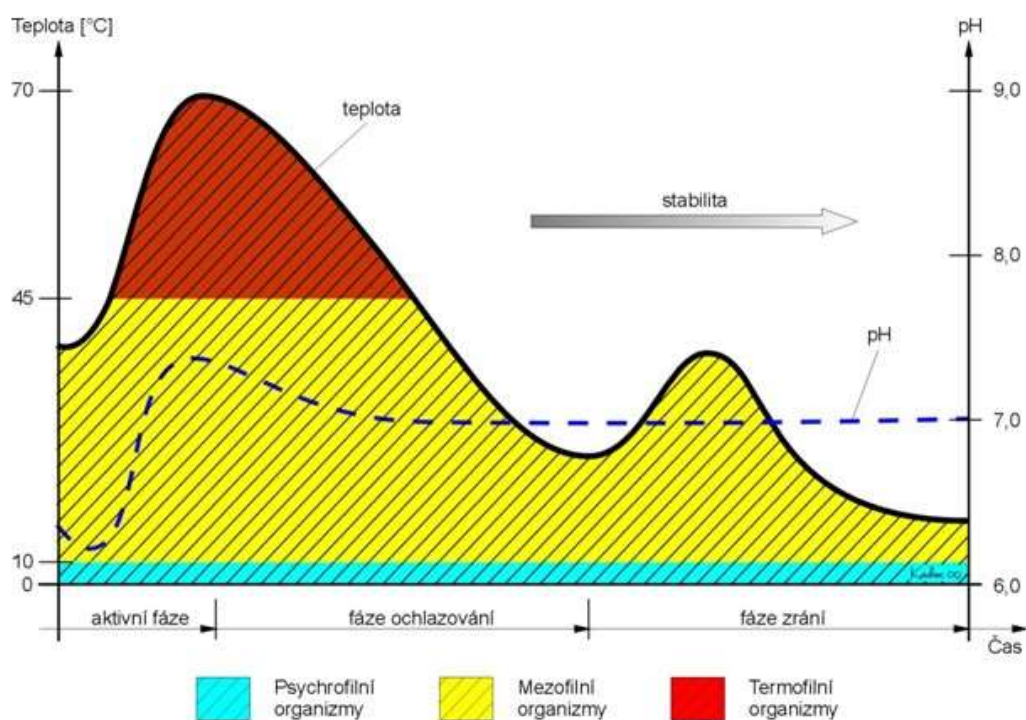
ad 2) Fáze přeměny

Přeměnná fáze trvá od čtvrtého týdne až do osmého respektive desátého týdne (Kalina, 2004). Vyznačuje se pozvolným poklesem teploty ze 40 °C na 25 °C. Termofilní bakterie nahradí jiná skupina mikroorganismů a plísň. Pokles hmoty a objemu probíhá podstatně pomaleji. V této fázi se odbourá dalších 10 % hmoty. (Junga a kol., 2015). Mineralizované živiny jsou zabudovány do „humusového komplexu“. Kompost získává stejnoměrně hnědou barvu, drobtovitou strukturu a má lehkou příjemnou vůni po lesní zemině (Kara a kol., 2004). Na konci této fáze už stěží rozeznáváme původ jednotlivých částic. Snižuje se fytotoxicita a kompost není hygienicky závadný. V tomto stádiu lze použít kompost jako organominerální hnojivo (Junga a kol., 2015).

ad 3) Fáze syntézy (zralosti)

Teplota klesá na hodnotu teploty okolí. Kompost ovládají malí živočichové a hmyz (svinky, stonožky, roztoči, žížaly). Dochází k vytvoření vazeb mezi anorganickými a organickými látkami a ke tvorbě kvalitního a stabilního kompostu. V této fázi už dochází jen k nepozorovatelnému poklesu hmotnosti (Junga a kol., 2015). Kompost získá více zemitou strukturu, pokud ho ponecháme na ploše ještě o trochu déle vyžrát (Kalina, 2004).

Obr. 1 Průběh teploty, fáze rozkladu a pH



Zdroj: www.hgf10.vsb.cz

3.3 Vermikompostování

Pro vermikompostování jsou důležité následující pojmy:

- Předkompostování – proces využívaný před vermikompostováním k redukci patogenních organismů pomocí vysokých teplot
- Kompostování – řízený aerobní rozklad organického materiálu za vzniku organominerálního hnojiva (kompost)
- Vermikompostování – řízený aerobní rozklad organického materiálu pomocí žížal za vzniku organominerálního hnojiva (vermikompost)
- Konečný produkt – hnojivo bohaté na organické a minerální látky.

Vermikompostování lze popsat jako proces, který následuje až po termofilní fázi rozkladu. Dochází k biooxidaci a stabilizaci organických materiálů za využití interakce mezi intenzivní činností žížal a mikroorganismů. Použitím předkompostování před samotným vermikompostováním je dobrý způsob stabilizace vstupního materiálu. Materiál je v důsledku vysokých teplot zbaven nežádoucích toxických látek a mikroorganismů. Následné vermikompostování pak snižuje velikost částic a zvyšuje dostupnost živin. Mikroorganismy

jsou odpovědné za biochemické degradace organické hmoty a žížaly jsou důležité při přípravě podkladu a podpory mikrobiální aktivity. Žížaly jsou mnohdy považovány za „mechanické míchačky“, protože rozkládají a homogenizují organický materiál (Domíngues and Edwards, 2011). Mají za úkol provzdušnění substrátu, promísení, rozmělnění, fragmentaci, enzymatické trávení a mikrobiální rozklad substrátu ve střevě (Adi and Noor, 2009).

Kompost získaný pomocí žížal dosahuje kvalitnější přeměny organické hmoty než běžný kompost. Kompostovaný materiál projde jejich trávicím traktem žížal, kde jsou organické látky přeměněny na exkrementy. Vermikompost je obohacen o vysoký podíl přírodních enzymů, huminových kyselin a růstových regulátorů např. auxinů, giberelinů, cytokininů a dalších (Junga a kol, 2015).

Vermikompost je velmi kvalitní "organominerální hnojivo" bohaté na N, K, P a stopové prvky, které mohou být prospěšné pro půdní mikroorganismy. Vermikompost se jeví jako vynikající růstový stimulátor pro zemědělské plodiny, které jsou odolnější vůči škůdcům a chorobám. Ve srovnání s chemickými hnojivy a konvenčním kompostem výrazně podporuje růst a barevnost listů, ale také zlepšuje vzhled plodů (Sinha et al., 2011).

Pro optimální průběh vermikompostování je nutno zabezpečit optimální teplotu prostředí, která by se měla pohybovat od 19 °C do 22 °C. Pokud je teplota nižší než 7 °C nebo vyšší než 33 °C žížaly zastavují svoji činnost. Pokud teplota klesne pod 0 °C nebo stoupne nad 42 °C, žížaly hynou. Vlhkost substrátu by se měla optimálně pohybovat mezi 78 – 82 % a pH by mělo být neutrální. Důležitý je i dostatek vzdušného kyslíku, který žížaly ve vrstvách vermikompostu vyhledávají (Váňa a kol., 2009)

3.3.1 Materiály vhodné k vermikompostování

Kompostováním můžeme zpracovat prakticky všechny materiály, podléhající biologickému rozkladu. Příklady odpadů vhodných ke kompostování jsou uvedeny v následujícím textu.

3.3.1.1 Chlévská mrva a hnůj

Chlévskou mrvou označujeme směs pevných a zčásti i tekutých výkalů hospodářských zvířat a steliva. Při uskladnění na hnojišti dochází ke zrání směsi a po uzrání vzniká chlévský hnůj. Parametry tohoto materiálu jsou uvedeny v Tab. 2.

Chlévská mrva s podestýlkou ze slámy je ideální pro kompostování. Pokud je podíl slámy malý je dobré doplnit mrvu listím, slámou nebo starým senem. Jestliže je mrva příliš suchá (koňská), musíme ji před kompostováním navlhčit. Kompostuje se samotná nebo smíchaná s 20 % půdy nebo kompostu.

Hnůj skotu by měl být kyprý a dobře promíchaný s hrubším materiálem (př.: sláma). U hnoje koní a ovcí je problém se silným zahříváním, proto je vhodné hnůj kompostovat s dostatkem zeminy (10 %) a rostlinnými odpady (Kalina, 2004).

Různé druhy kompostu, obzvláště kompostovaný hnůj, jsou velmi užitečné pro stimulaci půdních mikrobiálních procesů a při tvorbě stabilních forem půdní organické hmoty (Fließbach a Mäder, 2000).

Tab. 2 Vlhkost, obsah organické hmoty a živin (v hmotnostních %) v chlévské mrvě, močůvce a kejďe hospodářských zvířat (upraveno dle Kaliny, 2004)

Materiál	Vlhkost %	Org. hmota % suš.	N % suš.	P ₂ O ₅ % suš.	K ₂ O % suš.	CaO % suš.	MgO % suš.
Chlévská mrva (skot)	75-82	78-85	1,8-2,4	1,1-1,4	2,5-2,9	2,0-2,4	0,4-0,7
Chlévská mrva (koně)	68-73	86-92	1,9-2,5	1,0-1,3	1,9-2,3	1,1-1,3	0,2-0,5
Chlévská mrva (ovce)	65-70	88-96	2,5-3,0	0,7-1,0	2,0-2,3	0,8-1,1	0,1-0,4
Kejda drůbeže	82-97	65-76	5,0-8,1	2,8-5,1	2,9-4,8	8,0-11,0	0,6-0,9
Kejda prasat	91-98	72-78	5,0-5,8	3,5-4,2	2,8-3,4	3,1-3,8	0,7-1,3
Kejda skotu	94-99	70-81	3,5-4,5	1,6-2,0	3,2-3,9	2,0-5,0	0,5-0,8
Močůvka	96-99	0-3,0*	0,1-0,9*	0-0,1*	0,1-0,7*	0-0,1*	0

Vysvětlivky: Údaje označené hvězdičkou jsou uvedeny v původní hmotě.*

3.3.1.2 Výlisky ovoce a révy vinné

Výlisky jsou surovinou s vysokým podílem zbytkových cukrů, které nastartují rychlý rozklad za předpokladu, že je materiál dostatečně vlhký a má dostatek vzduchu. Obsah vlhkosti a další důležité parametry zmíněných materiálů jsou uvedeny v Tab. 3. Díky velmi rychlému zahřátí a dlouhému trvání této fáze se u výlísků může stát, že hromady zcela vyschnou. Proto je důležité vlhkost pravidelně kontrolovat a v případě potřeby doplňovat. Komposty z výlísků zůstávají kypré a jsou vhodné zejména k přípravě substrátů jako náhrada rašeliny. Mají ale i příznivý vliv na ozdravení půdy a rostlin. Důvodem zde mohou pravděpodobně být látky podporující růst rostlin, které se uvolňují z jader během tlení (Kalina, 2004).

Jablečné výlisky

Jablečné výlisky jsou pevné zbytky, které zbydou po extrakci šťávy z jablek. Procesem extrakce dostaneme: 75 % šťávy a 25 % výlísků. Výlisky lze považovat za vynikající příklad odpadu z potravinového průmyslu, který je vhodný pro kompostování (Mahawar et al, 2012). U výlísků se doporučuje přidat ke kompostovací směsi slámu pro zvýšení pórovitosti, čímž se zlepší přístup vzduchu (Kalina, 2004).

Matolina

Produkce vína generuje velké množství biologicky rozložitelného odpadu, který lze přeměnit na vysoce kvalitní hnojivo prostřednictvím vermikompostování. Zbytky z lisování hroznů při výrobě vína jsou známé jako výlisky. Lisováním vinné révy vzniká odpad v podobě zrn (20 – 30 %) a slupek (70-80 %), nazývaných jako matolina. U vinařských výlísků se pohybuje pH mezi 3 – 6. V některých zemích se výlisky používají pro výrobu destilátů (grappa), jako krmivo, nebo se zaorávají do půdy (Freixas et al., 2012a). V důsledku vysokého podílu jader a třapin má matolina příznivou strukturu, takže je zabezpečeno dobré zásobení vzduchem bez jakýchkoli přísad (Kalina, 2004). Lze tedy konstatovat, že kombinace kompostování a vermikompostování je dobrá strategie pro efektivní využití tuhých odpadů z výroby vína (Freixas et al., 2012b).

Tab. 3 Vlhkost, obsah organické hmoty a živin (v hmotnostních %) ve výliscích z ovoce a slámě (upraveno dle Kaliny, 2004)

Hmota	Vlhkost %	Org. látky % suš.	N % suš.	P ₂ O ₅ % suš.	K ₂ O % suš.	CaO % suš.	MgO % suš.
Výlisky z ovoce	65 – 87	78 – 92	0,1 – 0,6	0,1 – 0,3	0,3 – 0,6	0,1 – 0,3	0 – 0,1
Sláma obilná	13 – 20	92 – 96	0,4 – 0,6	0,1 – 0,3	0,9 – 1,1	0,3 – 0,4	0,1 – 0,2
Sláma řepky	15 – 18	95 – 97	0,5 – 0,7	0,2 – 0,3	1,1 – 1,4	1,2 – 1,5	0,2 – 0,3

3.3.1.3 Kuchyňský odpad

Jedná se zejména o odpad ze stravování a domácností. Obsahuje mnohem více vody a solí a skládá se jak z živočišné, tak rostlinné složky. Lze sem zařadit zbytky potravin, zeleniny, ovoce, vaječné skořápky, čajové sáčky, kávovou sedlinu nebo části pokojových rostlin. Jeho produkce je v průběhu roku víceméně stabilní, přičemž jeho množství opět závisí na typu zástavby a také životním stylu domácnosti (stravování doma či mimo, využívání čerstvých surovin nebo polotovarů při přípravě jídel, možnost zkrmování zbytků zvířaty atd.) (Váňa a Kotoulová, 2001).

Slupky brambor a ostatní zbytky ze zeleniny jsou velmi bohaté na živiny. Slupky jižního ovoce (banány, pomeranče, citrony) obsahují často vyšší procento konzervačních a ochranných prostředků, jejichž vyšší hodnoty neovlivňují podstatně proces vermikompostování (Sulzberger, 1996). Zbytky ovoce a kávová sedlina se považují za velmi dobrou surovinu pro žížaly. Pokud je ovoce celé je vhodné ho před kompostováním rozkrájet. Citrusy jsou náchylné na plesnivění, a proto není vhodné je kompostovat ve velkém množství (Vojtěchová a Hodek, 2007). Parametry tohoto materiálu jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4 Vlhkost, obsah organické hmoty a živin (v hmotnostních %) v kuchyňském odpadu (upraveno dle Kaliny, 2004)

Hmota	Vlhkost %	Org. látky % suš.	N % suš.	P ₂ O ₅ % suš.	K ₂ O % suš.	CaO % suš.	MgO % suš.
Kuchyňský odpad	65 - 80	75 - 88	1,2 – 2,3	0,3 – 0,7	0,4 – 0,8	1,9 – 3,0	0,3 – 0,6

3.3.2 Technologie vermikompostování

Z technologického hlediska lze technologie pro vermikompostování rozdělit do následujících kategorií:

3.3.2.1 Malé vermikompostéry

Jedná se o maloprodukční vermikompostování bioodpadu v zakrytém vermikompostéru, který je složen z jednotlivých perforovaných nádob. Tyto vermikompostéry jsou také označovány jako domácí. Vyráběny jsou ze dřeva nebo plastu (Obr. 2). Bioodpady jsou zpracovávány postupně v jednotlivých patrech vermikompostéru. Perforování nádob zajišťuje odvod přebytečné tekutiny, volný pohyb žížal mezi jednotlivými nádobami a provzdušnění. V dolní části vermikompostéru je zásobník s neperforovaným dnem a s vypouštěcím kohoutem. Do této části je sváděna přebytečná tekutina z horních nádob. Tekutinu lze průběžně čerpat a využívat jako tekuté hnojivo pro pokojové rostliny nebo zahradu.

Před zahájením vermikompostování je nezbytné zvolit vhodnou podestýlku. Nejběžněji se využívá tráva, listí, roztrhaný navlhčený papír, rašelina, hobliny nebo kokosové vlákno. Podestýlka se umísťuje do I. parta, které se nachází nad zásobníkem s kohoutem na odvod tekutiny (Hanč a Plíva, 2013).

Obr. 2 Typy kompostérů



Zdroj: www.ekonakup.cz

3.3.2.2 Jednoduché technologické systémy vermikompostování

Před začátkem vermikompostování je nutné vybrat vhodné stanoviště. Zvolenou plochu je vhodné zpevnit a vyspádovat z důvodu odvodu průsakové vody. Odvedená voda se poté používá při zavlažování (kropení) materiálu v období kultivace. Zpevnění terénu pod kultivační hromadou zabraňuje vniknutí predátorů, především krtků a usnadňuje pohyb mechanizace (Junga et al., 2015).

Do této technologie lze zařadit zejména vermikompostování plošné, v pásových nebo plošných hromadách na volné ploše a vermikompostování v ohraničeném prostoru, tzv. boxové.

Vermikompostování v pásových hromadách na volné ploše.

Jedná se o investičně nenáročný a technicky jednoduchý způsob zpracování bioodpadu. Hromady není potřeba překopávat či obracet. Nezbytné je ovšem pravidelně sledovat vlhkost a podle potřeby zavlažit.

Nejčastěji využívaným postupem je tzv. „přikrmování žížal“. Přikrmováním se na povrch hromady přidává bioodpad, který lze pomocí vermikompostování zpracovat. Vrstvy se zakládají ve vrstvách: 20 – 30 cm jednou za dva týdny, 30 – 50 cm jednou za tři týdny nebo 10 cm jednou za týden. Žížaly se následně stěhují do přidaných vrstev a zpracovávají veškeré suroviny.

Vliv povětrnostních podmínek na proces vermikompostování je nepatrný, ale i přes to dochází k mírnému zpomalení procesu, a tím se prodlužuje interval pro odběr hotového vermikompostu. V zimě žížaly uvnitř hromady běžně přežívají a zpracovávají bioodpad, při optimálních teplotách se i rozmnožují.

Vermikompostování v ohraničených záhonech

Vermikompostování v ohraničených záhonech je většinou provozované pod přístřeškem, čímž dojde k částečnému ochránění před povětrnostními vlivy, a tím i k prodloužení vermikompostovacího procesu (Obr. 3).

Tato technologie je náročnější v oddělování všech žížalích jedinců od hotového vermikompostu. Jednou z uváděných metod je odebrání žížal i se substrátem po určité době po přikrmení z povrchu hromady čelním nakladačem. Tento žížaly obsahující substrát se pak následně použije k zakládání nového vermikompostu. Další z metod, jak žížaly oddělit, je založit novou hromadu v bezprostřední blízkosti již zpracované hromady. Žížaly ze

zpracované hromady, kde nemají již co konzumovat, přirozenou cestou přelezou do hromady s čerstvými surovinami (Hanč a Plíva, 2013).

Obr. 3 Vermikompost v ohraničeném záhoně



Zdroj: www.vuzt.cz

3.3.2.3 Složitější technologické systémy vermikompostování

Vermikompostování probíhá v zařízeních, která zpracovávají bioodpady v uzavřeném prostředí s využitím žížal, nejčastěji s druhy *Eisenia fetida* a *Eisenia andrei*. Velkými výhodami těchto řešení jsou: urychlení celého procesu, omezení plochy, omezení vlivu povětrnostních podmínek, možnost lepšího využití vzniklého výluhu a možnost řídit a automatizovat celý provoz.

Vermikompostování ve „Dvoumodulovém vermireaktoru“

Jedná se o mobilní vermireaktor složený ze dvou nádob (modulů). Moduly mohou být ve dvou pracovních uspořádáních a to v rozpojeném nebo spojeném stavu. Pokud jsou rozpojené, pracují každý samostatně. V jednom z modulů probíhá předkompostování bioodpadu bez přítomnosti žížal a v druhém probíhá samotné vermikompostování. Moduly jsou spojené, pokud je potřeba přemístit žížaly z jednoho modulu, kde je již hotový vermikompost, do druhého modulu, kde jsou suroviny předkompostování a jsou připraveny k samotnému vermikompostování. Přemístění žížal se děje přes vystředěnou děrovanou stěnu mezi jednotlivými moduly. Dvoumodulový vermireaktor si lze prohlédnout na Obr. 4.

Optimální prostředí pro žížaly a průběh procesu je zajištěn pomocí monitorovací techniky. Vermireaktor je vybaven hlavním panelem, na kterém je umístěna řídicí jednotka a jiná další zařízení sloužící pro oba moduly. Každý z modulů je samostatně osazen modulovým panelem (Hanč a Plíva, 2013).

Obr. 4 Dvoumodulový vermireaktor



Zdroj: www.vuzt.cz

Vermikompostování ve vermireaktorech se souvislým procesem

Jedná se o velice perspektivní technologii pro systémy velkoprodukčního vermikompostování. Vermireaktory se souvislým procesem jsou obří kontinuální „průtokové“ vermireaktory, ve kterých zpracováváný bioodpad postupuje od shora dolů (Obr. 5). Suroviny vhodné pro vermikompostování jsou přidávány shora pomocí modifikovaného rozmetadla nebo mobilního portálu. Ve spodní části zařízení je umístěno síto, kterým propadává hotový vermikompost a ten je následně po otevření hydraulicky ovládané záklopy pomocí mechanického zařízení vybírán. Všechny operace jsou řízeny automaticky na základě monitorovacího zařízení.

Vermikompostování probíhá celoročně, neboť vermireaktor je nejčastěji umístěn v temperované hale. Tento způsob je vhodný k plynulému získávání vysoce kvalitního vermikompostu (Hanč a Plíva, 2013).

Obr. 5 Vermireaktory se souvislým procesem



Zdroj: www.vuzt.cz

3.4 Žížaly

Zařazení do systému v rámci kmene kroužkovců (Pižl, 2002):

Kmen: Annelida

Třída: Oligochaeta

Nadřád: Megadrili

Řád: Opisthopora

Podřád: Lumbricina

Nadčeleď: Lumbricoidea

Čeleď: Lumbricidae

Žížaly patří zcela jistě k našim nejznámějším bezobratlým živočichům (Pižl, 2002) a ve světě je v současnosti popsáno více než 2500 druhů (Briones et al., 2009). Odhaduje se, že dalších nejméně 2000 je dosud nepopsáno. Přestože jsou žížaly rozšířené na všech kontinentech, většina čeledí obývá tropické či subtropické oblasti, případně mírné pásy mimoevropských kontinentů. Ve střední Evropě se vyskytují pouze zástupci čeledi žížalovitých – Lumbricidae s výjimkou vodního druhu *Criodrilus lacuum* (Pižl, 2002).

