

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Změny enzymatické aktivity a zastoupení mikroorganismů  
během vermikompostování**

**Diplomová práce**

**Bc. Kateřina Suchardová**

**Technologie odpadů**

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

**Konzultant: Ing. Tereza Hřebečková, Ph.D.**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Změny enzymatické aktivity a zastoupení mikroorganismů během vermikompostování" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19. 4. 2024

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu panu prof. Ing. Aleši Hančovi, Ph.D. za možnost psát diplomovou práci právě pod jeho vedením. Také bych chtěla poděkovat své konzultantce Ing. Tereze Hřebečkové, Ph.D. za její cenné rady, především za trpělivost, pomoc a čas, které mi věnovala během zpracování této práce.

# Změny enzymatické aktivity a zastoupení mikroorganismů během vermikompostování

## Souhrn

Cílem mé diplomové práce bylo vyhodnotit enzymatickou aktivitu a zastoupení hlavních skupin mikroorganismů při vermikompostování směsí čistírenských kalů a nasávané kartonáže. Byly vytvořeny dvě směsi s dvěma různými kaly, které pocházely z různě veliké čistírny odpadních vod, a z nasávané kartonáže. Směsi byly kompostovány a také vermikompostovány za pomoci žížal *Eisenia andrei* ve venkovních podmínkách. Bylo pozorováno osm různých hydrolytických enzymů ( $\beta$ -D-glukosidáza, kyselá fosfatáza, arylsulfatáza, lipáza, chitináza, celobiohydroláza, alanin aminopeptidáza a leucin aminopeptidáza). Z mikroorganismů byla práce zaměřena na houby, bakterie, aktinomycey grampozitivní bakterie a gramnegativní bakterie. Mikroorganismy byly také vyhodnoceny společně jako celková mikrobiální biomasa. Na závěr byly potvrzeny či vyvráceny předem určené hypotézy.

Byly zjištěny, jak rozdíly mezi jednotlivými kaly, tak ale také mezi typy zakládek, tedy kompost vs vermikompost. Při zjišťování množství mikroorganismů byl téměř vždy zjištěn větší výskyt v kompostech obou kalů, tento rozdíl byl znát především v nejmladších vrstvách zakládek. Zatímco v kompostovacích zakládkách bylo množství mikroorganismů dosti vyvážené napříč všemi vrstvami, u vermikompostovacích zakládek byl pozorován postupný nárůst mikroorganismů se stářím materiálu, až na téměř totožné hodnoty s kompostovacími zakládkami stejného kalu.

U enzymů byla naopak zvýšená aktivita zjištěna v nejmladších vrstvách zakládek, bez ohledu na typ zakládky. V nejstarších vrstvách dosahovala aktivita enzymů často nejmenší aktivity, a bylo tak možné určit, zda je materiál již stabilní a zralý. Aktivita jednotlivých enzymů byla napříč vrstvami poněkud proměnlivá. Nejvyšší aktivity dosahovala lipáza (průměrně 4724  $\mu\text{mol MUFY/hod/g}$  sušiny), naopak nejmenší aktivita byla zjištěna u arylsulfatázy (průměrně 41  $\mu\text{mol MUFS/hod/g}$  sušiny). U pozorování enzymatické aktivity byly viditelné rozdíly mezi jednotlivými směsmi a také mezi kompostováním a vermikompostováním dané směsi.

**Klíčová slova:** enzymy, mikroorganismy, kal, kartonáž, žížaly

# Changes in enzymatic activity and proportion of microorganisms during vermicomposting

## Summary

The aim of my thesis was to evaluate the enzymatic activity and representation of the main groups of microorganisms in vermicomposting mixtures of sewage sludge and molded pulp. Two mixtures were created with two different sludges, which came from different sized wastewater treatment plant, and molded pulp. The mixtures were composted and also vermicomposted using the earthworm *Eisenia andrei*. Eight different hydrolytic enzymes ( $\beta$ -D-glucosidase, acid phosphatase, arylsulfatase, lipase, chitinase, cellobiohydrolase, alanine aminopeptidase and leucine aminopeptidase) were observed. Among the microorganisms, the work focused on fungi, bacteria, actinomycetes, Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria. The microorganisms were also assessed together as a total microbial biomass. In conclusion, predetermined hypotheses were confirmed or disproved.

Differences were found between the sludges and also between the types of sites, thus compost vs. vermicompost. In detecting the quantity of microorganisms, there was almost always a greater presence in the composts of both sludges, this difference was particularly evident in the youngest layers of the sites. While in the compost sites the abundance of microorganisms was balanced across all layers, in the vermicompost sites a gradual increase in microorganisms was observed with the age of the material, to almost identical values with the compost sites of the same sludge.

In enzymes, on the other hand, increased activity was found in the youngest layers of the sites, regardless of the type of sites. In the oldest layers, enzyme activity was often lowest and it was possible to determine whether the material was already stable and mature. The activity of individual enzymes was somewhat variable across layers. Lipase showed the highest activity (on average 4724  $\mu\text{mol MUFY/hod/g dw}$ ), while the lowest activity was found in arylsulfatase (on average 41  $\mu\text{mol MUFS/hod/g dw}$ ). For the observation of enzymatic activity, differences were visible between the mixtures and also between composting and vermicomposting of the mixture.

**Keywords:** enzymes, microorganisms, sludge, molded pulp, earthworms

# Obsah

<b>1 Úvod</b>	<b>9</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b>	<b>10</b>
<b>3 Literární rešerše</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Kompostování</b>	<b>11</b>
3.1.1 Princip kompostování	11
3.1.2 Vstupní a výstupní produkty kompostování	11
3.1.3 Fáze kompostování	12
3.1.3.1 Rozkladná fáze	12
3.1.3.2 Přejídná fáze	13
3.1.3.3 Dozrávací fáze	13
3.1.4 Faktory ovlivňující kompostování	13
3.1.4.1 Závislé na surovinách	13
3.1.4.2 Vztažené k řízení provozu	14
3.1.5 Mikroorganismy podílející se na procesu kompostování	15
3.1.6 Výhody a nevýhody kompostování	16
<b>3.2 Vermikompostování</b>	<b>16</b>
3.2.1 Princip vermikompostování	16
3.2.2 Historie vermikompostování	17
3.2.3 Rozdíl mezi kompostováním a vermikompostováním	17
3.2.4 Faktory ovlivňující vermikompostování	18
3.2.4.1 Teplota	18
3.2.4.2 Vlhkost	18
3.2.4.3 Hodnota pH	18
3.2.4.4 Přístup vzduchu	18
3.2.4.5 Světlo	19
3.2.4.6 Přítomnost látek nevhodných pro žížaly	19
3.2.4.7 Druh surovin	19
3.2.5 Žížaly při vermikompostování	20
3.2.5.1 Žížaly	20
3.2.6 Mikroorganismy podílející se na vermikompostování	22
3.2.6.1 Popis mikroorganismů a jejich funkce během vermikompostování	22
3.2.6.2 Houby	23
3.2.6.3 Bakterie	23
3.2.6.4 Celková mikrobiální biomasa	24
3.2.7 Enzymy a jejich aktivita během vermikompostování	25