Význam žížal spočívá převážně v rozkladu primární organické hmoty a tvorbě humusu (Tomlin et al., 1995). Také se podílejí na přeměně složitých organických sloučenin do forem jednoduchých, které jsou přijatelnější pro rostliny. Mohou ovlivňovat půdní vlhkost, provzdušňování a rozměňování půdy. Dále mohou být prospěšné i svými exkrementy, vlivem na půdní mikroorganismy nebo přenášením rostlinného materiálu (Vrba a Huleš, 2007).

Aktivita některých druhů žížal je závislá na okolních podmínkách prostředí nebo je řízena vnitřními biologickými hodinami. Žížaly ale mohou být aktivní po velkou část roku, zejména během jara, kdy se jejich aktivita zvyšuje. Různé druhy žížal se v nepříznivých podmínkách, jako je příliš velké teplo, sucho nebo mráz, chovají různě (Pommeresche a kol., 2010). Zimu přečkávají žížaly různým způsobem a můžeme je rozdělit do tří skupin. Žížaly z první skupiny s příchodem mrazů hynou a zimu přečkávají pouze jejich kokony, proto jsou nuceny dokončit celý svůj životní cyklus během několika měsíců.

Žížaly z druhé skupiny zimní období přežívají ve stádiu dočasného klidu, tzv. kviescenci. S poklesem teploty pod určitou hodnotu vytvářejí v půdě komůrky vystlané slizem, stočí se v nich do klubíčka a z těla vyloučí většinu vody. Fyziologické pochody se zpomalují a žížaly tráví ze svých tukových zásob. Pokud je zima příliš dlouhá a žížala už

nemá tukové zásoby, může dokonce rozkládat a trávit i své krevní barvivo, hemoglobin. K aktivnímu životu se tyto žížaly vrací s nástupem vyšších teplot v březnu či dubnu.

Třetí skupina zahrnuje pravé zimní spáče. Tyto žížaly zalézají na konec svých chodeb sahajících hluboko do půdy, kde se chovají podobně jako zástupci druhé skupiny. Nástup klidového stádia, tzv. diapauzy, u nich však není podmíněn poklesem teploty, ale závislý na změnách délky dne (Pižl, 2010)

Frouz a Poklopová (2011) uvádějí, že i Charles Darwin projevil zájem o žížaly a to v roce 1881 publikací jeho poslední odborné knihy *The Formation of Vegetable Mould through the Action of Worms with Observations on their Habits*. Za úspěchem stál Darwinův popis chování žížal. Ze způsobu, jakým žížaly uchopují přemísťované předměty, Darwin vyvodil, že žížaly projevují jisté prvky inteligence. Zkoumal předměty, které si žížaly natahaly do svých chodbiček. Darwinova práce přináší popisnou charakteristiku a morfologii žížal, zejména se věnuje promíchávání půdy žížalami a jeho vlivu na archeologii a na formování zemského povrchu. Darwin se zaměřil na úlohu žížal, zejména na jejich vliv na promíchávání a vertikální přesuny půdy a dále se věnoval i úloze bioturbace žížal v zahrabávání starověkých staveb. Na základě svých měření Darwin odhaduje, že kamenný blok o rozměrech 170 × 99 × 38 cm může být činností žížal zcela pohřben za 262 let.

3.4.1 Životní cyklus žížal

3.4.1.1 Rozmnožování a vývoj

Žížaly patří k živočichům, kteří jsou schopni rozmnožovat se a produkovat vajíčka po většinu roku a po většinu svého dospělého života. Výměna spermatu probíhá při kopulaci dvou jedinců, přičemž sperma partnerského jedince je uchováváno v chánových schránkách a později je využíváno pro oplodnění vajíček. Alternativním způsobem je výměna spermatu pomocí adhezivních spermatorů. Tyto spermatory jsou přichyceny na pokožku partnera a jsou využity k přímému oplození vajíček při tvorbě kokonů. Produkce spermatorů je u některých druhů obligatorní (např. zástupci rodu *Dendrodrilus*), ale u některých druhů může být fakultativní, tj. jedinci též kopulují (např. žížaly z rodu *Lumbricus*). Některé druhy se mohou rozmnožovat i partenogeneticky (např. *Eisenia fetida*) (Pižl, 2002). Po uchování spermatu začnou žlázy v opasku produkovat váček se slizem, který má vyživovat a chránit vajíčka. Tento váček se poté postupně posouvá k hlavové části žížaly. Během jeho pohybu žížala vypustí do slizového váčku svá vajíčka a partnerovy spermie. Slizový váček nakonec sklouzne přes hlavovou část, na obou stranách se uzavře, a vytvoří kokon ve tvaru citrónku

(Pommeresche a kol., 2010). Frekvence kladení kokonů je ovlivněna řadou faktorů prostředí (Pižl, 2002). Nejvíce kokonů můžeme nalézt na jaře a na podzim v závislosti na druhu, množství živin a klimatu. Jeden jedinec může vyprodukovat 3 – 100 kokonů za rok. Produkce kokonů je závislá také na teplotě. Při teplotách nižších než 3°C žížala kokony neklade. Jeden kokon může obsahovat až 20 vajíček, ale jen málokdy se z jednoho kokonu vylíhnou více než jeden nebo dva jedinci. Doba od vykladení kokonu do vylíhnutí mladých žížal se pohybuje v rozpětí od tří týdnů do pěti měsíců v závislosti na druhu a klimatických poměrech. Žížaly se líhnou s plným počtem tělních článků, jejich velikost se ale pohybuje v rozmezí pouhých 0,5 až 1,5 cm. Líhnutí je nejrychlejší, pokud je půda vlhká a teplota se pohybuje kolem 15°C (Pommeresche a kol., 2010).

Růst žížal a doba dospívání se u jednotlivých druhů liší. I doba života žížal značně kolísá (Pižl, 2002). A to vše v závislosti na vnějších podmínkách, jako např. vysychání nebo promrzání půdy, nevhodný způsob zpracování půdy, napadení predátory. Žížaly se proto v přírodě zřídka kdy dožívají více než dvou let (Pommeresche a kol., 2010).

3.4.1.2 Faktory ovlivňující vývoj žížal

3.4.1.2.1 Potravní zdroje

Základním zdrojem potravy pro žížaly je organický materiál. Převážnou část potravy tak tvoří odumřelé zbytky rostlinného i živočišného původu, dále pak půdní mikroorganismy, hyfy mikroskopických hub, půdní řasy a méně významnou složku tvoří půdní živočichové (Pommeresche a kol., 2010).

Zde můžeme žížaly rozlišit do dvou skupin podle toho, jakou preferují potravu – žížaly geofágní a detritofágní.

Detritofágní druhy žížal – potravu nacházejí na půdním povrchu a v nejsvrchnějších horizontech půdy, živí se převážně rostlinnými zbytky nebo exkrementy savců. Stravitelnost rostlinné potravy se pro tyto žížaly významně liší. Např.: nejlépe stravitelnou potravou jsou zbytky vojtěšky a jetele nebo některých druhů trav, oproti tomu nejhůře stravitelnou potravou jsou jehlice jehličnanů.

Geofágní druhy žížal – vyhledávají místa s vyšším obsahem organické hmoty (rhizosféra) a živí se pohlčováním velkého množství půdy, v níž tráví obsažené organické zbytky a mikroflóru. Rozbory zažívacího traktu těchto žížal ukázaly, že stejné druhy se mohou živit různou potravou na různých lokalitách (Pižl, 2002)

3.4.1.2.2 Půdní vlhkost

Půdní vlhkost je důležitá zejména z hlediska prevence proti vyschnutí. Žížaly sice mají k dispozici různé fyziologické mechanismy regulující ztrátu vody, ty jsou relativně málo výkonné. Naproti tomu tolerance žížal ke ztrátě vody je dosti značná. Optimální vlhkostní podmínky představují 40 – 60 % maximální vodní kapacity půdy. Pro žížaly žijící v Evropě je limitující pokles půdní vlhkosti na cca 20 % (Pižl, 2002). U žížal můžeme také pozorovat různé ekologické adaptace k poklesu vlhkosti. Patří mezi ně přechod do klidového stádia (Graefe, 1993), migrace na vlhčí místa a modifikace životního cyklu, např. kokonizace (jedinec přečká suché období pouze ve stádiu kokonu) (Pižl, 2002). K nadbytku vody v rizosféře jsou žížaly dobře přizpůsobeny a jen několik střeoevropských druhů preferuje velmi vlhké půdy (např. *Eiseniella tetraedra*) (Luthart et al., 2006). Některé žížaly jsou dokonce schopny přežít nebo se i pářit v chladné a dostatečně okysličené vodě i několik měsíců. Ovšem to, jak dlouho budou schopné takto přežít, závisí na teplotě, obsahu kyslíku a UV záření (Pižl, 2002).

Pokud je půda pouze krátkodobě zaplavená (< 10 dnů) nedochází k výraznému snížení abundance (Schütz et al., 2008), rozhodujícím faktorem je však obsah kyslíku v půdě (Losos a kol., 1984).

3.4.1.2.3 Teplota

Pro většinu našich žížal je optimální rozpětí teploty 10° – 15 °C. Přičemž nejvyšší teplotní limit se pohybuje v rozsahu 24° – 29 °C a nejnižší limit v rozsahu 1° – 1,6 °C. Epigeické druhy mohou snášet i teploty vyšší a to 15° – 20 °C. Samozřejmě u teploty hraje velkou roli zeměpisná poloha. Žížaly mají schopnost ochlazovat se evaporací vody z tělního povrchu. Tato schopnost je však možná pouze tehdy, nalézají-li se žížala ve vlhkém prostředí, kde nemůže dojít k jejímu vyschnutí (Pižl, 2002).

3.4.1.2.4 Půdní reakce

Pro většinu druhů je optimální pH v rozmezí 6 – 7, i když mnoho druhů je k pH půdy velmi tolerantní. Pižl (2002) dělí podle tolerance k nízkým hodnotám půdní reakce žížaly na acidotolerantní (tolerující pH 3,7 – 4,7), ubikvisty (tolerující pH 4,7 - >7), acidointolerantní (nevyskytující se v půdách s nízkým pH).

3.4.1.2.5 Textura půdy

Půdní textura je další z důležitých faktorů pro život žížal (Guild, 1948). Žížaly preferují lehčí hlinité až hlinitopísčité půdy (Pižl, 2002; Hendrix et al., 1992). Nejvíce jich ale najdeme v půdách humózních. Většinou se jedná o nezamokřené, lehčí, na humus bohaté hlinité až jílovité půdy (Pommeresche a kol., 2010). Ovšem pokud je půda silně jílovitá, nevytváří příliš vhodné životní podmínky pro žížaly zejména z důvodu výskytu anaerobních podmínek po deštích a záplavách (Edwards and Bohlen, 1996). Velké množství žížal nenajdeme ani v půdách šterkových nebo v rozvolněných písčitých půdách z důvodu rizika adheze a následného vyschnutí (Hendrix, 1992; Pižl, 2002).

K méně významným faktorům prostředí můžeme zařadit také světlo. Většina žížal je fotofóbních a světlu se vyhýbá. Organismus žížal není přizpůsoben škodlivým účinkům ultrafialového záření a všechna vývojová stádia zůstávají v půdě. Na povrch půdy vystupují jen výjimečně po intenzivních deštích, kdy trpí nedostatkem vzduchu (Guild, 1948). UV záření může způsobit i smrt žížaly, nejvíce citlivé jsou druhy žijící pod povrchem půdy, které nemají ochranné pigmenty (Pommeresche a kol., 2010).

3.4.1.2.6 Amoniak

Žížaly jsou velice citlivé na obsah čpavku. V žádném případě nemohou přežít v organickém materiálu, který má vysoké množství tohoto kationtu, čímž může být např. čerstvý hnůj od drůbeže. U organického materiálu s velkým množstvím čpavku je vhodné použít technologii předkompostování (Domínguez and Edwards, 2004). Obsah čpavku nad 0,1% žížaly usmrcuje (Zajonc, 1992)

3.4.2 Žížaly a vermikompostování

Pro vermikompostování jsou vhodné epigeické druhy. Je důležité, aby vybrané druhy měly určité biologické a ekologické charakteristiky. A to zejména schopnost přirozené kolonizace organických zbytků, velkou rychlost požívání organické hmoty a její trávení a asimilaci. Dále by měly být schopné tolerovat široké rozpětí faktorů životního prostředí, měly by mít vysokou rychlost reprodukce, růstu a dospívání a měly by být silné a rezistentní k manipulaci. Jen málo druhů žížal splňuje všechny tyto charakteristiky (Domínguez and Edwards, 2004)

Epigeické druhy žížal:

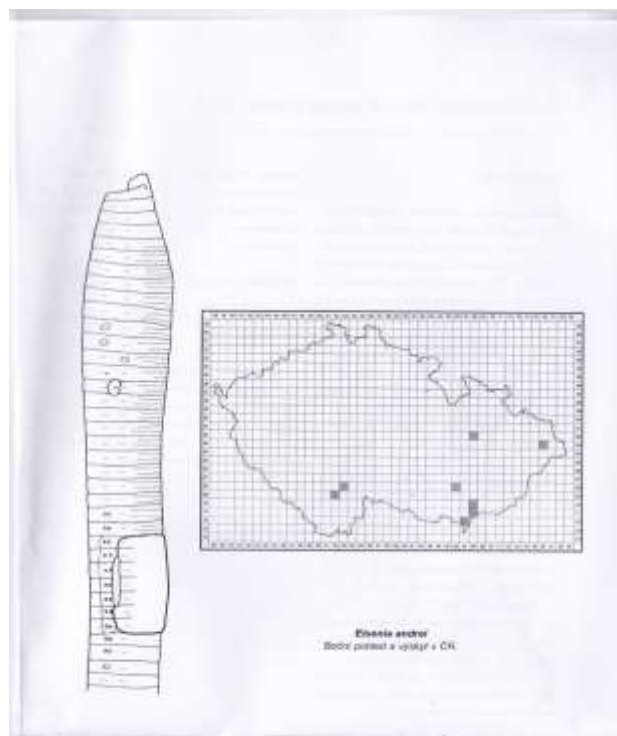
1. Straminikolní druhy - žijící v opadu
2. Subkortikolní druhy – žijící pod kůrou padlých dřevin
3. Fleofilní druhy – žijící nad povrchem půdy
4. Detritifágní druhy – žijící v hnoji a rostlinných zbytcích
5. Koprofágní druhy – živící se exkrementy savců
6. Amfibické druhy – žijící v zamokřené půdě a pod vodní hladinou (Pižl, 2002)

Patří sem druhy *Lumbricus rubellus*, *Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*, *Dendrobaena rubida*, *Dendrobaena veneta*, *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavatus* a *Eiseniella tetraedra* (Domínguez and Edwards, 2004).

3.4.2.1 Charakteristika vybraných druhů žížal

Žížala kalifornská (*Eisenia andrei*) – tato žížala je dlouhá 50 – 90 mm, šířka těla je 2 – 4 mm a počet segmentů je 80 – 120. Tělo je cylindrické a za opaskem poněkud zploštělé. Má uniformně růžovočervené až červenofialové zbarvení a opasek je někdy světlejší. Svalovina této žížaly je podélná peříčkovitého typu. Samčí pohlavní orgány ústí v polovině 15. článku, žláznaté dvorce jsou většinou ohraničené 15. článkem a někdy mohou mírně přecházet na sousední články. Samičí pohlavní vývody jsou dobře patrné a ústí v polovině 14. článku. Opasek je sedlovitý a pubertální valy jsou oválné. Žížala kalifornská má dlouhé (1,8 – 3,9 mm) a široké (1,6 – 3,4 mm) kokony. Barva kokonů je zelenožlutá, neprůhledná a jsou kulaté až mírně protažené, s hladkým povrchem (Pižl, 2002). Žížalu kalifornskou a její výskyt v ČR si lze prohlédnout na Obr. 6 a 7.

Obr. 6 a 7 Žížala kalifornská a její výskyt v ČR

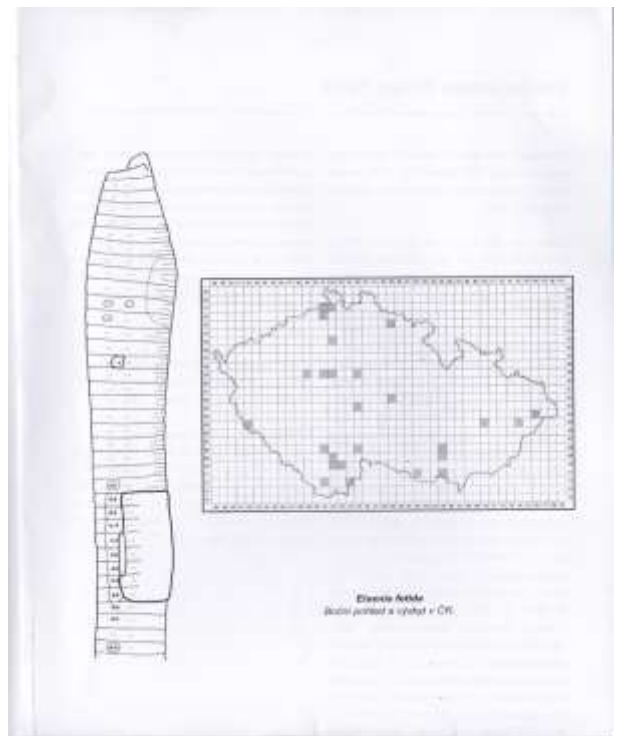


Zdroj: www.archive.constantcontact.com

Zdroj: Pižl (2002)

Žížala hnojní (*Eisenia fetida*) – délka těla této žížaly je od 50 – 150 mm, šířka 2 – 5 mm a počet segmentů 80 – 120. V zadní části je tělo zploštělé. Zbarvení je tzv. tygrovité nebo zebrovité, což znamená, že uprostřed každého článku je výrazný příčný růzovofialový pruh. Spodní strana těla je žlutavá a opasek může být oranžový či šedý. Svalovina podélná peříčkovitého typu. Samčí pohlavní orgány lze nalézt v polovině 15. článku, ale někdy mohou mírně přecházet na sousední články. Samičí pohlavní orgány jsou dobře viditelné v polovině 14. článku. Žížala hnojní má sedlovitý opasek a oválné pubertální valy. Kokony této žížaly jsou zelenožluté, neprůhledné, hladké a kulaté až mírně protažené. Přírodním biotopem pro tuto žížalu jsou silně zamokřené půdy v listnatých i jehličnatých lesích (Pižl, 2002), ale i břehy potoků nebo prameniště. Potravou jí je velké množství organických zbytků. Pro své rychlé rozmnožování a růst je často využívána pro produkci biomasy, vermikompostu či hnojiv (Pommeresche a kol., 2010). Žížalu hnojní a její výskyt v ČR si lze prohlédnout na Obr. 8 a 9.

Obr. 8 a 9 Žížala hnojní a její výskyt v ČR



Zdroj: www.naturespot.org

Zdroj: Pižl (2002)

3.5 Mikroorganismy

3.5.1 Mikroorganismy v kompostech

Při biologickém zpracování odpadů se uplatňují jak vztahy mezi různými mikroorganismy, tak i vztahy mezi mikroorganismy a bezobratlými živočichy.

Největší význam má komenzalismus, kdy mikroorganismy mění svou činností prostředí a umožňují tak rozvoj jiných organismů, jimž změna prostředí vyhovuje. Nejrozšířenějším typem komenzalismu je metabióza, tj. vztah, ve kterém jsou metabolické produkty jedněch mikroorganismů využívány jinými mikroorganismy. Tento vztah zajišťuje koloběh látek a je v přírodě velmi častý. Jeho podstatou je sukcese procesů při transformacích různých typů organických látek. Metabiózy se využívá při kompostování, čištění odpadních vod, či při anaerobním zpracování odpadů.

Význam bezobratlých spočívá v rozmělnění a fragmentaci organických zbytků. Zvětšují jejich povrch, který pak mikroorganismy rychleji osidlují a přeměňují. Bezobratlí živočichové využívají organických zbytků osídlených mikroorganismy ve svém metabolismu. Mikrobiální buňky jsou v trávicím traktu bezobratlých buď rozloženy, nebo jím procházejí a objevují se v exkrementech. Počty a aktivita mikroorganismů se však mohou v trávicím traktu také zvyšovat.

Nastartování biodegradace mikroorganismy je zpravidla spontánní. Mikroorganismy jsou běžně přítomny v zakládané směsi a po vytvoření vhodných podmínek se začnou množit. Jen v ojedinělých a speciálních případech se mikroorganismy do kompostu očkují, potom hovoříme o řízeném kompostování. Množení mikroorganismů je za ideálních podmínek exponenciální.

Ve fázi mineralizace jsou nejaktivnější termofilní mikroorganismy. Na počátku se odbourávají cukry, škroby a bílkoviny, v pozdější fázi také celulóza a další součásti dřevní hmoty. Konečné produkty rozkladu jsou voda, kysličník uhličitý a nitrátový iont NO_3^- . Při přebytku dusíku ve směsi se může dusík uvolňovat ve formě amoniaku. Mikroorganismy berou kyslík převážně ze vzduchu, energie pak ze štěpení chemických vazeb kompostované hmoty.

V druhé fázi kompostování termofilní bakterie nahradí jiná skupina mikroorganismů a plísní. Může se objevovat i nenáročný hmyz.

Ve třetí fázi kompost ovládají malí živočichové a hmyz. Svinky, stonožky, roztoči a žížaly (Junga a kol, 2015).

3.5.2 Enterokoky

Fylogenetické zařazení rodu *Enterococcus*:

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Firmicutes*

Třída: *Bacilli*

Řád: *Lactobacillales*

Čeleď: *Enterococcaceae*

Rod: *Enterococcus* (Ludwig et al., 2009).

Termín "enterococcus" má svůj původ na konci 19. století, kdy Thiercelin popsal saprofytické coccus, střevního původu, které mohou způsobit infekci. Téhož roku MacCallum a Hastings popisují podobný organismus, nyní známý jako *Enterococcus faecalis*, v případě smrtící endokarditidy, a tak poskytují první podrobný popis jeho patogenních schopností (Lebreton, 2014).

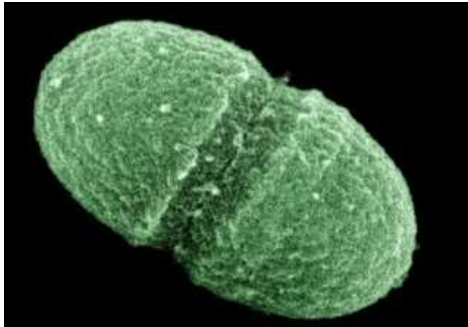
Bakteriální rod *Enterococcus* představují grampozitivní, kataláza negativní koky významné z pohledu humánní, veterinární, potravinářské i environmentální mikrobiologie. Enterokoky na sebe přitahují pozornost mikrobiologů především jako poměrně frekventovaní původci pestré škály onemocnění a součást mikroflóry, pozitivně ovlivňující proces fermentace některých potravin. Jsou však rovněž běžnou součástí střevní mikroflóry lidí, nejrůznějších živočichů, povrchu rostlin, vody či půdy (Švec a Sedláček, 2006). Enterokoky jsou všudypřítomné v GI traktu, obvykle ale tvoří jen malou část střevní mikroflóry, a to méně než 1% u dospělých jedinců (Lebreton, 2014). Bakterii rodu *Enterococcus* a její kolonie si lze prohlédnout na Obr. 10 a 11.