3.2.7.1	Enzymatická aktivita.....	25
3.2.7.2	Faktory ovlivňující enzymatickou aktivitu.....	26
3.2.7.3	Enzymy zkoumané během vermikompostování.....	26
3.2.8	Produkty vermikompostování.....	28
3.2.8.1	Vermikompost.....	28
3.2.8.2	Žížaly.....	29
3.2.8.3	Žížalí čaj.....	29
3.2.9	Výhody a nevýhody vermikompostování.....	30
3.2.9.1	Vliv žížal na půdu.....	30
3.2.9.2	Vliv aplikace vermikompostu na půdu a celkové životní prostředí.....	31
3.2.10	Systémy vermikompostování.....	31
3.2.10.1	Maloprodukční.....	31
3.2.10.2	Velkoprodukční.....	32
3.2.11	Vermifiltr.....	33
<b>3.3</b>	<b>Čistírenské kaly.....</b>	<b>33</b>
3.3.1	Charakteristika čistírenských kalů.....	33
3.3.2	Rozdělení čistírenských kalů.....	33
3.3.2.1	Primární kal.....	34
3.3.2.2	Sekundární kal.....	34
3.3.2.3	Směsný kal.....	34
3.3.3	Využití čistírenských kalů.....	34
3.3.4	Legislativa ošetřující čistírenské kaly.....	35
<b>3.4</b>	<b>Nasávaná kartonáž.....</b>	<b>35</b>
3.4.1	Specifika nasávané kartonáže.....	36
3.4.1.1	Celulózní vlákna.....	36
3.4.2	Využití odpadní nasávané kartonáže.....	36
<b>3.5</b>	<b>Vermikompostování čistírenských kalů a nasávané kartonáže.....</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>Metodika.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiál.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2</b>	<b>Průběh pokusu.....</b>	<b>39</b>
<b>4.3</b>	<b>Odběry vzorků.....</b>	<b>41</b>
<b>4.4</b>	<b>Agrochemické analýzy.....</b>	<b>41</b>
4.4.1	Stanovení obsahu sušiny.....	41
4.4.2	Stanovení pH.....	41
4.4.3	Měrná vodivost.....	41
4.4.4	Stanovení uhlíku a dusíku.....	42
<b>4.5</b>	<b>Biologické analýzy.....</b>	<b>42</b>
4.5.1	Počet a biomasa žížal.....	42

4.5.2	Stanovení mikrobiální aktivity .....	42
4.5.3	Stanovení enzymatické aktivity .....	43
<b>4.6</b>	<b>Statické analýzy .....</b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Výsledky agrochemických analýz.....</b>	<b>48</b>
5.1.1	Vstupní suroviny.....	48
5.1.2	Směsi.....	49
5.1.3	Kontrolní zakládka se směsí z Kalu 1.....	49
5.1.4	Kontrolní zakládka se směsí z Kalu 2.....	50
5.1.5	Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 1 .....	51
5.1.6	Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 2 .....	52
<b>5.2</b>	<b>Výsledky biologických analýz .....</b>	<b>53</b>
5.2.1	Počet a biomasa žížal .....	53
5.2.1.1	Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 1.....	53
5.2.1.2	Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 2.....	54
5.2.2	Výsledky stanovení mikrobiální aktivity.....	55
5.2.2.1	Houby .....	55
5.2.2.2	Bakterie.....	56
5.2.2.3	Aktinomycety .....	57
5.2.2.4	Grampozitivní bakterie .....	58
5.2.2.5	Gramnegativní bakterie .....	59
5.2.2.6	Celková mikrobiální biomasa .....	60
5.2.3	Výsledky stanovení enzymatické aktivity .....	61
5.2.3.1	$\beta$ -D-glukosidáza .....	61
5.2.3.2	Kyselá fosfatáza.....	62
5.2.3.3	Arylsulfatáza.....	63
5.2.3.4	Lipáza .....	64
5.2.3.5	Chitináza .....	65
5.2.3.6	Celobiohydroláza.....	66
5.2.3.7	Alanin aminopeptidáza .....	67
5.2.3.8	Leucin aminopeptidáza .....	68
<b>6</b>	<b>Diskuse.....</b>	<b>69</b>
<b>6.1</b>	<b>Aktivita mikroorganismů.....</b>	<b>69</b>
<b>6.2</b>	<b>Aktivita enzymů .....</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>74</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>76</b>



# 1 Úvod

Jedno z největších témat dnešní doby jsou odpady, a především jejich zpracování, recyklace či odstranění. V roce 2022 obyvatelé České republiky vyprodukovali 39,2 milionu tun odpadu. Z celkové produkce odpadu tvoří 5,4 milionu tun komunální odpad, který je z 25 % tvořen biologicky rozložitelným odpadem (Český statistický úřad 2023; Samosebou.cz 2022).