Jedná se o fakultativně anaerobní mikroorganismy, které preferují anaerobní prostředí. Přežívají krátkodobě i při teplotě 60 °C a rostou ve vysoké koncentraci soli. Typické enterokoky rostou v 10° až 45 °C, v médiu s obsahem 6,5 % NaCl či 40 % žluče a také při pH 9,6. Některé druhy enterokoků jsou pohyblivé. Jsou velmi rezistentní k vysychání (Facklam et al., 1999, Fraser, 2016)., antibiotikům a dezinfekčním prostředkům.

Některé enterokoky jsou řazeny mezi tzv. bakterie mléčného kvašení. Mají fermentativní typ metabolismu bez produkce plynu. Většina druhů je homofermentativních a konečným produktem metabolické dráhy je kyselina mléčná, která vzniká anaerobním

rozkladem glukózy. Ta však může být v podmínkách $\text{pH} > 7$ metabolizována na etanol, kyselinu mravenčí či kyselinu octovou. V aerobních podmínkách je glukóza přeměněna na kyselinu octovou, aceton a CO_2 . Enterokoky jsou tedy schopné efektivně metabolizovat jak v prostředí anaerobním, tak v prostředí aerobním (Švec and Devriese, 2009).

Obr. 10 *Enterococcus*



Obr. 11 Petriho miska s narostlými koloniemi bakterií rodu *Enterococcus*



Zdroj: www.sciencelife.uchospitals.edu

Zdroj: archiv autorky

3.5.3 *Salmonella* spp.

Fylogenetické zařazení rodu *Salmonella* spp.:

Doména: *Bacteria*

Oddělení: *Proteobacteria*

Třída: *Gammaproteobacteria*

Řád: *Enterobacteriales*

Čeleď: *Enterobacteriaceae*

Rod: *Salmonella*

Salmonella spp. je gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinkovitá bakterie 0,5 – 0,8 mm široká a 1 – 3,5 mm dlouhá (Obr. 12). Roste při teplotách 2° – 46 °C, nejlépe však při 37 °C.

Dobře přežívá mrazení a chlazení a některé sérotypy jsou termorezistentní - *Salmonella senftenberg*. Usmrčována je teplotou nad 66 °C. Kolonie bakterie *Salmonella* spp. na kultivačním médiu si lze prohlédnout na Obr. 13.

Rod *Salmonella* má jen jeden druh – *Salmonella enterica* (dále jen *S. enterica*) a sedm poddruhů. Každá ze sedmi poddruhů se dělí na sérotypy. V současné době je známo více než 2200 sérotypů. Riziko pro lidi představuje *S. enterica*. Rozlišují se tři hlavní typy *S. enterica*: *Salmonella enterica* Typhimurium, *Salmonella enterica* Enteritidis a *Salmonella enterica* Typhi.

Členové tohoto rodu jsou významné lidské a zvířecí patogeny a způsobují řadu střevních onemocnění u všech teplokrevných živočichů. Mezi nejčastější onemocnění patří průjemy (Olsen, 2005). Po požití kontaminované potravy pronikají bakterie salmonely přes trávicí trakt do tenkého střeva, kde se množí a uvolňují toxické látky, které pronikají do lymfatického a krevního oběhu. Po rozpadu buňky se dostávají do krevního oběhu a způsobují septikémii (život ohrožující bakteriální infekce, která se šíří v těle krevním oběhem). Infekční dávka je u zdravého člověka přibližně 10^2 - 10^5 bakterií.

Bakterie rodu *Salmonella* spp. se primárně vyskytují ve střevním traktu zvířat i lidí a exkrementy mohou kontaminovat životní prostředí (voda, půda) a potraviny. Lidé salmonely vylučují v exkrementech jednak v akutním stádiu onemocnění salmonelózou (klinické příznaky onemocnění), dále pak i po proběhlém onemocnění (bez klinických příznaků) a to po dobu až několika měsíců (Kuncová a Kučerová, 2014).

Protože jsou nenáročné, mohou se rozmnožovat také mimo tělo živočichů, především v potravinách živočišného původu. K nejčastěji kontaminovaným potravinám patří např. syrové maso (drůbeží, vepřové), syrová vejce, potraviny s vysokým podílem ruční práce (cukrářské a lahůdkářské výrobky), které nejsou tepelně zpracované.

***Salmonella enterica* Typhi** (dále jen *S. Typhi*)

Tato bakterie je původcem epidemie tyfu. Způsobuje závažné, často fatální onemocnění. K příznakům tyfu patří nevolnost, zvracení, horečka a posléze smrt. *S. Typhi* může infikovat pouze lidi, žádný jiný hostitel nebyl identifikován. Hlavním zdrojem infekce je kontaminovaná voda, ale kontaminovány mohou být i potraviny, které jsou zavlažovány nebo omývány kontaminovanou vodou.

Salmonella enterica Typhimurium (dále jen *S. Typhimurium*)

S. Typhimurium je nejčastější původce potravinové otravy. U člověka jsou charakteristické příznaky jako průjem, křeče v břiše, zvracení a nevolnost a obvykle trvá až 7 dní. Nejvíce ohroženy jsou malý děti, staří lidé a lidé s poruchou imunitního systému. Infekce jsou často fatální, pokud nejsou léčeny antibiotiky.

Salmonella enterica Enteritidis (dále jen *S. Enteritidis*)

S. Enteritidis způsobuje téměř totožné onemocnění jako *S. Typhimurium*. *S. Enteritidis* je nejčastější původce infekcí u kuřat, aniž by docházelo k viditelnému onemocnění. Z jednoho jedince na druhého se šíří velmi rychle. Rizikem jsou tzv. kuřecí farmy, kde se zvířata pohybují ve stejných prostorách. Dalším rizikem je přenos při zpracování masa. *Salmonella* se tak může rychle šířit celým potravinovým řetězcem (www.salmonella.org).

Obr. 12 *Sallmonella* spp.



Zdroj: www.bioquell.com

Obr. 13 Petriho miska s narostlými koloniemi bakterií rodu *Salmonella* spp.



Zdroj: archiv autorky

3.5.4 Přežívání enterokoků v kompostech

Sledování patogenních mikroorganismů v kompostu je velmi důležité z důvodu možnosti aplikace výsledného produktu na půdu, čímž vzniká reálné riziko kontaminace životního prostředí patogenními organismy. Proto je zajištění nezávadnosti kompostu, který může být aplikován do půdy, nezbytně nutné.

Proces kompostování, pokud je realizován takovým způsobem, že je dosaženo odpovídajících teplotních podmínek, může vést k významnému snížení počtu mnoha rostlinných, zvířecích a lidských patogenů. Pokud dojde k eliminaci patogenních

mikroorganismů, je možné vytvořit příznivý a bezpečný produkt z odpadů, které by jinak putovaly na skládku či do spalovny (Wichuk et al., 2011). Proces kompostování organických odpadů je uváděn jako účinná metoda pro snížení populace patogenů. Teplo je hlavním faktorem, který přispívá k patogenní inaktivaci (Erickson et al., 2014; Akdeniz et al., 2010). Uvádí se, že pokles cílových populací bakterií odpovídá vystavení teplotám nad 55 °C po dobu nejméně 3 dnů (Millner et al., 2014).

Bakteriální druhy, teplota, intenzita světla a vlhkost ovlivňují potenciální růst a přežívání patogenů v kompostu. Udržování optimální vlhkosti kompostu a přirozené mikroflóry může být rozhodující, pro eliminaci růstu a přežívání patogenů (Kim and Jiang, 2010). Původní mikroflóra se nejvíce vyskytuje v první fázi přeměny kompostování, kde má největší vliv na potlačení nežádoucích patogenů (Paniel et al., 2010). Během rané fáze aerobního kompostování živočišných hnojiv, jsou patogeny neaktivní, především z důvodu akumulace tepla z původní mikrobiální aktivity (Erickson et al., 2015a). Bakterie jsou jedny z nejvýznamnějších organismů, které ovlivňují proces rozkladu organického odpadu, zatímco odumřelé bakteriální buňky mohou sloužit jako snadno stravitelné substráty pro další mikrobiální populace (Hanajima et al., 2015).

Přežití a šíření patogenů v půdě a kompostech také ovlivňuje velikost částic. Patogeny v kompostu s větší velikostí částic přežívají lépe, než ty patogeny vyskytující se v kompostu s menší velikostí částic. Poměr C:N celkového organického uhlíku a obsah vlhkosti, může přispět k eliminaci, ale i k opětovnému růstu patogenních organismů (Reynnells et al, 2014). Dále je nutné zmínit i počáteční úroveň vlhkosti a odpařování amoniaku, což jsou důležité faktory, které ovlivňují mikrobiologické riziko a kvalitu kompostu (Singh et al., 2012). Počáteční rychlá ztráta vlhkosti v kompostu, může přispět k rychlé inaktivaci patogenů v hotovém kompostu (Diao et al., 2015).

Předkompostování je potřebná fáze před samotným vermikompostováním, a to z důvodu vysokých teplot, které přispívají k eliminaci populací patogenních organismů.

Vermikompostování je vhodná technologie pro zpracování různých odpadů, jejímž produktem je cenný konečný produkt (vermikompost). Nicméně, patogenní zátěž odpadů musí být výrazně snížena, aby se zabránilo rizikům pro lidské zdraví (Aira et al., 2011).

Přežití žížaly v prostředí závisí na jejich schopnosti rozpoznat a eliminovat potenciální patogeny. V tomto případě se jedná o druhy žížal *Eisenia andrei* a *Eisenia fetida* (dále jen *E. andrej* a *E. fetida*), které obývají podstatně odlišné ekologické niky. Zatímco *E. andrej* žije v kompostu a hnoji, *E. fetidu* lze nalézt v lesích (Dvorak et al., 2013).

U produktů z vermikompostování je povolena nižší hodnota bakteriálních a eukaryotických populací než u běžného kompostu. Přítomnost žížal upravuje bakteriální a plísňovou rozmanitost, a to má za následek eliminaci některých patogenů (Fu et al., 2016). Studie Fu et al. (2016) dokazuje, že žížaly mohou svou činností upravit mikrobiální aktivitu a počet společenstev během vermikompostování.

3.5.5 Přežívání salmonel v kompostech

Z výsledků mnoha studií vyplývá, že na přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. má vliv mnoho faktorů, které se navzájem ovlivňují a vyvrátit nebo potvrdit jejich vliv je velmi komplikovaná záležitost, která vyžaduje dlouhodobé studie. Přežívání salmonel v životním prostředí je riziko jak pro zdraví člověka, tak pro zdraví zvířat. Aby nedocházelo ke kontaminaci půdy matricemi běžně obsahujícími salmonely např. statkovými hnojivy, je velmi důležité se touto problematikou zabývat. Aplikace statkových hnojiv z infikovaných zvířat na půdu může vést k dalšímu šíření patogenu do agronomického systému. Patogenní organismy, které byly zkoumány v laboratorních podmínkách Tothem et al., (2011), přetrvávají v půdě hnojené statkovými hnojivy 6 až 10 měsíců.

Studii Totha et al. (2011) potvrzuje mikrobiologický průzkum Millera et al. (2013), který zkoumal přežívání salmonel a bakterií rodu *Escherichia coli* (dále uváděno jako *E. coli*) u 103 organických hnojiv. Sledovaná organická hnojiva měla obsah vlhkosti v rozmezí přibližně od 1 % do 86,4 % a průměrnou hodnotu pH 7,77. Celkové množství aerobní mezofilní mikroorganismů se pohybovalo přibližně od 10^3 do 10^9 kolonií tvořících jednotku (KTJ/g). Koncentrace enterobakteriální populace se pohybovala v rozmezí < 1 přibližně do 10^7 KTJ/g, zatímco termotolerantní koliformní bakterie se pohybovali od < 1 do cca 10^6 KTJ/g. V přítomnosti vysoké hladiny aerobních mezofilních mikroorganismů salmonela a *E. coli* vzrostly přibližně o 10 KTJ/g v 1. dnu inkubace v rostlinné bázi kompostu. S nízkou hladinou aerobních mezofilních mikroorganismů, salmonela vzrostla přibližně až o tři řády KTJ/g. Tato skutečnost poukazuje na vliv původní mikroflóry obsažené v kompostovaných matricích.

Erickson et al. (2015a) uvádí, že geny bakterií rodu *Salmonella* spp. byly inaktivovány rychleji v kuřecí a vepřové kompostovací směsi skladované při teplotě 20 °C a založené tak, aby počáteční poměr C:N byl 20:1. Inaktivace patogenů byla spojena se zvýšeným pH vzorků, které pravděpodobně vzniklo z amoniaku vyprodukovaného původní mikroflórou v kompostovací směsi. Původní mikrobiální aktivita byla snížena, v případě, že

kompostovací směs byla skladována při 30 °C v sušších podmínkách (< 10 % vlhkosti). Za těchto podmínek (s nižší sušinou), salmonela přežívala a adaptace salmonel k suchým podmínkám vyvolala „cross-protection“ k amoniaku.

V jiné studii McCarthyho et al. (2015) bylo prokázáno, že počáteční zatížení kontaminací nemělo vliv na redukci salmonel. Pokusy byly prováděny v prasečí kejďě nebo její oddělená frakci, která byla skladována za kontrolovaných podmínek na stanovišti o teplotě 10,5 °C po dobu 84 – 112 dnů. Po této době, za uvedených podmínek, byly bakterie rodu *Salmonella* spp. sníženy nebo eliminovány, a to bez ohledu na počáteční zatížení.

4 Materiál a metody

4.1 Postup práce

Cílem diplomové práce je řešit problematiku vermikompostování, ale také upozornit na rizika spojená s rozšiřováním patogenních organismů do životního prostředí. Jedná se o patogeny ohrožující zdraví jak lidí, tak i zvířat a rostlin.

Vliv vermikompostování na přežívání vybraných patogenů byl řešen následujícími kroky:

1. Příprava surovin pro vermikompostování
2. Inokulace vybraných nádob s vermikompostem
3. Laboratorní stanovení sledovaných patogenních mikroorganismů

4.1.1 Vermikompostování

Materiál pro pokus byl odebírán na výzkumné stanici FAPPZ v Červeném Újezdu, a to z již založených vermikompostů. Vermikompostování bylo prováděno v plastové vermikompostovací nádobě s perforovaným dnem značky *Worm Factory*. Každá vermikompostovací miska měla rozměry 40 x 40 x 18 cm a perforované dno, které bylo překryto geotextílií. Bylo použito dvou druhů biologicky rozložitelného odpadu: jablečné výlisky a matolina. Každý z těchto materiálů byl vložen do vermikompostérů spolu se substrátem obsahující žížaly rodu *Eisenia* od firmy Ekovermes. Nádoby byly plněny 10 litry substrátu a na 1 litr substrátu připadlo přibližně 200 žížal. Ve výsledku vermikompostovací nádoba obsahovala 2 000 žížal.

Každá vermikompostovací nádoba byla po založení zavlažena vodou, aby se zabránilo vysychání. Vermikompostovací nádoby byly umístěny v místnosti bez oken, ve které bylo nastaveno větrání na 15 minut ráno a 15 minut večer. V místnosti byla nastavena teplota na

25 °C a pro zabránění migrace žížal z jednoho substrátu do druhého bylo v místnosti po celou dobu pokusu rozsvíceno. Jednou za týden se prováděly pravidelné kontroly a jednou za 14 dní se doplňoval biologický materiál. Nakonec pomocí žížal vznikly vermikomposty, ze kterých byl odebírán materiál pro další stanovení.

4.1.2 Uspořádání laboratorních pokusů

Pro splnění cílů práce byl pokus uspořádán následovně. Byly připraveny následující varianty:

- nádoba se substrátem bez žížal a bez inokulovací suspenze
- nádoba se substrátem s žížalami a bez inokulovací suspenze
- nádoba se substrátem bez žížal a s inokulovací suspenzí
- nádoba se substrátem s žížalami a s inokulovací suspenzí.

Přehled pokusu je uveden v Tab. 5 a 6.

Tab. 5 a 6 Přehled pokusu (zdroj: archiv autorky)

Nádoba č.	Matrice	Žížaly	Spikování
23.11.2015			
1	matolina	NE	NE
2	matolina	ANO	NE
3	matolina	NE	enterokoky
4	matolina	NE	salmonela
5	matolina	ANO	enterokoky
6	matolina	ANO	salmonela
10	jabl. výlis	NE	NE
11	jabl. výlis	ANO	NE
12	jabl. výlis	NE	enterokoky
13	jabl. výlis	NE	salmonela
14	jabl. výlis	ANO	enterokoky
15	jabl. výlis	ANO	salmonela
7.12.2015			
19	matolina	NE	NE
20	matolina	ANO	NE
21	matolina	NE	enterokoky
22	matolina	NE	salmonela
23	matolina	ANO	enterokoky
24	matolina	ANO	salmonela
28	jabl. výlis	NE	NE
29	jabl. výlis	ANO	NE
30	jabl. výlis	NE	enterokoky
31	jabl. výlis	NE	salmonela
32	jabl. výlis	ANO	enterokoky
33	jabl. výlis	ANO	salmonela

Nádoba č.	Matrice	Žížaly	Spikování
21.12.2015			
37	matolina	NE	NE
38	matolina	ANO	NE
39	matolina	NE	enterokoky
40	matolina	NE	salmonela
41	matolina	ANO	enterokoky
42	matolina	ANO	salmonela
46	jabl. výlis	NE	NE
47	jabl. výlis	ANO	NE
48	jabl. výlis	NE	enterokoky
49	jabl. výlis	NE	salmonela
50	jabl. výlis	ANO	enterokoky
51	jabl. výlis	ANO	salmonela
4.1.2016			
55	matolina	NE	NE
56	matolina	ANO	NE
57	matolina	NE	enterokoky
58	matolina	NE	salmonela
59	matolina	ANO	enterokoky
60	matolina	ANO	salmonela
64	jabl. výlis	NE	NE
65	jabl. výlis	ANO	NE
66	jabl. výlis	NE	enterokoky
67	jabl. výlis	NE	salmonela
68	jabl. výlis	ANO	enterokoky
69	jabl. výlis	ANO	salmonela

4.1.3 Provedení laboratorních pokusů

Substrát pro laboratorní pokus byl připraven z vermikompostu (75 %) a čerstvých surovin (25 %), aby bylo zajištěno dostatečné množství potravy pro žížaly po dobu pokusu. Takto upravený materiál i žížaly, byl každý samostatně dopraven na Státní zdravotní ústav.

Do perforovaných nádob o objemu 125 ml byla umístěna prodyšná látka, do které bylo naváženo vždy 50 g substrátu. Dle schématu pokusu bylo do některých přidáno 2,5 g žížal. Po navážení se látka v horní části uzavřela gumičkou a celá nádoba byla uzavřena víčkem. Následně byly vybrané nádoby inokulovány suspenzí bakterií.

Inokulovací suspenze:	enterokoky	$2,0 \cdot 10^7$ KTJ
	salmonela	$1,1 \cdot 10^8$ KTJ

Inokulovací suspenze obsahovaly mikroorganismy:

Enterococcus faecalis CCM 4224

Enterococcus faecium G 226

Salmonella enterica spp. CCM 4420

Nádoby byly umístěny do nádoby s pískem, kterým byly zahrnuty po okraj. Písek byl zakryt geotextílií kvůli zajištění stabilního prostředí. Nádoba byla vybavena kapkovou závlahou a umístěna v místnosti s teplotou 20 °C.

4.2 Stanovení indikátorových organismů

Odběry k jednotlivým analýzám se prováděly v intervalu dvou týdnů. Před samotnou analýzou bylo nutné připravit Petriho misky s kultivačním médiem. Každá z misek byla řádně označena číslem vzorku a ředěním. Dále bylo nutné zajistit dostatečné množství laboratorního nádobí a dostatečné množství zředovacího roztoku.

4.2.1 Příprava vzorků

Obsah každé nádoby byl zvážen, převeden do zředovacího roztoku a homogenizován v homogenizátoru po dobu 2 minut. Po homogenizaci se suspenze nechala 5 minut ustát. Z výchozí suspenze byla připravena série desetinásobného ředění vzorku. Dále následovala inokulace pomocí sterilní skleněné tyčinky na povrch kultivačního média. Petriho misky byly

umístěny dnem vzhůru v termostatu po dobu a teplotu nezbytně nutnou pro sledované mikroorganismy.

4.2.2 Stanovení enterokoků

Stanovení enterokoků se provádí metodou přímého výsevu na povrch kultivačního média. Na Petriho misky s m-enterokokovým agarem bylo pipetováno 0,2 ml výchozí a dále pak desetinásobně zředěné suspenze, která byla rozetřena sterilní skleněnou tyčinkou. Po zaschnutí při teplotě laboratoře byly Petriho misky umístěny dnem vzhůru v termostatu. Inkubace probíhala nejprve 4 hodiny při teplotě $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ a potom 20 – 44 hodin při teplotě $43\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$. Po inkubaci byly spočítány všechny kolonie červené, kaštanové nebo i s růžově zbarveným středem. V případě nejasných kolonií byly provedeny konfirmace specifické pro enterokoky.

4.2.3 Stanovení salmonely

Stanovení salmonel bylo provedeno metodou přímého výsevu na povrch kultivačního média. Na Petriho misky s XLT agarem bylo pipetováno 0,2 ml výchozí a dále pak zředěné suspenze, která byla rozetřena sterilní skleněnou tyčinkou. Po zaschnutí při teplotě laboratoře byly vyočkované Petriho misky umístěny dnem vzhůru do inkubátoru s teplotou udržovanou na $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Po inkubaci po dobu 20 hodin až 24 hodin se na plotnách zjišťuje přítomnost typických kolonií bakterií rodu *Salmonella* spp. V případě pozitivního nálezu byly spočítány všechny kolonie černé barvy. Pokud byl růst slabý nebo nebyli-li typické kolonie bakterií rodu *Salmonella* spp. přítomny, byly plotny znovu inkubovány při $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ po dobu dalších 18 – 24 hodin. Na plotnách byla poté zjišťována přítomnost typických kolonií bakterií rodu *Salmonella* spp.

Každá typická nebo suspektní kolonie byla podrobena konfirmaci. Pro konfirmaci se z každé plotny každé selektivní půdy vybere nejméně po pěti koloniích považovaných za typické nebo suspektní. Pokud je na jedné plotně méně typických nebo suspektních kolonií než pět, vyberou se pro konfirmaci všechny typické nebo suspektní kolonie. Každá z vybraných kolonií se rozočkuje na povrch ploten předsušeného živného agaru tak, aby se umožnil vývoj dobře izolovaných kolonií. Inokulované plotny se inkubují při $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ po dobu 18 – 24 hodin. Pro biochemickou a sérologickou konfirmaci se užije čisté kultury. Při biochemické a sérologické konfirmaci a sérotypizaci se postupuje podle ČSN EN ISO 6579.

5 Výsledky

Tato práce byla zaměřena na výsledný efekt procesu vermikompostování s přidávkem žížal rodu *Eisenia*, které měly za cíl snížit počty sledovaných patogenů. Pro pokus bylo použito dvou rostlinných substrátů odlišného složení - jablečné výlisky a matolina. Pro realizaci pokusu bylo zmíněnými substráty naplněno celkem 48 perforovaných nádob, z čehož bylo 16 nádob určených pro inokulaci salmonelou, 16 nádob pro inokulaci enterokoky a 16 nádob bez inokulace sloužilo jako kontrolní vzorky. V intervalu 2 týdnů bylo analyzováno 12 vzorků. Šest vzorků pro matolinu a šest vzorků pro jablečné výlisky. Z každého substrátu byly vždy vybrány dvě baňky, které nebyly inokulovány, a jedna z baňek vždy obsahovala žížaly. Plnění nádob substrátem a stanovení celkového počtu mikroorganismů v původním substrátu probíhalo dne 9. 11. 2015. Do vybraných nádob byly dále přidány žížaly (počáteční hmotnost - 2,5 g) a inokulum. Počáteční hmotnost a vývoj hmotností žížal v různých substrátech bez inokula nebo s inokulem u obou dvou stanovení (*Enterococcus* a *Salmonella* spp.) si lze prohlédnout níže (Tab. 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16 a v Grafu 1., 2., 3., 4., 11., 12., 13., 14.). Hodnoty počátečních hmotností jsou prezentovány v průměrných hodnotách. Na počátku bylo také u výchozích materiálů změřeno pH, které neovlivnilo celkový proces a činnost žížal, jelikož neměřené hodnoty odpovídaly jejich přirozeným hodnotám pro život žížal. Pro matolinu bylo naměřeno pH 6,6 a pro jablečné výlisky 7,2. Vzorky byly analyzovány v průběhu 8 týdnů vždy po 14 dnech, konkrétně v období od 23. 11. 2015 do 4. 1. 2016. Podrobné schéma pokusu si lze prohlédnout v Tab. 5 a 6.

5.1 Sledování přežívání enterokoků během vermikompostování

Z celkového počtu 48 nádobek bylo ve sledovaném pokusu inokulováno výchozí suspenzí s enterokoky celkem 16 nádobek. V intervalu 2 týdnů byly analyzovány 4 vzorky obsahující bakterie rodu *Enterococcus* a 4 vzorky neobsahující uvedené bakterie. Z těchto vzorků byly vždy vybrány dvě nádobky pro matolinu a dvě nádobky pro jablečné výlisky, do kterých byly umístěny žížaly (Tab. 7).

V průběhu pokusu byly sledovány hmotnosti žížal umístěných ve vybraných vzorcích pro vyhodnocení vlivu žížal na přežívání sledovaných patogenů. Výsledky hmotností jsou uvedeny jako průměrné hodnoty ze dvou stanovení a jsou uvedeny v Tab. 8, 9, 10, 11 a v Grafu 1., 2., 3., 4.

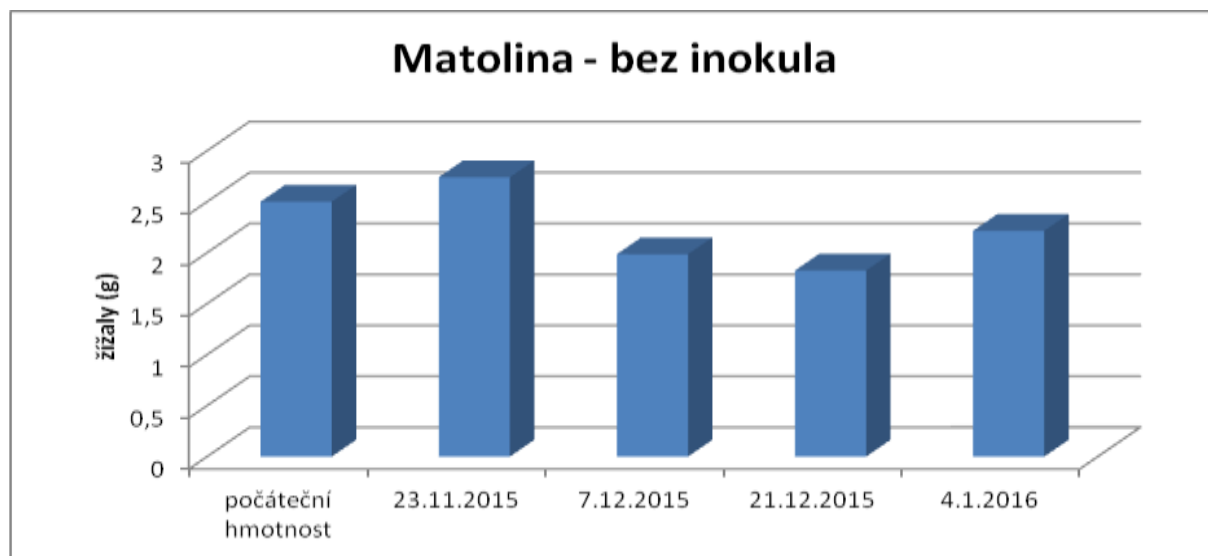
Tab. 7 Přehled pokusů a výsledků u bakterií rodu *Enterococcus* v KTJ/g

Substrát	žížaly (g)	suspenze (KTJ/g)	9. 11. 2015 (KTJ/g)	23. 11. 2015 (KTJ/g)	7. 12. 2015 (KTJ/g)	21. 12. 2015 (KTJ/g)	4. 1. 2016 (KTJ/g)
matolina	0	< 1	< 750	$1,1 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^1$	neg.	neg.
matolina	2,5	< 1	$1,1 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^1$	neg.	neg.
matolina	0	$2,0 \cdot 10^7$	< 750	$2,0 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^4$	$7,4 \cdot 10^3$	$9,0 \cdot 10^2$
matolina	2,5	$2,0 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^4$	$4,0 \cdot 10^3$	$9,5 \cdot 10^2$	neg.
jabl. výlisky	0	< 1	< 750	$3,4 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^1$	neg.	neg.
jabl. výlisky	2,5	< 1	< 750	$7,5 \cdot 10^2$	neg.	neg.	neg.
jabl. výlisky	0	$2,0 \cdot 10^7$	< 750	$6,3 \cdot 10^4$	$5,2 \cdot 10^3$	$8,4 \cdot 10^2$	neg.
jabl. výlisky	2,5	$2,0 \cdot 10^7$	< 750	$1,0 \cdot 10^3$	$6,8 \cdot 10^1$	neg.	neg.

● neg. – negativní nález

Tab. 8 Přehled průměrných hmotností žížal v matolině bez inokula

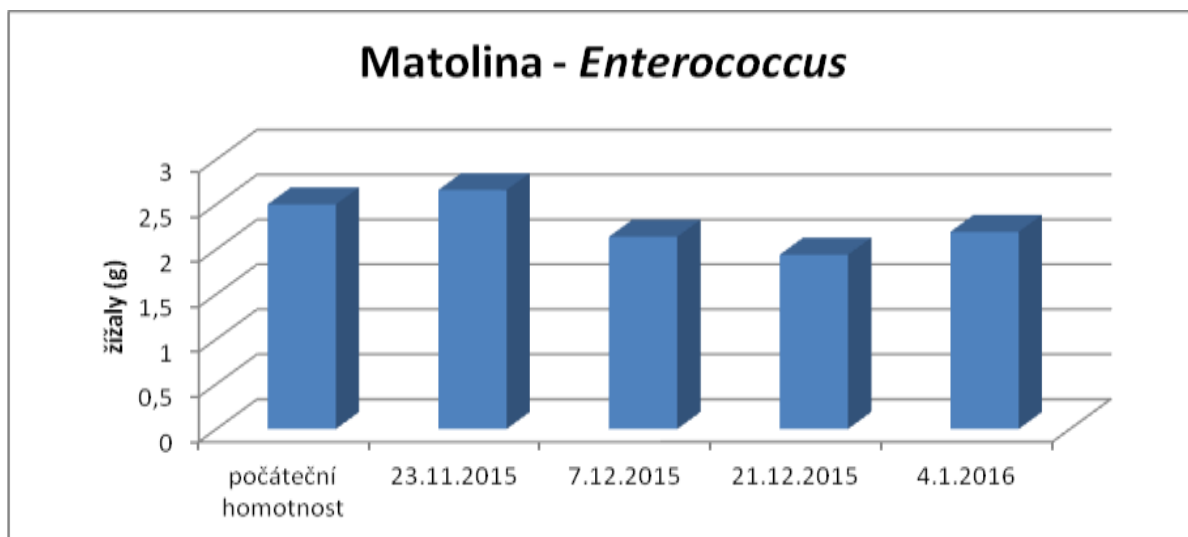
Matolina – bez inokula					
datum	9. 11. 2015	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
hmotnost (g)	2,5	2,7	2,0	1,8	2,2

Graf 1. Průměrné hmotnosti žížal v průběhu pokusu

Tab. 9 Přehled průměrných hmotností žížal v matolině s inokulem

Matolina - <i>Enterococcus</i>				
Počáteční hmotnost (g) 9. 11. 2015	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
2,5	2,7	2,1	1,9	2,2

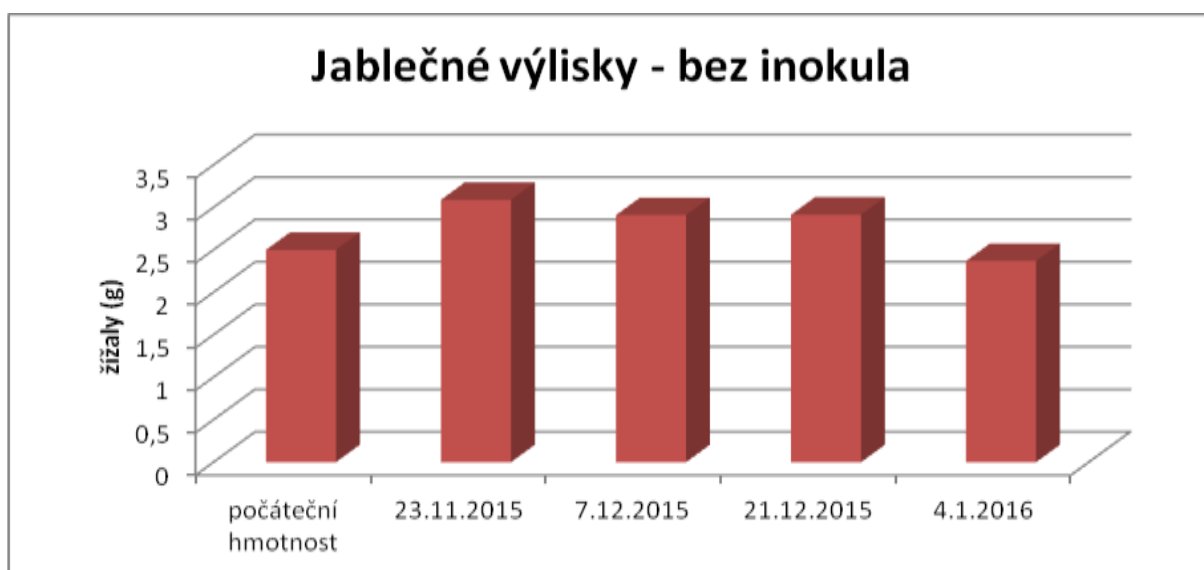
Graf 2. Průměrné hmotnosti žížal v průběhu pokusu



Tab. 10 Přehled průměrných hmotností žížal v jablečných výliscích bez inokula

Jablečné výlisky – bez inokula				
Počáteční hmotnost (g) 9. 11. 2015	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
2,5	3,1	2,9	2,9	2,4

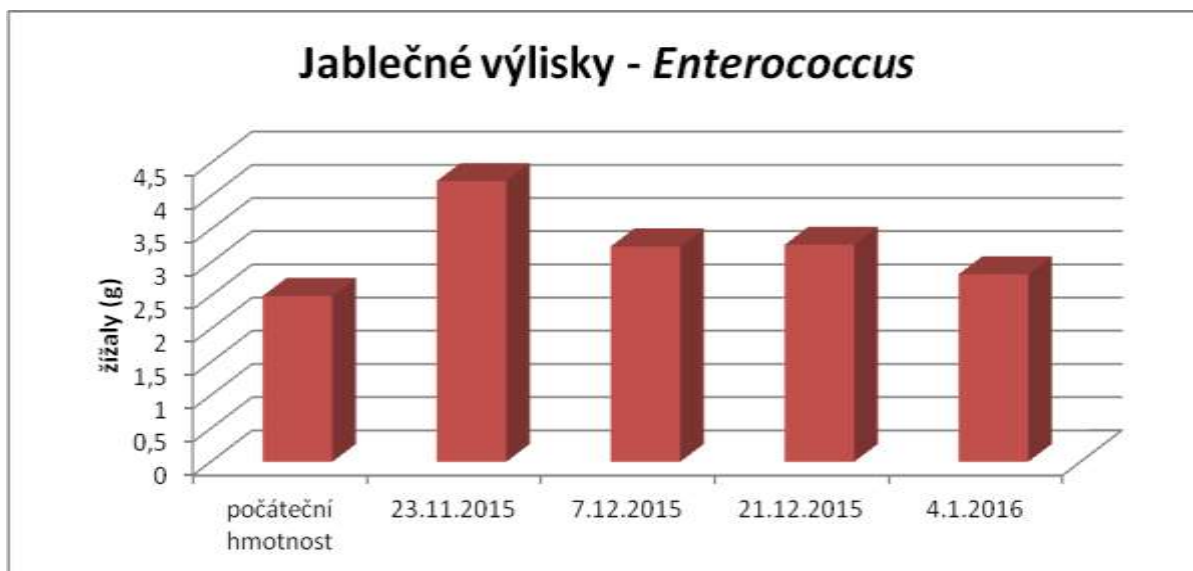
Graf 3. Průměrné hmotnosti žížal v průběhu pokusu



Tab. 11 **Přehled průměrných hmotností žížal v jablečných výliscích s inokulem**

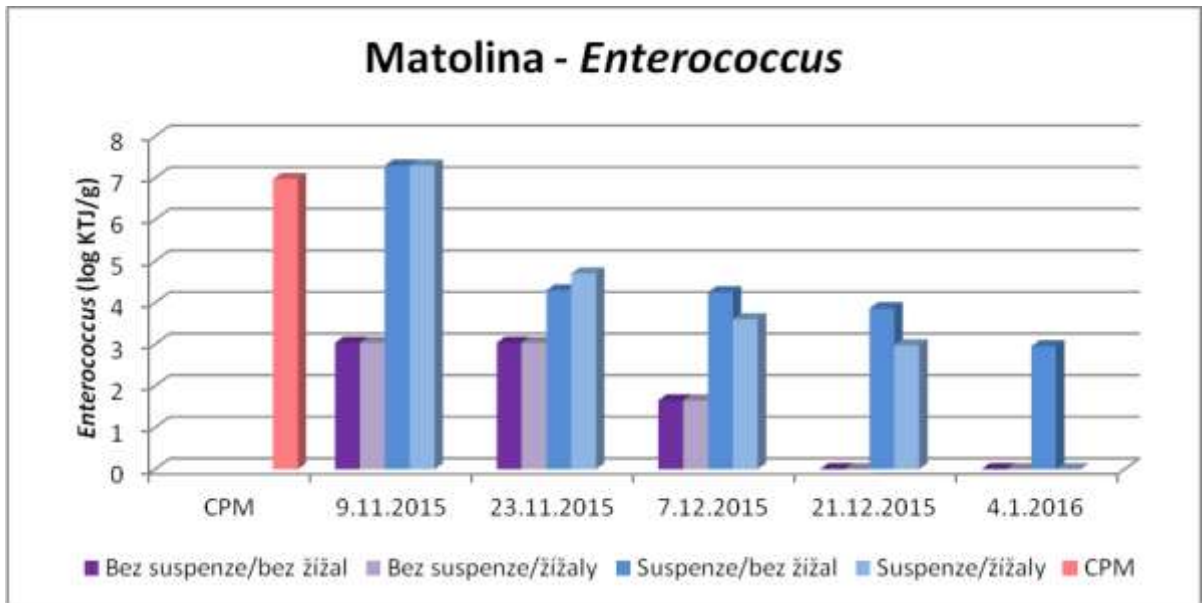
Jablečné výlisky - <i>Enterococcus</i>				
Počáteční hmotnost (g) 9. 11. 2015	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
2,5	4,2	3,3	3,3	2,3

Graf 4. **Průměrné hmotnosti žížal v průběhu pokusu**

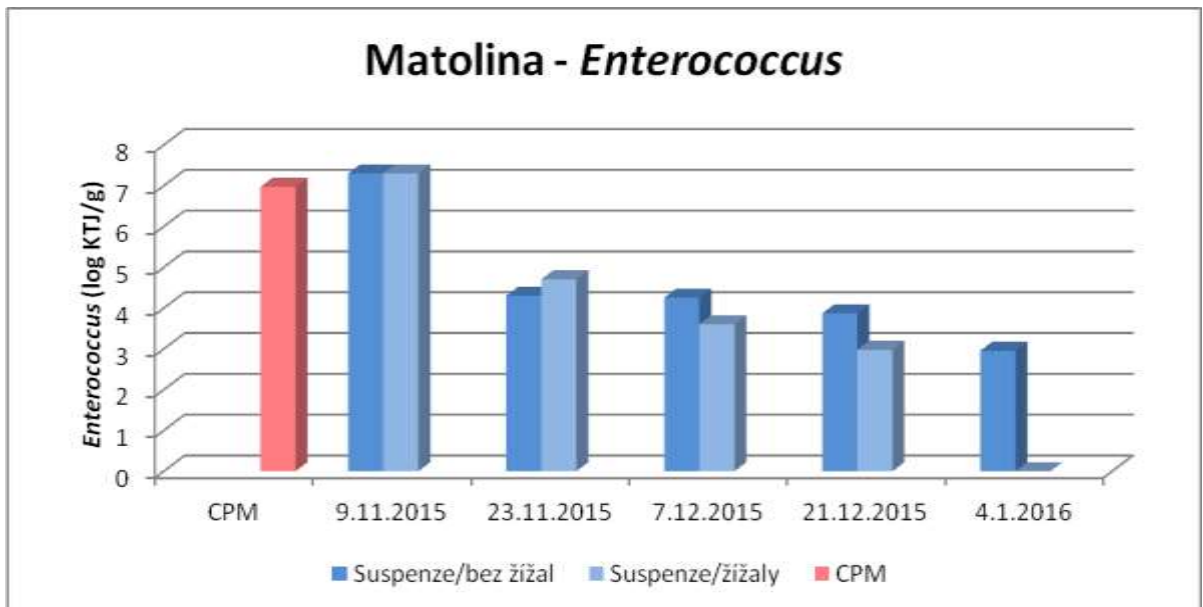


Do vybraných nádob s matolinou a jablečnými výlisky bylo na počátku pokusu uměle inokulováno $2,0 \cdot 10^7$ KTJ/g výchozí suspenze enterokoků. Při počáteční analýze byla zjištěna přítomnost enterokoků i v původní matrici. V matolině bez žížal bylo zjištěno méně než $7,5 \cdot 10^2$ KTJ/g a v matolině s žížalami bylo zjištěno $1,1 \cdot 10^3$ KTJ/g. U jablečných výlisků byly počty enterokoků v počáteční matrici u obou variant stejné, a to méně než $7,5 \cdot 10^2$. Z následujícího grafického znázornění lze vidět přežívání enterokoků v průběhu pokusu.

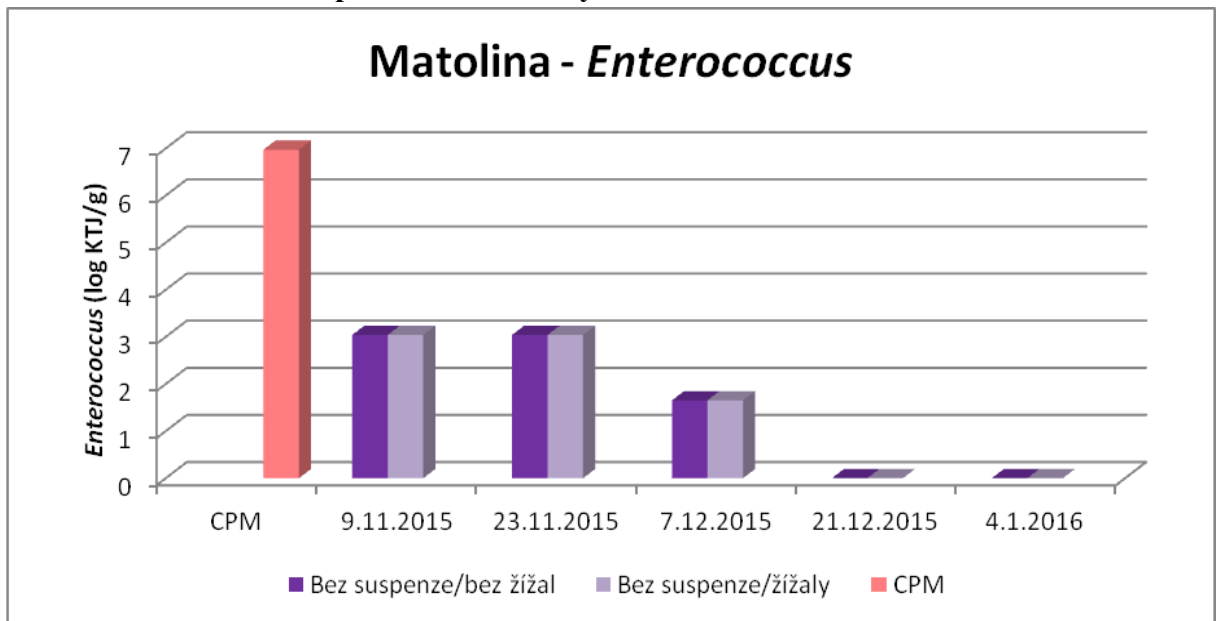
Graf 5. Přežívání bakterií rodu *Enterococcus* během vermikompostování matoliny



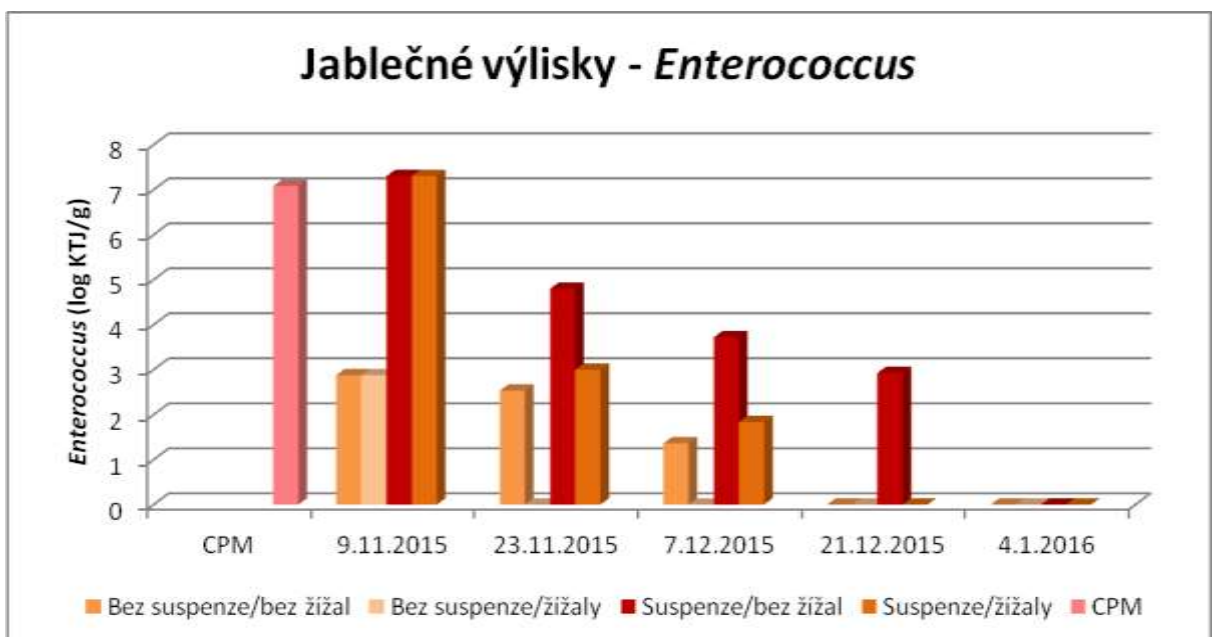
Graf 6. Přežívání bakterií rodu *Enterococcus* u inokulovaných vzorků během vermikompostování matoliny



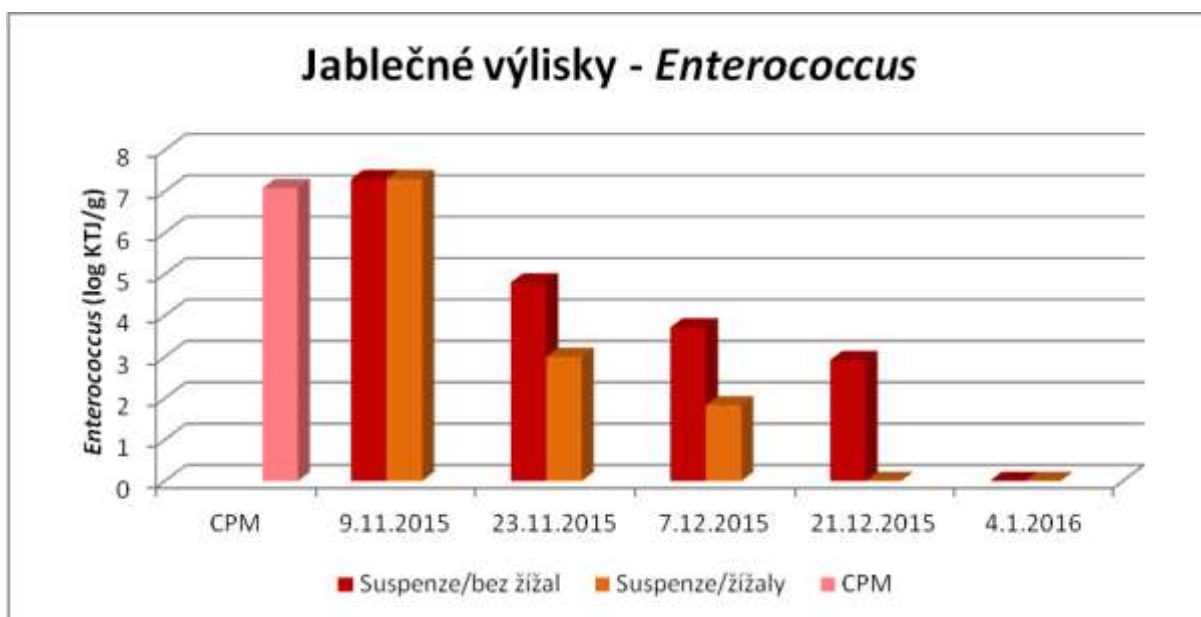
Graf 7. Přežívání bakterií rodu *Enterococcus* u neinokulovaných vzorků během vermikompostování matoliny



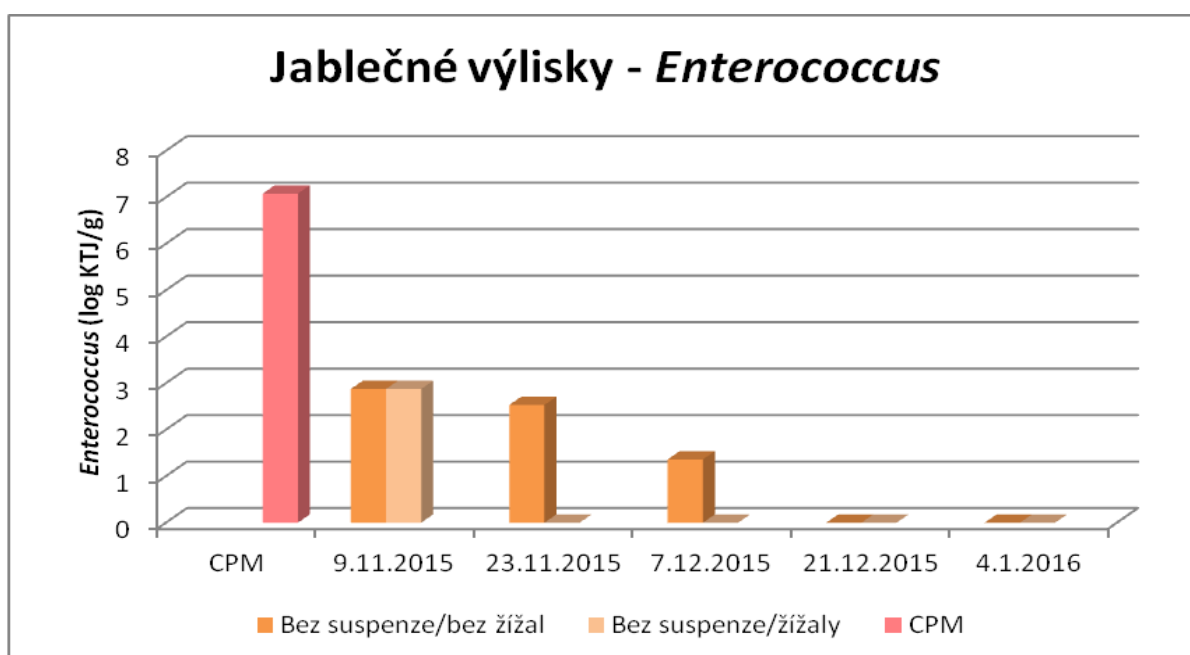
Graf 8. Přežívání bakterií rodu *Enterococcus* během vermikompostování jablečných výlisků



Graf 9. Přežívání bakterií rodu *Enterococcus* u inokulovaných vzorků během vermikompostování jablečných výlisků



Graf 10. Přežívání bakterií rodu *Enterococcus* u neinokulovaných vzorků během vermikompostování jablečných výlisků



U inokulovaných vzorků s matolinou bez žížal je patrné, že hodnoty počtů KTJ klesaly pomaleji, než hodnoty u vzorků se žížalami. U vzorků, které obsahovaly žížaly a inokulované enterokoky, nebyla po 4. týdnech zjištěna jejich přítomnost. Naopak u vzorků, které neobsahovaly žížaly, v 8. týdnu pokusu byly sledované patogeny ještě prokázány. U vzorků s

matolinou, kde nebyly inokulovány enterokoky a kde byla zjištěna přítomnost autochtonních enterokoků, byl průběh redukce počtů stejný, ať se jednalo o vzorky s žížalami nebo bez žížal.

U neinokulovaných vzorků s jablečnými výlisky, kde nebyly přidány žížaly, redukce probíhala pomaleji stejně jako v případě varianty inokulovaná matolina. A stejný průběh vykazovaly výsledky vzorků variant inokulované výlisky s žížalami a bez žížal. Rozdíl byl pouze v rychlosti poklesu sledovaných patogenů. U jablečných výlisků redukce probíhala rychleji.

Vzhledem k tomu, že výsledky varianty matolina s autochtonními enterokoky vykazovala stejnou rychlost redukce s žížalami a bez nich, nelze, i když dochází k rychlejšímu poklesu počtů KTJ s určitostí říci, že na pokles mají vliv pouze žížaly. Je zde zřejmá podpora ostatních organismů a samotný proces kompostování, který současně probíhá. Velký vliv mohla mít i vlhkost, jelikož matolina snadněji podléhala vysychání nežli jablečné výlisky. Právě u jablečných výlisků, kde nebyla přidána suspenze, ale enterokoky byly v počáteční matrici zjištěny a byla patrná vlhkost i vizuálně, byl pozorován vliv žížal již v prvních dvou týdnech pokusu, kde došlo k totální redukci patogenů. Tam kde byla přidána suspenze je vidět, že žížaly zřejmě měly pozitivní vliv na rychlost redukce počtů enterokoků, ale ta probíhala pomaleji. K totální redukci došlo, až v 6. týdnu pokusu.

O bakteriích rodu *Enterococcus* je známo, že jsou více rezistentní vůči chemickým látkám, pH a teplotám, a proto samostatný vliv kompostování byl zřejmě menší než vermikompostování, kde se uplatňuje enzymatický systém žížal. Rozdíl je zde hlavně v rychlosti samotného procesu, který byl mnohem rychlejší ve variantách se žížalami. Varianty s jablečnými výlisky ukazují, že vliv žížal možný byl.

5.2 Sledování přežívání salmonel během vermikompostování

Z celkového počtu 48 nádobek bylo salmonelou ve sledovaném pokusu inokulováno celkem 16 nádobek. V intervalu 2 týdnů byly analyzovány 4 vzorky obsahující inokulum salmonely a 4 vzorky bez tohoto inokula. Z těchto vzorků byly vždy vybrány dvě nádoby pro matolinu a dvě nádoby pro jablečné výlisky, do kterých byly umístěny žížaly (Tab. 12).

V průběhu pokusu byly sledovány hmotnosti žížal umístěných ve vybraných vzorcích pro lepší vyhodnocení vlivu žížal na přežívání sledovaných patogenů. Výsledky hmotností byly zprůměrovány a lze si je prohlédnout v Tab. 13, 14, 15, 16 a v Grafech 11., 12., 13., 14.

Tab. 12 Přehled pokusu a výsledků u bakterií rodu *Salmonella* spp. v KTJ/g

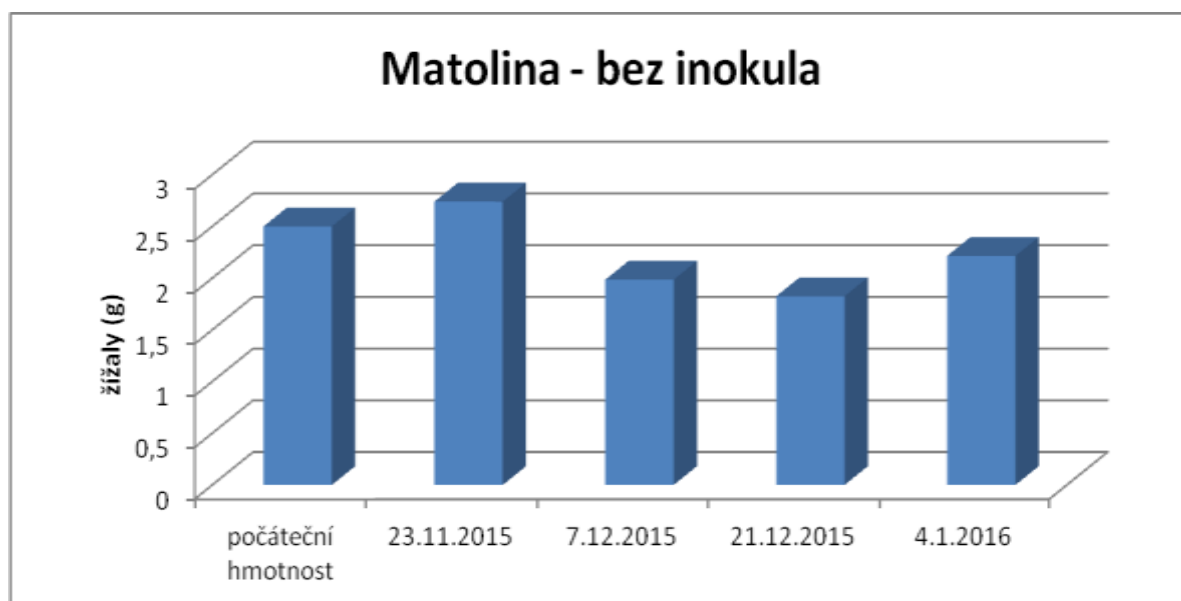
Substrát	žížaly (g)	suspenze (KTJ/g)	9. 11. 2015 (KTJ/g)	23. 11. 2015 (KTJ/g)	7. 12. 2015 (KTJ/g)	21. 12. 2015 (KTJ/g)	4. 1. 2016 (KTJ/g)
matolina	0	< 1	< 1	neg.	neg.	neg.	neg.
matolina	2,5	< 1	< 1	neg.	neg.	neg.	neg.
matolina	0	1,1.10 ⁸	< 1	2,5.10 ³	neg.	neg.	neg.
matolina	2,5	1,1.10 ⁸	< 1	3,6.10 ⁴	neg.	neg.	neg.
jabl. výlisky	0	< 1	< 1	neg.	neg.	neg.	neg.
jabl. výlisky	2,5	< 1	< 1	neg.	neg.	neg.	neg.
jabl. výlisky	0	1,1.10 ⁸	< 1	1,5.10 ⁴	neg.	neg.	neg.
jabl. výlisky	2,5	1,1.10 ⁸	< 1	2,2.10 ⁴	neg.	neg.	neg.

● neg. – negativní nález

Tab. 13 Přehled průměrných hmotností žížal v matolině bez inokula

Matolina – bez inokula					
Počáteční hmotnost (g)	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016	
9. 1. 2015	2,5	2,7	1,9	1,8	2,2

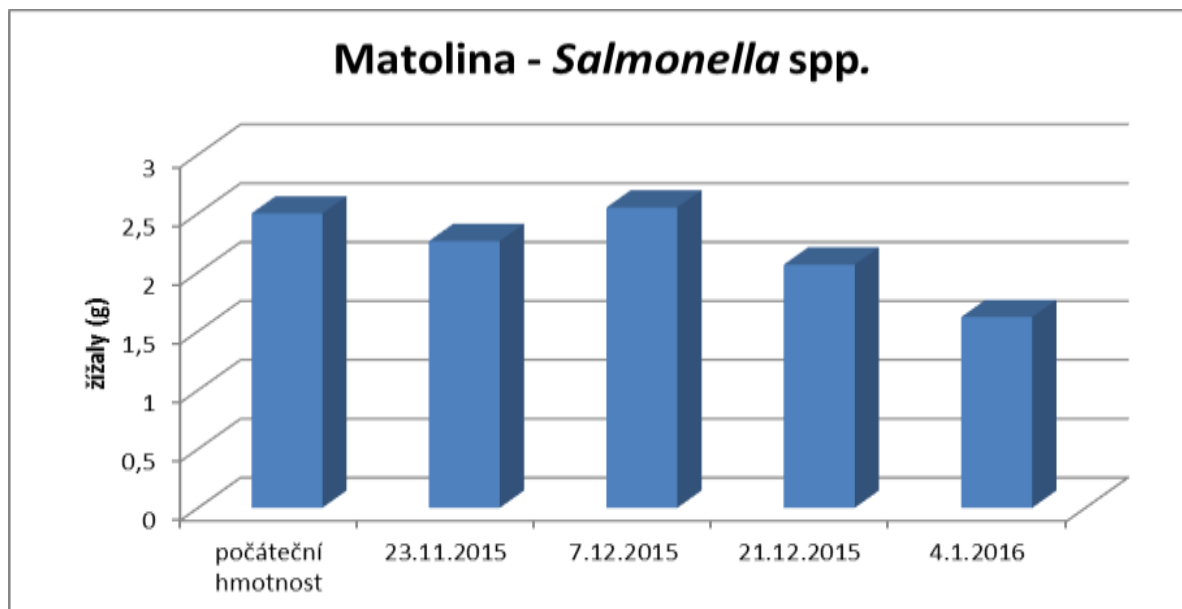
Graf 11. Průměrné hmotnosti žížal v průběhu pokusu



Tab. 14 Přehled průměrných hmotností žízal v matolině s inokulem

Matolina – <i>Salmonella</i> spp.				
Počáteční hmotnost (g)	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
9. 1. 2015	2,3	2,6	2,1	1,6
2,5				

Graf 12. Průměrné hmotnosti žízal v průběhu pokusu



Tab. 15 Přehled průměrných hmotností žízal v jablečných výliscích bez inokula

Jablečné výlisky – bez inokula				
Počáteční hmotnost (g)	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
9. 1. 2015	3,09	2,91	2,915	2,37
2,5				

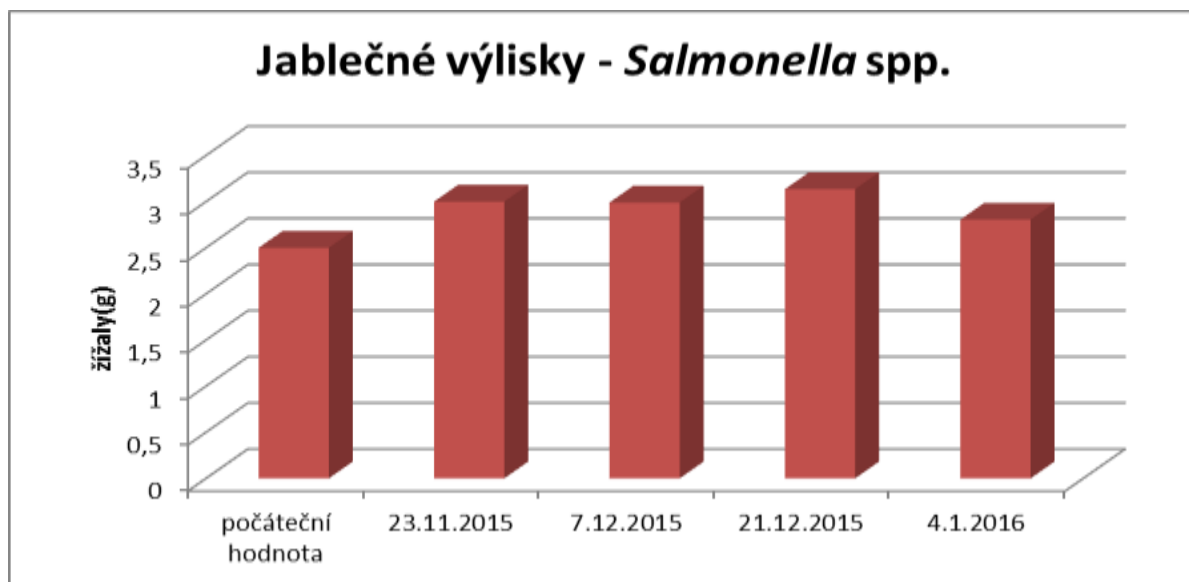
Graf 13. Průměrné hmotnosti žízal v průběhu pokusu



Tab. 16 Přehled průměrných hmotností žížal v jablečných výliscích s inokulem

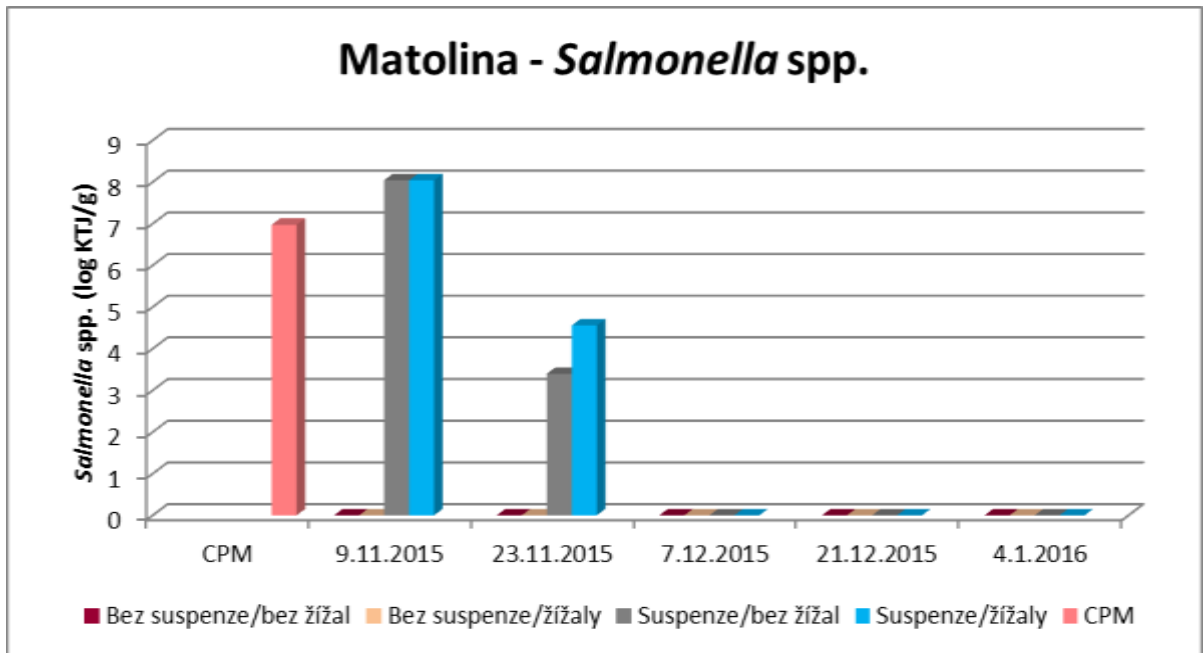
Jablečné výlisky – <i>Salmonella</i> spp.				
Počáteční hmotnost (g) 9. 1. 2015	23. 11. 2015	7. 12. 2015	21. 12. 2015	4. 1. 2016
2,5	3	2,9	3,1	2,8

Graf 14. Průměrné hmotnosti žížal v průběhu pokusu

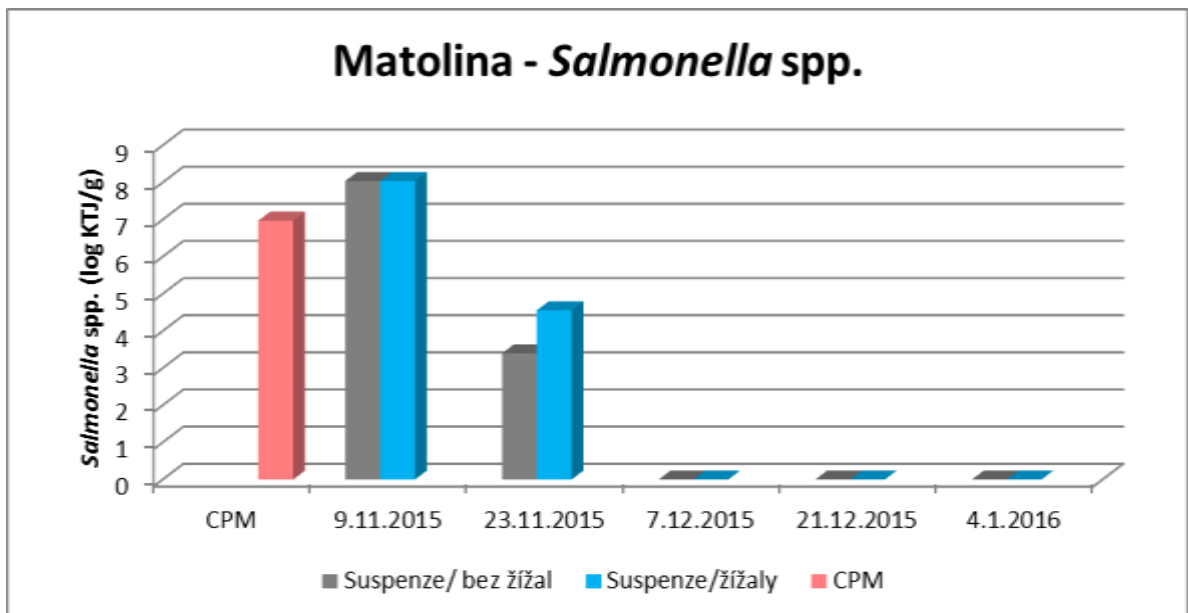


Do vybraných nádob s matolinou a jablečnými výlisky bylo na počátku pokusu uměle inokulováno $1,1 \cdot 10^8$ KTJ/g výchozí suspenze salmonely. Při počáteční analýze nebyla zjištěna přítomnost salmonely v původní matrici. Průběh redukce počtů salmonel je graficky zpracován v následujících grafech.

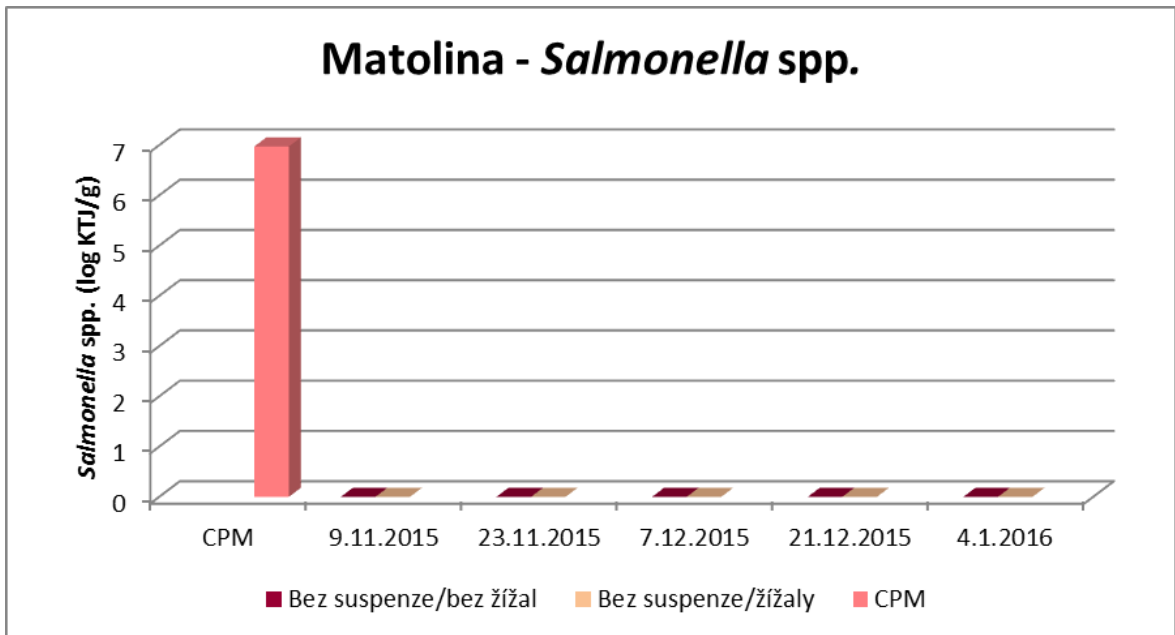
Graf 15. Přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. během vermikompostování matoliny



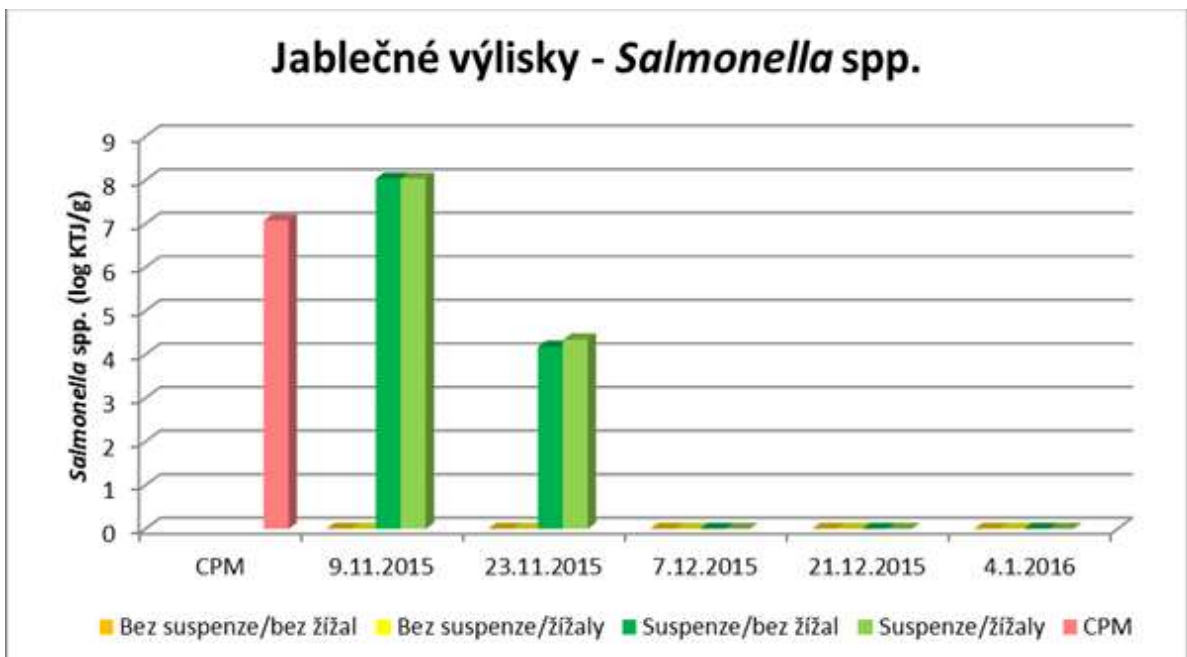
Graf 16. Přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. u inokulovaných vzorků během vermikompostování matoliny



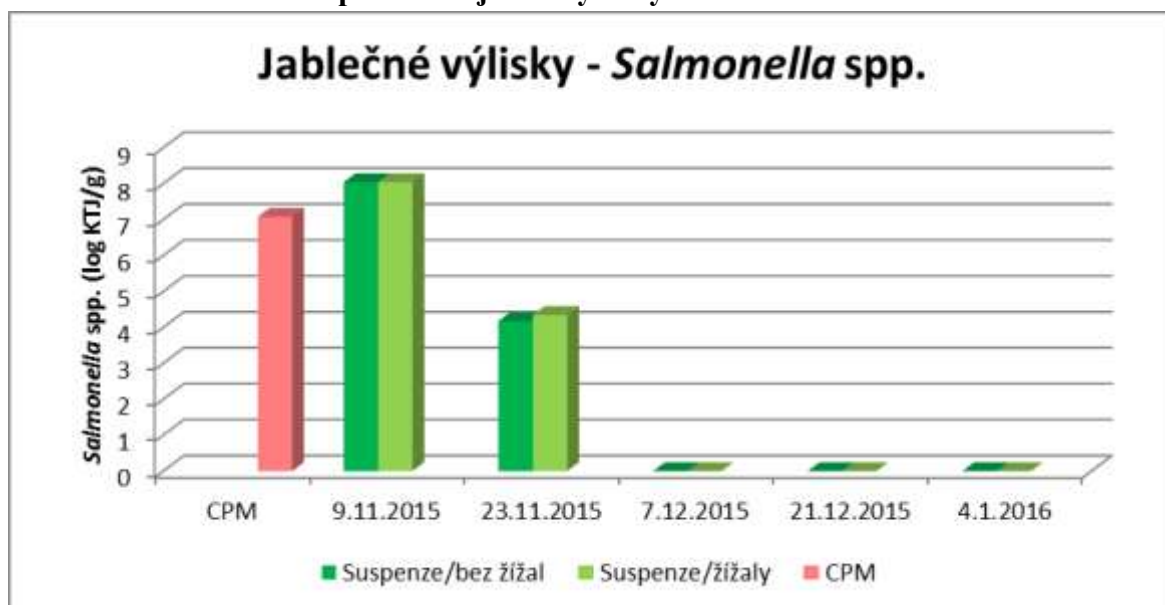
Graf 17. Přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. u neinokulovaných vzorků během vermikompostování matoliny



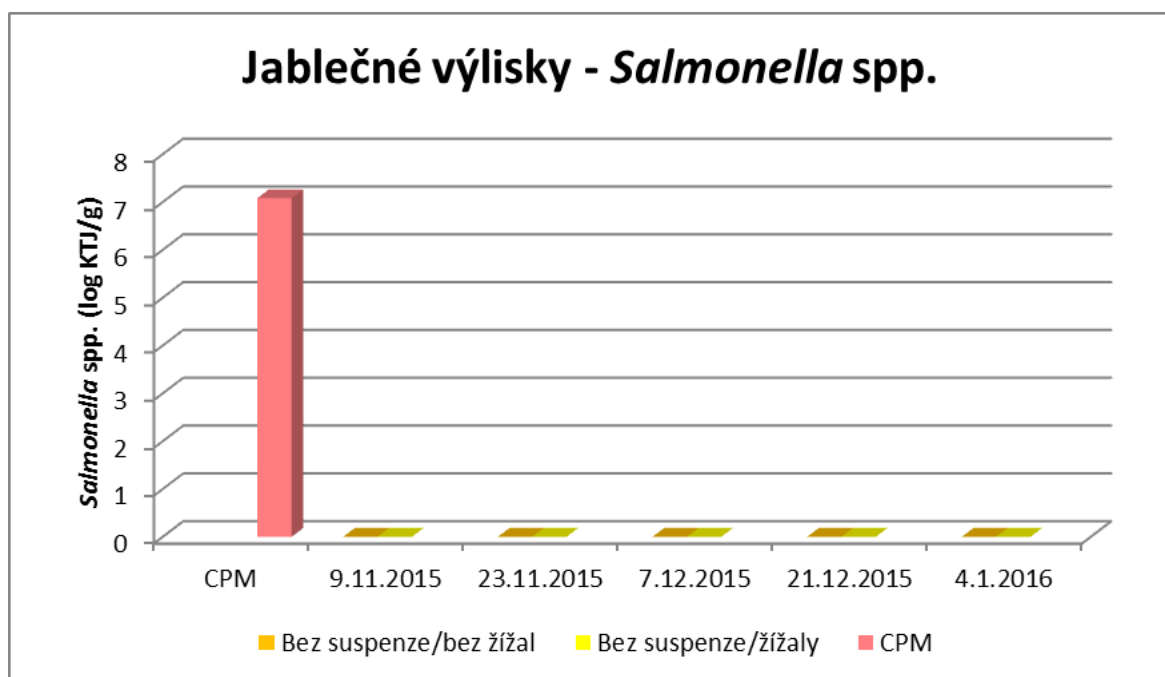
Graf 18. Přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. během vermikompostování jablečných výlisků



Graf 19. Přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. u inokulovaných vzorků během vermikompostování jablečných výlisků



Graf 20. Přežívání bakterií rodu *Salmonella* spp. u neinokulovaných vzorků během vermikompostování jablečných výlisků



V celém průběhu pokusu je možné pozorovat výrazný pokles počtů KTJ salmonel již v prvních 14. dnech, a to jak u nádobek se žížalami tak i u nádobek bez žížal. V inokulovaných vzorcích s matolinou bez žížal hodnoty počtů klesly na $2,5 \cdot 10^3$ KTJ/g a u nádobek s žížalami na $3,6 \cdot 10^4$ KTJ/g. V dalších týdnech nebyla přítomnost bakterií salmonel ve vzorcích zjištěna. Téměř stejný průběh měly i výsledky vzorků s jablečnými výlisky, které

se lišily pouze hodnotami poklesu sledovaných patogenů. U vzorku jablečných výlisků bez žížal bylo zjištěno $1,5 \cdot 10^4$ KTJ/g a u vzorku s žížalami $2,2 \cdot 10^4$ KTJ/g. Nádoby, které neobsahovaly inokulovací suspenzi, vykazovaly vždy hodnoty vstupní matrice.

Z uvedených výsledků (Tab. 12.) a z grafického zpracování (Graf 15., 16., 17., 18., 19., 20.) je zřejmé, že na úbytek bakterií rodu *Salmonella* spp. měl největší vliv samotný proces kompostování. Je velmi pravděpodobné, že žížaly neměly na redukci počtů bakterií vliv, a to vzhledem k tomu, že ke stejné redukci došlo i v nádobách, kde se žížaly nevyskytovaly.

Rozdíl v redukci u matoliny během prvních čtrnácti dnů pokusu nelze vysvětlit bez potřebných hodnot, které nebyly naměřeny. Jedná se např. o hodnoty pH a vlhkosti. Nicméně k totální redukci salmonel došlo již během 2. týdne stejně jako u jablečných výlisků.

Výskyt a hmotnost žížal ve vzorcích s matolinou se ve 4. týdnu pokusu u variant s inokulem (Graf 12., 16.) snížily a lze se proto domnívat, že na zjištěné výsledky bude mít zřejmě vliv nedostatek vlhkosti matrice.

6 Diskuse

Některé bakteriální kmeny a jejich geny jsou velmi odolné a rezistentní vůči antibiotikům a mohou tak představovat nebezpečí pro půdní mikroflóru a podzemní vody. Aby se zabránilo přenosu patogenů do životního prostředí, je nutné, aby biologický materiál určený jako hnojivo nebo zpracovaný jako kompost prošel hygienizací. Správné skladování, anaerobní digesce, provzdušňování nebo kompostování může mít za následek efektivní snížení počtu patogenů a zajistit tak mikrobiální bezpečnost. (Skowron et al., 2015). Je proto nezbytně nutné, zabývat se rizikem spojeným s přežíváním patogenních organismů v různých organických odpadech, které lze např. nesprávně připraveným kompostem vracet zpět do životního prostředí. Někteří autoři uvádějí, že vnesené bakterie přežívají v zemědělské půdě obvykle kratší dobu než 3 měsíce, pravděpodobně kvůli diverzitě půdních organismů nebo špatné adaptabilitě na okolní podmínky prostředí. Nicméně v některých případech při smísení kompostu se zemědělskou půdou se podpoří přežití patogenů při nízké teplotě a při vysoké vlhkosti (Tontti et al., 2011), a tak může dojít k šíření patogenů do potravního řetězce.

Wu et al. (2014) ve svém článku uvádí že, vermikompostování je kvalitnější proces v porovnání s kompostováním. Jak kompostování tak vermikompostování jsou považovány za vhodný způsob, jak přetvářet organický odpad ve kvalitní hnojivo. Vermikompostování je efektivnější z pohledu rozkladu organických látek na cenné živiny ve výsledném produktu.

Kromě toho, vermikompost je bohatý na vyšší koncentrace hormonů a enzymů, které by mohly stimulovat růst rostlin a odradit patogeny rostlin. Nicméně, nedávné studie ukázaly, že kombinace kompostování a vermikompostování je považováno za možný způsob, jak získat lepší a kvalitní hnojivo. Návrh kombinace obou systémů je založena na předpokladu, že kompostování umožňuje odstranění toxických látek a eliminaci patogenů, zatímco následné vermikompostování rychle snižuje velikost částic a zvyšuje dostupnost živin pro rostliny.

Proto se vermikompost jeví jako vynikající organominerální hnojivo a je namístě se zabývat touto problematikou spojenou s výskytem a eliminací patogenních mikroorganismů, které se po aplikaci vermikompostu jako hnojiva mohou dostat do půdy a následně mohou být přeneseny na rostliny.

Bylo jasně prokázáno, že složení druhů mikroorganismů a jejich aktivita se mění při průchodu střevy žířal (Edwards, et al., 2010). Málo studií však řeší specifické lidské patogeny a s nimi související bakterie rodu *Enterococcus*. Ve studii Edwards et al. (2010) bylo zjištěno, že ve většině sledovaných případů počet enterobakterií při průchodu střevy žířal poklesl.

Edwards et al. (2010) dále uvádí, že některé studie s *Lumbriculus rubellus* prokázaly, že problém je poměrně složitější a různé druhy mikroorganismů se nechovají stejně a ukazují se velmi rozdílné změny v redukci během průchodu střevy. Dle uvedené studie bylo prokázáno, že u *E.coli* byly sníženy koncentrace a naopak u *Enterobacter cloacae* zůstaly téměř neměnné.

Během vermikompostování organického odpadu, kterým se ve svých studiích zabýval Monroy et al. (2009), bylo zjištěno, že dochází k interakci epigeických druhů žířal a detritických mikrobiálních společenstev, které vedou k poklesu počtu potenciálně patogenních mikroorganismů. Edwards et al. (2010) ve svých pracích uvádí, že v Texasu došlo v produktech žířalího trávení, k naprosté eliminaci *Salmonella* spp., při čištění odpadních vod. Předcházel tomu 30ti denní termofilní rozklad a tento materiál byl poté použit pro založení vermikompostu. Vermikompostování probíhalo po dobu 6 měsíců s neustálým příkrmováním. Na konci pokusu analýzy vermikompostu neprokázaly přítomnost bakterií rodu *Salmonella* spp. Během řešení této diplomové práce došlo k naprosté eliminaci salmonel již ve 4 týdnů pokusu. Tato výrazná redukce patogenů byla pozorována jak u nádob se žířalami a u nádob bez žířal tak i u obou typů substrátů (Graf 16. a 19.). Z výše presentovaných výsledků (Tab. 12.) a z grafického zpracování (Graf 15., 16., 17., 18., 19., 20.) je zřejmé, že na úbytek bakterií rodu *Salmonella* spp. měl největší vliv samotný proces kompostování. Je velmi pravděpodobné, že žířaly neměly na redukci počtů bakterií vliv, a to vzhledem k tomu, že ke stejné redukci došlo i v nádobách, kde se žířaly nevyskytovaly.

Rozdíl v redukci salmonel u matoliny během prvních čtrnácti dnů pokusu (Graf 15., 16., 17.) nelze zřejmě vysvětlit bez parametrů, které nebyly naměřeny. Jedná se např. o hodnoty pH a vlhkosti, která je v případě matoliny rozhodující, jelikož dochází k jejímu rychlejšímu vysychání. Nicméně k totální redukci došlo již během 4. týdne pokusu stejně jako u jablečných výlisků (Graf 18., 19., 20.). Hodnoty pH na počátku pokusu dosahovaly hodnot 6,6 pro matolinu a 7,2 pro jablečné výlisky. Lze polemizovat s možností, že rozdíl v rychlosti redukce patogenu u obou substrátů mohl být způsoben právě změnami pH a následně vlhkostí a poměrem C:N. Hait and Tare (2011) uvádí, že vermikompostování způsobuje významné snížení pH, těkavých látek, celkového organického uhlíku, poměru C:N a výskytu patogenů. Podstatně zvyšuje elektrickou vodivost, celkový obsah dusíku a celkového obsah fosforu. Pro vermikompostování a přežití žížal *Eisenia fetida* je příznivá teplota 20 °C a vysoká vlhkost vzduchu. Dále pak Reynnells et al. (2014) poukazuje na statisticky zpracované výsledky analýz, při kterých bylo zjištěno, že poměr C:N a obsah vlhkosti může přispět k opětovnému růstu patogenních organismů, jako *Salmonella* spp. nebo *Escherichia coli* v hotovém kompostu. Jelikož z výsledků mého pokusu vyplývá, že proces eliminace patogenů probíhal téměř stejně u baněk bez žížal i s žížalami (Tab. 12, Graf 15., 18.) není jasné, zda k redukci došlo vlivem žížal nebo procesem kompostování.

Výsledky mé diplomové práce se úplně neztotožňují se všemi výsledky dříve uvedených studií. Výsledky mé práce se salmonelou (Graf 15. a 18., Tab. 12) potvrzuje studie Castro-Del Campo et al. (2010), která prezentuje pokus, kdy do vermikompostů byly inokulovány různé počáteční suspenze salmonely. Vermikompostovací směs měla počáteční vlhkost 30 % a inkubace probíhala po dobu 20 dnů. Salmonela v biomase klesla na nedetekovatelné hladiny a opakovaný růst nebyl prokázán. V našem případě také došlo k rychlému poklesu bakterií rodu *Salmonella* spp., ovšem naše výsledky ani výsledky studie Castro-Del Campo et al. (2010) nemohou s určitostí prokázat, zda redukce byla způsobena pouze žížalami. Pokles salmonel, jak vyplývá již z výše uvedeného, byl však zjištěn u více autorů. Lze se tudíž domnívat, že na pokles či eliminaci salmonel může mít činnost žížal vliv.

Jak již bylo dříve uvedeno, není redukce patogenů způsobená činností žížal jednoznačná a má na ni vliv mnoho faktorů (Edwards, et al., 2010). Tento fakt potvrdily pokusy s enterokoky, kdy došlo k jinému chování během vermikompostování. U salmonel došlo k rychlé redukci, avšak u enterokoků bylo zjištěno naprosto odlišné chování. Ke stejnému závěru došel ve svých pracích Fu (2016), který uvádí že, přítomnost žížal může během procesu kompostování zvýšit biomasu a mikrobiální činnost již v počáteční fázi, a tím

urychlit rozklad odpadu. Kromě toho, přítomnost žížal dle Fu et al. (2016) upravuje bakteriální a plísňovou rozmanitost, což může vést k rychlejší eliminaci patogenů.

Pokusy s enterokoky vykazaly vyšší rychlost redukce s žížalami nežli bez nich (Tab. 7), a to jak u matoliny (Graf 5., 6., 7.) tak i u jablečných výlisků (Graf 8., 9., 10.), a tak nelze, i když dochází k rychlejšímu poklesu počtů KTJ, s určitostí říci, že na pokles mají vliv pouze žížaly. Velký vliv na pomalejší redukci patogenů mohla mít i vlhkost, jelikož matolina, u které byl zaznamenán pomalejší průběh redukce, snadněji podléhala vysychání nežli jablečné výlisky. Právě u jablečných výlisků, kde nebyla přidána suspenze (Graf 10.), ale enterokoky byly v počáteční matici zjištěny a byla patrná vlhkost i vizuálně, byl pozorován vliv žížal již v prvních 14. dnech pokusu, kde došlo k totální redukci patogenů. Tam kde byla přidána suspenze (Graf 9.) je patrné, že žížaly zřejmě měly pozitivní vliv na rychlost redukce počtů enterokoků, i když probíhala pomaleji. K totální redukci došlo, až v 6. týdnu tj. téměř na konci pokusu. Ve studii Kim and Jiang (2010) bylo zjištěno, že pro zabránění růstu patogenů je vhodné, udržovat kompost pouze tak vlhký (spíše sušší), aby přežila původní mikroflóra. To je ale v rozporu s podmínkami, které vyžadují žížaly.

Vliv podmínek na kompostování byl studován několika autory (Brochier et al., 2012; Erickson et al., 2015a; McCarthy et al., 2015; Klein et al., 2011). Přestože se jednalo o kompostování a ne vermikompostování, je možné některé závěry prací použít. Ve studii Kleina et al. (2011) bylo sledováno chování vybraných patogenů (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, enterokoky, koliformní bakterie, bakterie *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*) během kompostování chlévské mrvy a hnoje a během jejich uskladnění. Bylo zjištěno, že na přežívání uvedených patogenů mělo vliv mnoho parametrů. Kromě teploty a poměru C:N byl zjištěn vliv druhu matrice (chlévká mrva, hnůj, slepičí kejda a pod), a pH. Na základě výsledků mé práce je možné také konstatovat, že na změně počtů patogenů se podílely jiné faktory než pouze činnost žížal.

Další prací, která dokládá, že na redukci patogenů má vliv vermikompostování je studie zaměřená na reaktory s kontinuálním přikrmováním (dále jen vermireaktory). Aira et al. (2011) studoval, zda je možné procesem vermikompostování ve vermireaktorech snížit patogenní zatížení u kravského hnoje. Potvrdil, že eliminace patogenů pomocí *Eisenia andrej* závisí na druhu patogenu. Klostridia, některé termotolerantní koliformní bakterie nebyly eliminované, ale enterokoky, fekální koliformní bakterie a *Escherichia coli* byly sníženy na přijatelnou úroveň. Patogeny mohly ve vermikompostu přetrvávat z důvodu kontinuální dodávky čerstvého hnoje. Plnění substrátem bylo realizováno do horní vrstvy, která umožňuje vertikální šíření patogenů prostřednictvím vyplavování. Během mého pokusu tento případ

nemohl nastat, protože nový substrát během pokusu přidáván nebyl a vlhkost prostředí byla udržována pouze kapkovou závlahou, z tohoto důvodu k vyplavování patogenů nemohlo dojít.

Všeobecně je známo, že bakterie rodu *Enterococcus* jsou velmi odolné, a to nejen vůči teplotě, pH a chemickým látkám. K tomuto závěru došel i Skowron et al. (2015), který uvádí že, některé bakteriální kmeny (lidské patogeny) jsou geneticky velmi odolné. Významná je ale i jejich odolnost vůči antibiotikům. Tyto bakteriální kmeny mohou být snadno přeneseny do půdní mikroflóry. Aby se zabránilo přenosu patogenů do prostředí, je nezbytné (např. u kejdy) zvolit takové metody zpracování odpadu, aby došlo k hygienizaci.

Přežití *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus spp.* a termotolerantní koliformních bakterií za teploty 14 °C, 24 °C a 37 °C bylo stanoveno u vermikompostu, kde vstupní surovinou byl různý domovní odpad a hnůj. K inaktivaci obecně došlo až po dlouhé době zrání kompostovaného materiálu (Elving et al., 2010). Pro porovnání výsledků diplomové práce je třeba uvést, že celková doba pokusu byla velmi krátká (10 týdnů) a nelze tak zjistit, zda by došlo k totální eliminaci bakterií rodu *Enterococcus* i v následujících týdnech po delší době zrání. Další studie, která poukazuje na přežívání patogenních organismů (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella Infantis* a fekálního ukazatele *Enterococcus faecalis*) v kompostu v různých fázích kompostování a během skladování byla publikována Panielem et al. (2010). Mikroorganismy byly inokulovány do vzorků s kompostem v různých fázích kompostovacího procesu. Během inkubace byla původní bakteriální rozmanitost sledována pomocí DGGE analýzy. Po 90 dnech inkubace, bylo pozorováno přežití uvedených bakteriálních kmenů ve vzorcích kompostu, a to před začátkem fáze, kdy dochází k poklesu teploty. DGGE analýzy prokázaly že, po této fázi poklesu teploty se zvyšuje mikrobiální rozmanitost. Nicméně, inokulované kmeny nebyly ve vzorcích s kompostem zjištěny po 30, 60 nebo 90 dnech inkubace po začátku poklesu teploty. Mikrobiální rozmanitost byla také stále stabilní a DGGE profily v této fázi dosáhly maximálního počtu pásem. Přežití kmenů ale nebylo pozorováno ve stabilizovaném kompostu. Fáze poklesu teploty se zdá být zlomovým bodem pro přežití patogenu a původní mikroflóra zde hraje významnou v potlačení patogenů. Vzhledem k tomu, že náš pokus trval 70 dní, lze se domnívat, že k podobné eliminaci docházelo i v průběhu našeho pokusu. V případě enterokoků u jablečných výlisků docházelo k eliminaci patogenů až po uplynutí celkové doby pokusu (Graf 8. a 9.). U inokulovaného vzorku matoliny bez žížal k totální eliminaci však ani nedošlo (Graf 6.). Nelze tak dokázat, zda by v průběhu delší doby zrání došlo k opětovnému pomnožení. Během celé práce nebyly měřeny jiné parametry, jako je např. původní půdní diverzita, která mohla mít vliv na úbytek enterokoků. Analýza CPM

proběhla pouze na počátku pokusu. V případě salmonely doba trvání pokusu nehrála významnou roli. *Salmonella* spp. byla ve všech vzorcích eliminována již 8 týden pokusu.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, zda má proces kompostování a žížaly samotné vliv na redukci počtů sledovaných patogenních mikroorganismů, které mohou být nebezpečné nejen člověku. Vstupními surovinami pro kompostování byly jablečné výlisky a matolina. Ze získaných výsledků během řešení diplomové práce bylo zjištěno že:

- během pokusů došlo ke snížení koncentrace sledovaných patogenů (salmonel i enterokoků) (Tab. 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16 a v Grafu 1., 2., 3., 4., 11., 12., 13., a 14),
- nelze s určitostí prokázat, že k redukci sledovaných patogenů došlo činností žížal,
- žížaly mohou ovlivnit rychlost průběhu redukce počtů patogenních organismů (Tab. 7 a 12) avšak, aby bylo prokázáno, že dochází k naprosté redukci patogenů činností žížal, je nutné sledovat mnoho dalších parametrů ovlivňující tento proces. Mezi sledované parametry je třeba zařadit sledování doby vermikompostování a zrání vermikompostu, sledování pH, teploty, poměru C:N a vlhkosti substrátu a koncentrace ostatních mezofilních organismů na začátku i během kompostování,
- počáteční koncentrace a druhy patogenů mohou významně ovlivňovat množství (hmotnost a množení) žížal v pokuse (Tab. 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15 a 16),
- rychlost a redukce patogenů byly závislé jak na druhu patogenu tak na substrátu. Proces redukce patogenů za přítomnosti žížal ve vzorcích s inokulovanými enterokoky probíhal vždy rychleji (Graf 6., a 9.) U neinokulovaných vzorků s matolinou byl úbytek stejný jak u vzorků se žížalami tak bez žížal (Graf 7.) a u vzorků s jablečnými výlisky byl opět prokázán vliv žížal, kde proces redukce za jejich přítomnosti probíhal rychleji (Graf. 10). Z výsledků pro bakterie rodu *Salmonella* spp. je zřejmé že žížaly neměly na redukci téměř žádný vliv. a to vzhledem k tomu, že úbytky ve vzorcích bez umělé inokulace i s inokulací byly téměř totožné,
- na redukci patogenů má vliv vstupní substrát, a to zřejmě z hlediska poměru C:N, celkového složení, pH, vlhkosti,
- doba, po kterou pobíhal pokus, byla pro úplnou eliminaci počtů enterokoků krátká. Během pokusu s enterokoky nebylo možno zjistit, zda má činnost žížal rodu *Eisenia* na

redukcí enterokoků tak výrazný vliv, nebo zda se na redukcí podílí jiné faktory, např. počáteční koncentrace enterokoků,

- vliv žížal na redukcí bakterií rodu *Salmonella* spp., nelze považovat za prokazatelný, protože stejné redukce i stejné rychlosti redukce bakterií bylo dosaženo v nádobkách, kde žížaly přítomny nebyly (graf č. 7 a 11),
- bylo ověřeno, že je nutné, aby před vermikompostováním proběhla částečná hygienizace formou předkompostování, která svými teplotami redukuje patogenní mikroorganismy a zajistí tak příznivější podmínky pro žížaly. V substrátu matolína byly zjištěny již na počátku koncentrace autochtonních enterokoků a jejich vliv se zřejmě projevil na rychlosti redukce i vyšší koncentraci enterokoků na konci pokusu,
- nelze s určitostí říci, zda by v případě sledování redukce enterokoků činností žížal po delší době došlo k totální redukci patogenů nebo opětovnému namnožení (časové omezení pokusu - od 9. 11. 2015 do 4. 1. 2016).

Výsledky této diplomové práce jsou součástí projektu, který v současné době řeší škola. Proto design pokusů byl předem stanoven. Z tohoto důvodu nebylo možné ovlivnit uspořádání a časový harmonogram pokusu.

Pro další pokusy by bylo vhodné znát parametry výchozího materiálu, které v této práci chybí a nebylo v možnostech řešitele je zjistit. V dalším případném pokračování řešení této problematiky by bylo vhodné, aby pokusy pro přežívání patogenů byly nadále prováděny v perforovaných baňkách, ale bylo by vhodné je umístit přímo do vermikompostéru pro zachování vnějších přirozených podmínek a tím i udržení vlhkosti jednotlivých matric. Řešení diplomové práce bylo omezeno časově, jak datem zadání, tak ukončením. V mnoha studiích je prokázáno, že po ukončení kompostování a vermikompostování může docházet k opětovnému pomnožení patogenních mikroorganismů. Tuto skutečnost pro časový limit nebylo možné ověřit. Pro reprodukovatelnost výsledků a poznatků z řešené diplomové práce by bylo vhodné celý pokus provést ve více opakování a s delší dobou trvání (u pokusu s matolínou nedošlo k vymizení enterokoků ani po 4 týdnech).

Pro vysvětlení různého chování patogenů a matric by bylo vhodné doplnit pokusy o měření dalších veličin jako je: pH, teplota, vlhkost, vodivost aj., a to i pro získání průkaznějších výsledků.

Vermikompost je pro své velmi dobré vlastnosti, které jsou přínosem pro půdu a rostliny, v současné době často vyhledáván. Avšak hlavní překážkou pro rozsáhlejší rozšíření vermikompostování jako alternativního zpracování organických odpadů je nedostatek

vědeckých informací o potenciálu, který má pro snížení lidských patogenů v průběhu vermikompostování odpadní biomasy nebo zvířecího trusu. Z tohoto důvodu doporučuji pokračovat v pokusech, které by více objasnily problematiku redukce patogenů ve vermikompostech a pomohly tak doplnit podklady pro vyhlášky, které by měly upravovat nakládání s vermikompostem a zároveň zohlednily riziko spojené s eliminací patogenů ve výše uvedených substrátech, jelikož není zcela zaručeno, že dochází při vermikompostování k dostatečné hygienizaci.

Hypotéza, zda má vermikompostovací proces schopnost redukovat počty enterokoků a bakterií rodu *Salmonella* spp. i přes to, že je zde hygienizace bioodpadu vysokou teplotou vyloučena z důvodu nebezpečí úhynu žížal se potvrdila pouze částečně. Během řešení bylo zjištěno, že proces je komplikovanější než se při stanovení hypotézy předpokládalo, a že se na vlivu redukce patogenů podílí daleko více faktorů než samotné žížaly. Tato skutečnost bude muset být respektována při dalším řešení daného problému.

8 Seznam použitých zkratk a symbolů

FAPPZ – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

KTJ – kolonie tvořící jednotku

N, K, P – Dusík, Draslík, Fosfor

UV záření – ultrafialové záření

SZÚ – Státní zdravotní ústav

TKB – termotolerantní koliformní bakterie

ČOV – čistírna odpadních vod

GI – gastrointestinální

CO₂ – oxid uhličitý

H₂O – voda

O₂ – vzduch

N – dusík

P₂O₅ – oxid fosforečný

K₂O – oxid draselný

CaO – oxid vápenatý

MgO – oxid hořečnatý

ČR – Česká republika

VŽP – Vedlejší produkt živočišné výroby

BRO – biologicky rozložitelný odpad

MZ – Ministerstvo zemědělství

MŽP – Ministerstvo životního prostředí

ČSN - Česká státní norma

EN – Evropská norma

ISO – International Organization for Standardization (mezinárodní organizace pro normalizaci)

PCR – Polymerázová řetězová reakce

DGGE - denaturace gradient gel electrophoresis (gelová elektroforeza využívající gradient denaturačního činidla)

XLT – xyloso-lysin-tergitol agar

9 Použitá literatura

Abbasi, T., Gajalakshmi, S., Abbasi, S. A. 2009. Towards modeling and design of vermicomposting systems: Mechanisms of composting/vermicomposting and their implications. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol 8, 2009, 177 – 182 s.

Adi, A.J., Noor, Z.M. 2009. Waste recycling: Utilization of coffee grounds and kitchen waste in vermicomposting. *Institute of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Malaya, Malaysia*. p. 1027 – 1030.

Aira, M., Gómez-Brandón, M., González-Porto, P., Domínguez, J. 2011. Selective reduction of the pathogenic load of cow manure in an industrial-scale continuous-feeding vermireactor. *Bioresource technology*. 102 (20). 3-7.

Akdeniz, N., Koziel, J. A., Ahn, H.-K., Glanville, T. D., Crawford, B. P. 2010. Field scale evaluation of volatile organic compound production inside biosecure swine mortality composts. *Waste management (New York, N.Y.)*. 30 (10). 8-10.

Briones, M. J. I., Morán, P., Posada, D. 2009. Are the sexual, somatic and genetic characters enough to solve nomenclatural problems in lumbricid taxonomy?. *Soil Biology and Biochemistry*, 41: 2257 – 2271.

Brochier, V., Gourland, P., Kallassy, M., Poitrenaud, M., Houot, S. 2012. Occurrence of pathogens in soils and plants in a long-term field study regularly amended with different composts and manure. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 160 (SI). 91-98.

Castro-Del Campo, N., Espinoza, E., Valdez-Torres, J. B., Gerba, C. P., Chaidez, C. 2010. Comparison of *Salmonella enterica* subsp *enterica* Survival in Agricultural Soil Amended with Vermicompost and Class A Biosolids. *Journal Of Residuals Science & Technology*. 7 (2). 81-85.

ČSN-46-5735. Průmyslové komposty. 1996. Český normalizační institut. Praha. 31 s.

Diao, J., Chen, Z., Gong, Ch., Jiang, X. 2015. Factors Affecting Pathogen Survival in Finished Dairy Compost with Different Particle Sizes Under Greenhouse Conditions. *Foodborne pathogens and disease*. 12 (9). 49-58.

Domínguez, J., Edwards, C. A. 2004. Vermicomposting organic waste: A review. In: Sshakir Hanna, S. H., Mikhail, W. Z. A. (Eds.) *Soil Zoology for Sustainable Development in the 21 st Century*, PCD, Cairo, 370-373 pp.

Dominguez, J., Edwards, C. A. 2011. Relationships between Composting and Vermicomposting. In: Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Sherman, R. (ed.). Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. CRC Press, Taylor and Francis Group. Boca Raton. p. 11-25. ISBN: 978-1-4398-0987-7.

Dvorak, J., Mancikova, V., Pizl, V., Elhottova, D., Silerova, M., Roubalova, R., Skanta, F., Prochazkova, P., Bilej, M. 2013. Microbial Environment Affects Innate Immunity in Two Closely Related Earthworm Species *Eisenia andrei* and *Eisenia fetida*. Plos One. 8 (11). 45-49.

Edwards, C. A., Bohlen, P. J. 1996. Biology and Ecology of Earthworms, Chapman and Hall. London. p. 283.

Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Sherman, R. 2010. Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management. Taylor and Francis Group. Boca Raton. p. 601. ISBN 978-1-4398-0987-7.

Elving, J., Ottoson, J. R., Vinneras, B., Albihn, A. 2010. Growth potential of faecal bacteria in simulated psychrophilic/mesophilic zones during composting of organic waste. Journal Of Applied Microbiology. 108 (6). 1974-1981.

Erickson, M. C., Liao, J., Ma, L., Jiang, X. Doyle, M. P. 2014. Thermal and Nonthermal Factors Affecting Survival of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in Animal Manure-Based Compost Mixtures. Journal Of Food Protection. 77 (9). 1512-1518.

Erickson, M. C., Smith, C. Jiang, X. P., Flitcroft, I. D., Doyle, M. P. 2015a. Manure Source and Age Affect Survival of Zoonotic Pathogens during Aerobic Composting at Sublethal Temperatures. Journal Of Food Protection. 78 (2). 302-310.

Erickson, M. C., Smith, C., Jiang, X. P., Flitcroft, I. D., Doyle, M. P. 2015b. Survival of *Salmonella* or *Escherichia coli* O157:H7 during Holding of Manure-Based Compost Mixtures at Sublethal Temperatures as Influenced by the Carbon Amendment. Journal Of Food Protection. 78 (2). 248-255.

Guild, W. J. 1948. Studies on the relationship between earthworms and soil fertility. III. The effect of soil type on the structure of earthworm populations. *Annals of Applied Biology*, 35: 181 – 192.

Hait, S., Tare, V. 2011. Vermistabilization of primary sewage sludge. *Bioresource Technology*. 102 (3). 2812-2820.

Hanajima, D., Aoyagi, T., Hori, T. 2015. Survival of free-living *Acholeplasma* in aerated pig manure slurry revealed by C-13-labeled bacterial biomass probing. *Frontiers In Microbiology*. 6 (1206).

Hanč, A., Plíva, P. 2013. Vermikompostování bioodpadu (certifikovaná metodika). Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 35 s. ISBN: 978-80-213-2422-0.

Hendrix, P. F., Mueller, B. R., Bruce, R. R., Langdale, G. W., Parmelee, R. W. 1992. Abundance and distribution of earthworms in relation to land space factors on the Georgia Piedmont, U.S.A. *Soil Biology and Biochemistry*, 24: 1357 – 1361.

Ishii, K., Takii, S. 2003. Comparison of microbial communities in four different composting processes as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Jornal of applied microbiology* vol. 95, issue 1, 109-119. ISSN: 1364-5072.

Jelínek, A., Kollárová, M. Monitorování průběhu kompostovacího procesu. [online]. Praha: Výzkumný ústav zemědělské techniky, 2004 [cit. 18. března 2016]. Dostupné z <<http://www.vuzt.cz/doc/clanky/zivotniprostredi/0412kompomonitor.pdf?menuid=159>>.

Jung, P., Vítěz, T., Vítězová, M., Geršl, M. 2015. Technika pro zpracování odpadů II. Mendelova univerzita v Brně. Brno. 77 s. ISBN 978-80-7509-208-3

Kalina, M. 2004. Kompostování a péče o půdu 2., upravené vydání. Grada Publishing, a.s.. Praha. 116 s. ISBN 80-247-0907-4

Kara, J., Pastorek, Z., Jelínek, A. 2002. Kompostování zbytkové biomasy. Biom.cz [online]. 2002-01-31 [cit. 2016-03-11]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/kompostovani-zbytkove-biomasy>>. ISSN: 1801-2655.

Kim, J., Jiang, X. 2010. The growth potential of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in dairy manure-based compost in a greenhouse setting under different seasons. *Journal of applied microbiology*. 109 (6). 95-104.

Klein, M., Brown, L., Ashbolt, N. J., Stuetz, R. M., Roser, D. J. 2011. Inactivation of indicators and pathogens in cattle feedlot manures and compost as determined by molecular and culture assays. *FEMS microbiology ecology*. 77 (1). 34 – 39.

Kuncová, L., Kučerová, S. *Salmonella* [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 23. listopadu 2014. [cit. 2016-03-27]. Dostupné z <http://biomikro.vscht.cz/vyuka/znp/Salmonella.pdf>

Lebreton, F. Willems, R. J. L. Gilmore, M. S. *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. [online]. Massachusetts Eye and Ear Infirmary. 2014. [cit.18.3.2016]. Dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/>.

Losos, B., Maget J., Ryšavý J. 1984. *Ekologie živočichů*. SPN Praha.

Ludwig, W., Schleifer, K.H., Whitman, W.B. 2009. Family IV. *Enterococcaceae* fam.nov. In: Whitman W.B. a kol. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic bacteriology*, 594-607. Springer, New York.

Luthardt, V., Brauner, O., Dreger, F., Friedrich, S., Garbe, H., Hirsch, A. K., Kabus, T., Krüger, G., Mauersberger, H., Meisel, J., Schmidt, D., Täuscher, L., Vahrson, W. G., Witt, B., Zeidler, M. 2006. *Methodenkatalog zum Monitoring – Programm der Ökosystemaren Umweltbeobachtung in den Biosphärenreservaten Brandenburgs*. 4. akt. Ausgabe, unveröff., im Auftrag des Landesumweltamt Branderburg, FH – Eberswalde, Teil A 177 S. + Anhang; Teil B 134 S. + Anhang.

Mahawar, M., Singh, A., Jalgaonkar, K. 2012. Utility of apple pomace as a substrate for various products: A review. *Food and Bioprocess Technology*. 2012 (90). 597-605.

Maynard. A. A. 2000. Compost: the process and research. *Bulletin-Connecticut Agricultural Experiment Station*. USA. p. 13.

McCarthy, G., Lawlor, P. G., Gutierrez, M., O'Sullivan, L., Murphy, A., Zhan, X. M., Gardiner, G. E. 2015. *Journal Of Environmental Science And Health Part B-Pesticides Food Contaminants And Agricultural Wastes*. 50 (2). 135-145.

Millner, P., Ingram, D., Mulbry, W., Arkan, O. A. 2014. Pathogen reduction in minimally managed composting of bovine manure. *Waste Management*. 34 (11). 1992-1999.

Monroy, F., Aira, M., Domínguez, J. 2009. Reduction of total coliform numbers during vermicomposting is caused by short-term direct effects of earthworms on microorganisms and depends on the dose of application of pig slurry. *Science of the total environment*. 407 (2009). 5411-5416.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 ze dne 21. října 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).

Olsen, J.E. 2005. *Studies of zoonotic Salmonellae - taxonomy, detection, typing and pathogenesis*. The Royal Veterinary and Agricultural University. Denmark. p. 146. ISBN 87-7611-089-3

Paniel, N., Rousseaux, S., Gourland, P., Poitrenaud, M., Guzzo, J. 2010. Assessment of survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Infantis* and *Enterococcus faecalis* artificially inoculated into experimental waste or compost. *Journal of applied microbiology*. 108 (5). 797-809.

Pižl, V. 2002. Žižaly České republiky. *Sborník přírodovědeckého klubu v Uherském Hradišti*, 154 s.

Pižl, V. Co dělají žížaly v zimě? [online]. 6. prosince 2010. [cit. 2011-03-13]. Dostupné z <http://www.prakticky-zivot.cz>.

Plíva, P., Banout, J., Habart, J., Jelínek, A., Kollárová, M. 2006. Zakládání, průběh a řízení kompostovacího procesu. Výzkumný ústav zemědělské techniky, Praha. 65 s. ISBN 80-86884-11-2.

Pommeresche, R., Sissel, H., Loes, A.K. 2010. Žížaly a jejich význam pro zlepšování kvality půdy. Bioinstitut, Olomouc, 24 s. ISBN: 978-80-87371-02-2.

Reynnells, R., Ingram, D. T., Roberts, C., Stonebraker, R., Handy, E. T., Felton, G., Vinyard, B. T., Millner, P. D., Sharma, M. 2014. Comparison of U.S. Environmental Protection Agency and U.S. Composting Council Microbial Detection Methods in Finished Compost and Regrowth Potential of Salmonella spp. and Escherichia coli O157:H7 in Finished Compost. Foodborne Pathogens And Disease. 11 (7). 555-567

Schütz, K., Nagel, P., Dill, A., Scheu, S. 2008. Structure and functioning of earthworm communities in woodland flooding systems used for drinking water production. Agriculture, ecosystems and environment, 39: 342 – 351.

Singh, R., Kim, J., Jiang, X. 2012. Heat inactivation of Salmonella spp. in fresh poultry compost by simulating early phase of composting proces. JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY. 112 (5). 927-935.

Sinha, R. K., Valani, D., Soni, B. K., Chandran, V. 2011. Earthworm Vermicompost: A Sustainable Alternative to Chemical Fertilizers for Organic Farming. Nova Science Publishers, Inc. New York. p. 71. ISBN: 978-1-61122-580-8.

Skowron, K., Bauza-Kaszewska, J., Kaczmarek, A., Budzynska, A., Gospodarek, E. 2015. Microbiological aspects of slurry management. Postepy mikrobiologii. 54 (3). 235-249.

Sulzberger, R. 1996. Kompost, půda, hnojení. Priroda. Bratislava. 99 s. ISBN: 8007008373

Švec, P., Sedláček, I. 2006. Novinky v taxonomii enterokoků. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), Praha: Centrum epidemiol. a mikrobiol. SZÚ. roč. 15, 3-4, s. 137-138. ISSN 1211-7358.

Švec, P., Devriese, L.A. 2009. Genus I. Enterococcus. In: Whitman W.B. a kol. (eds.), Bergey's Manual of Systematic bacteriology, 594-607. Springer, New York.

Tiquia, S. M., Tam, N. F. Y. 1998. Composting of spent pig litter in turned and forced-aerated piles. Environmental Pollution 99 (1998) 329-337

Tomlin, A. D., Shipitalo, M. J., Edwards, W. M., Protz, R. 1995. Earthworms and their influence on soil structure and infiltration. Lewis Publisher, Boca Raton, FL, 159 – 183.

Tontti, T., Tanski, H. H., Karinen, P., Reinikainen, O., Halinen A. 2011. Maturity and hygiene quality of composts and hygiene indicators in agricultural soil fertilised with municipal waste or manure compost. Waste Management and Research. 197 – 207.

Váňa, J. Kompostování odpadů. [online]. Praha: CZ Biom, 14. ledna 2002 [cit. 15. září 2015]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz-bioodpady-a-kompostovani/odborne-clanky/kompostovani-odpadu>>. ISSN 1801-2655.

Váňa, J., Kotoulová, Z. 2001. Příručka pro nakládání s komunálním bioodpadem. Ministerstvo životního prostředí ve spolupráci s Českým ekologickým ústavem. Praha. ISBN: 80-7212-201-0.

Váňa, J., Hanč, A., Habart, J. 2009. Pevné odpady. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 190 s. ISBN: 978-80-213-1992-9.

Vojtěchová, A., Hodek, T. 2007. Naše BIOodpady: Miss kompost a nulový odpad. Občanské sdružení Ekodomov. Praha. 37 s. ISBN: 9788090355941.

Vrba, V., Huleš, L. 2007. Humus – půda – rostlina (10) Způsoby aplikace kapalných humusových preparátů v polních podmínkách. Dostupné z <http://www.biom.cz/cz/odborne-clanky/humus-puda-rostlina-10-zpusoby-aplikace-kapalnych-humusovych-preparatu-v-polnich-podminkach>, 11.9.2010.

Wichuk, K. M., Tewari, J. P., McCartney, D. 2011. Plant Pathogen Eradication During Composting: A Literature Review. *Compost science & utilization*. 19 (4). 244-266.

Wu, T. Y., Lim, S. L., Lim, P. N., Shak, K. P. Y. 2014. Biotransformation of Biodegradable Solid Wastes into Organic Fertilizers using Composting or/and Vermicomposting. *Chemical Engineering Transactions*. 39 (8). 1579-1584.

Zajonc, I., 1992: Chov žížal a výroba vermikompostu, Povoda: Animapress, 20, 24, 49 p.

Zákon č. 185/2001 Sb. ze dne 15. května 2001 o odpadech a o změně některých dalších zákonů.

Zákon č. 263/2014 Sb., kterým se mění zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), ve znění pozdějších předpisů.

Internetové zdroje:

<http://www.bioquell.com/>

<http://sciencelife.uchospitals.edu/>

<http://www.salmonella.org/>

www.hgf10.vsb.cz

<http://www.ekonakup.cz/>

www.archive.constantcontact.com

www.vuzt.cz

www.naturespot.org

10 Přílohy

Obr. 1 Odběr žížal a matrice na stanici Červený újezd



Obr. 2 Homogenizace materiálu



Obr. 3 a 4 Zhomogenizované matrice a žížaly používané pro pokus

Matolina

Jablečné výlisky



Obr. 5 Příprava nádob na plnění substrátem



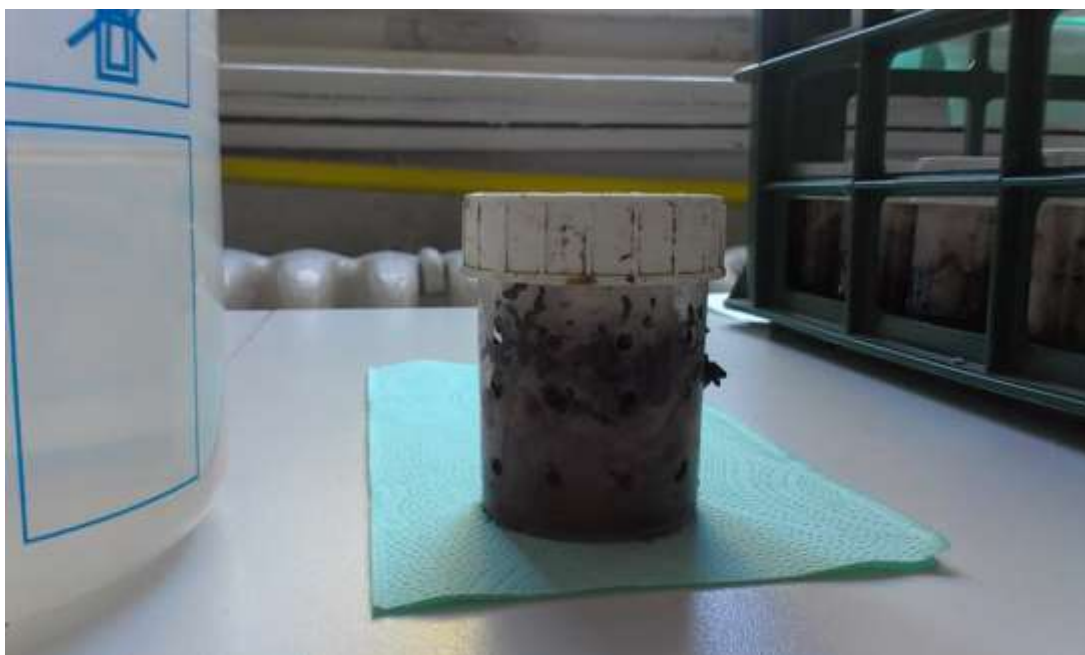
Obr. 6 a 7 Plnění nádob substrátem



Obr. 8 Nádoba s pískem obsahující inokulované nádoby



Obr. 9 a 10 Nádoba před analýzou s viditelným koproliem



Obr. 11 **Obsah nádoby před analýzou**



Obr. 12 **Laboratorní pomůcky a nádoby potřebné k vážení a ředění**



Obr. 13 Homogenizátor



Obr. 14 Příprava Petriho misek na inokulaci



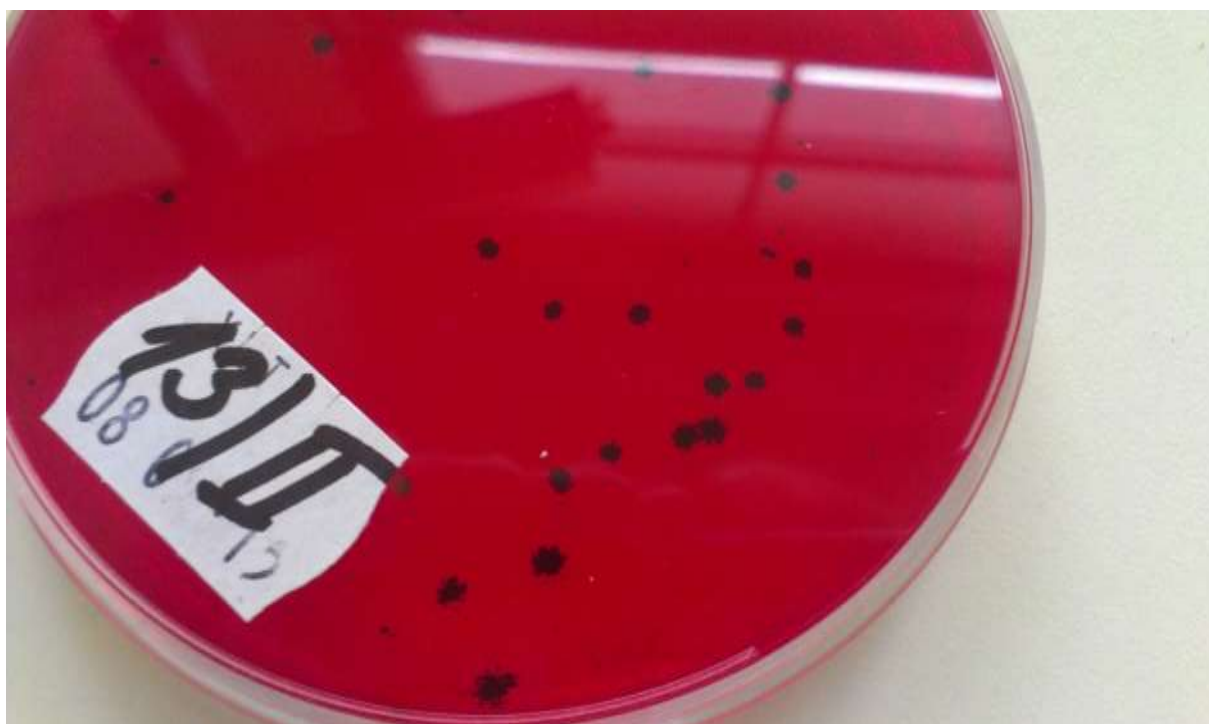
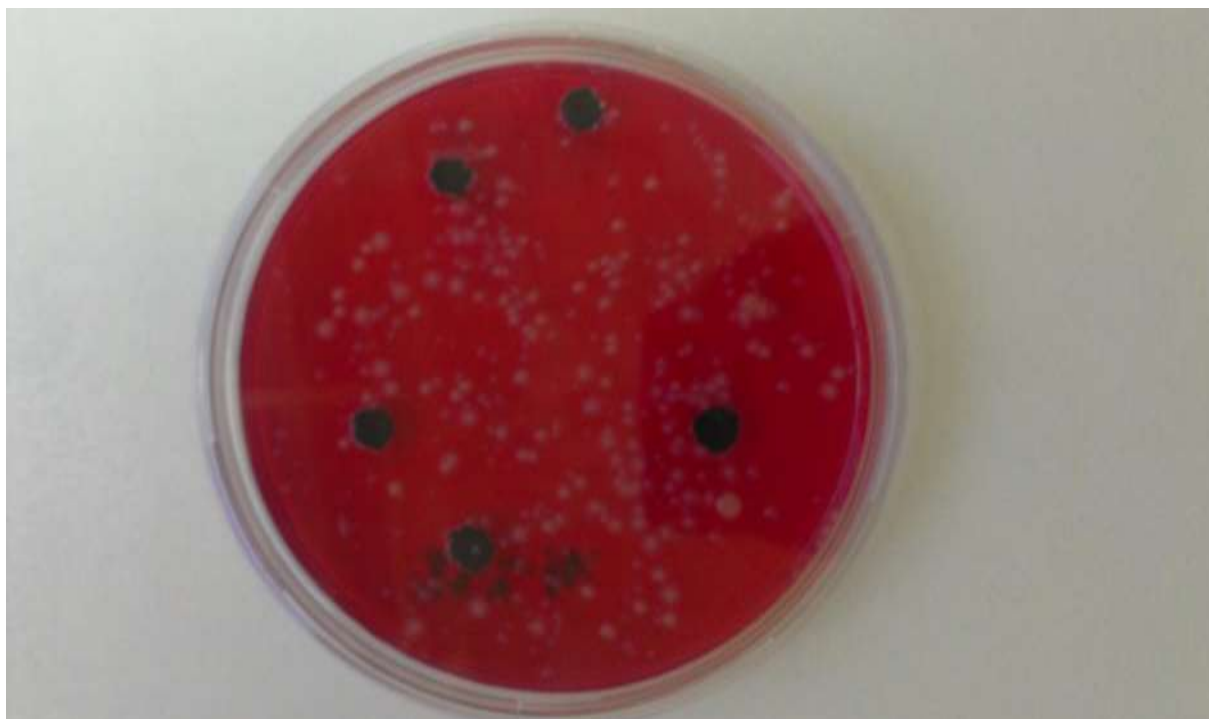
Obr. 15 a 16 Ředění vzorku a pipetování inokula na povrch kultivačního média



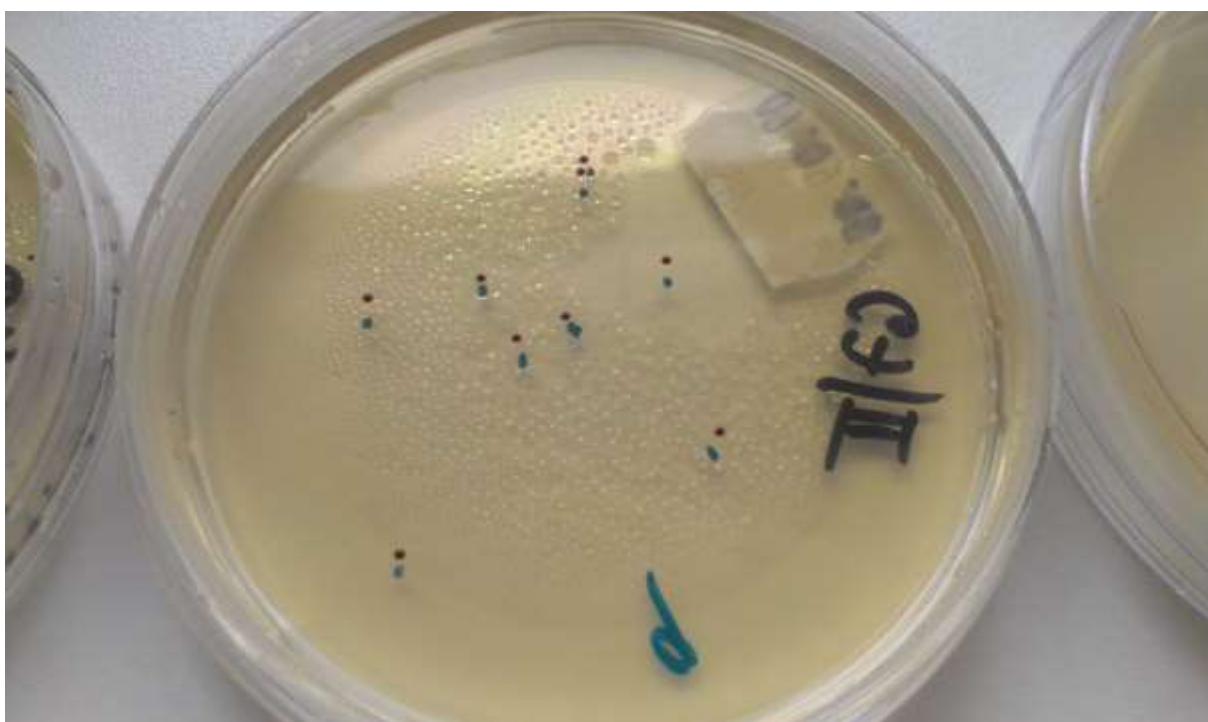
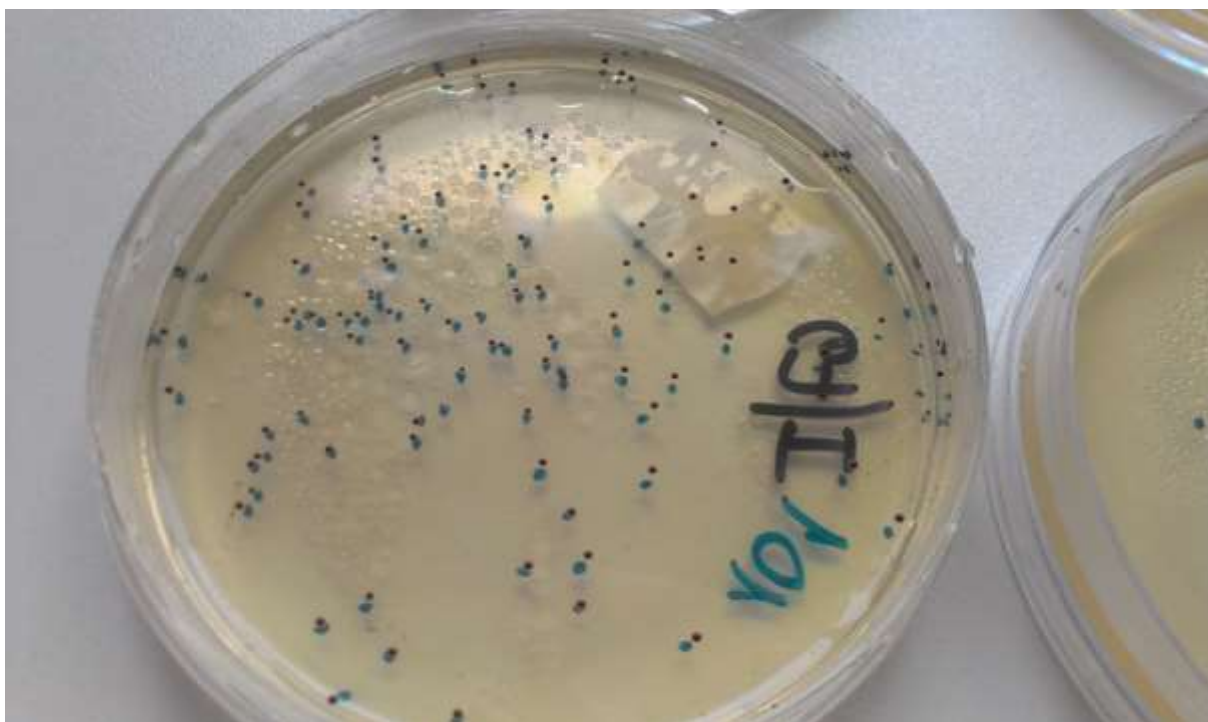
Obr. 17 a 18 Roztírání inokula sterilní tyčinkou na povrch kultivačního média



Obr. 19 a 20 *Salmonella* spp. po inkubaci



Obr. 21 a 22 *Enterococcus* po inkubaci a odečtení



Obr. 23 Použité nádoby v roztoku vody a dezinfekčního přípravku



Seznam příloh

- Obr. 1 Odběr žížal a matrice na stanici Červený újezd
- Obr. 2 Homogenizace materiálu
- Obr. 3 a 4 Zhomogenizované matrice a žížaly používané pro pokus
- Obr. 5 Příprava nádob na plnění substrátem
- Obr. 6 a 7 Plnění nádob substrátem
- Obr. 8 Nádoba s pískem obsahující inokulované nádoby
- Obr. 9 a 10 Nádoba před analýzou s viditelným koproliem
- Obr. 11 Obsah nádoby před analýzou
- Obr. 12 Laboratorní pomůcky a nádobí potřebné k vážení a ředění
- Obr. 13 Homogenizátor
- Obr. 14 Příprava Petriho misek na inokulaci
- Obr. 15 a 16 Ředění vzorku a pipetování inokula na povrch kultivačního média
- Obr. 17 a 18 Roztírání inokula sterilní tyčinkou na povrch kultivačního média
- Obr. 19 a 20 *Salmonella* spp. po inkubaci
- Obr. 21 a 22 *Enterococcus* po inkubaci a odečtení
- Obr. 23 Použité nádoby v roztoku vody a dezinfekčního přípravku