Odhaduje se, že do roku 2050 přesáhne produkce organického odpadu světově 1,6 miliardy tun ročně. Mezi organický odpad řadíme rostlinné i živočišné zbytky, gastroodpad, statková hnojiva a kaly z čistíren odpadních vod. Tento odpad představuje riziko pro okolní prostředí, jako zdroj znečištění, nebo riziko ohrožení zdraví lidí a zvířat. Hrozbu představuje především z odpadů vzniklý zápach, dále látky obsažené v organických odpadech, mezi něž řadíme rizikové prvky, patogeny či zbytky pesticidů (Yin et al. 2024).

Samotný bioodpad se dá považovat za problematickou surovinu světa, a to i přes to, že je to důležitý zdroj energie či živin. Objem biologicky rozložitelného odpadu by se měl snižovat, či by měl být tento odpad kvalitně využit (Samosebou.cz 2022). Jedním příkladem kvalitního využití bioodpadů je anaerobní digesce, kde dochází bez přístupu kyslíku (hnití) ke vzniku digestátu, a především ke vzniku bioplynu, který je vhodný k výrobě elektřiny, tepla, či ho lze využít jako motorové palivo. Z biologicky rozložitelného odpadu lze za splnění optimálních podmínek vyprodukovat kvalitní organické hnojivo, a to procesem kompostování či vermikostování (Lin et al. 2018).

Kompostování lze považovat za jednu z nejstarších metod zpracování odpadů, za produkce kvalitní suroviny. Vzniklý kompost, kvalitní organické hnojivo, vzniká tlením, tedy rozkladem organické hmoty za přístupu vzduchu. Rozklad probíhá různými druhy mikroorganismů, a to převážně bakteriemi a houbami. Důležité je dodržovat optimální životní podmínky pro mikroorganismy, podílející se na kompostování či vermikompostování. Při procesu vermikompostování musíme brát zřetel také na životní podmínky žížal (Kalina 2004).

Během vermikompostování dochází ke vzájemnému působení mezi intenzivní činností žížal a mikroorganismů. I zde dochází k produkci kvalitního organického hnojiva, vermikompostu, ze zpracování bioodpadů. Tento proces se řadí k méně nákladným technologiím a je 100% šetrný k životnímu prostředí (Plíva et al. 2016).

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem této diplomové práce je vyhodnotit enzymatickou aktivitu a zastoupení hlavních skupin mikroorganismů při vermikompostování směsi čistírenských kalů a nasávané kartonáže.

Hypotézy:

1. Vyšší enzymatická aktivita je ve vrstvách vermikompostované směsi než v kontrolní variantě.
2. Žížaly mají vliv na zastoupení skupin mikroorganismů.
3. Původ kalu má vliv na výši enzymatické aktivity a mikroorganismů.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Kompostování

#### 3.1.1 Princip kompostování

Kompostování je metoda využití biologicky rozložitelného odpadu, která má velmi bohatou tradici. Jde o zpracování organického odpadu, který se přemění na kvalitní organické hnojivo. Při kompostování je především důležité, zachování aerobních podmínek. Jinak by proces neprobíhal optimálně. Důležitá je také činnost mikroorganismů a je tedy nutné dodržovat optimální životní podmínky (Plíva et al. 2016).

U tohoto biologického procesu je nutné zajistit také dostatečnou vlhkost a teplotu. Proces se dělí na tři hlavní fáze, které jsou rozděleny právě dle teplot v kompostu. Mikroorganismy hrající zde zásadní roli musí vykazovat růst a musejí se dostatečně rozmnožovat, což je ovlivněno základními faktory procesu. Mezi faktory patří, kromě vlhkosti a teploty, také hodnota pH, množství kyslíku neboli provzdušňování a poměr C: N (Meena et al. 2021).

#### 3.1.2 Vstupní a výstupní produkty kompostování

Na výrobu kompostu je možné využít širokou škálu organických zbytků, ať už rostlinných či živočišných. Do kompostových zakládek musíme vkládat pouze odpad, který bude možné rozložit pomocí bakterií, plísní, aktinomycet a podobných mikroorganismů (Stoffela & Kahn 2001).

Pro výrobu kvalitního kompostu je vhodné použít co nejvíce různorodých materiálů. Velmi důležité je si pohlídat poměr C: N u směsi vstupních materiálů, což je poměr uhlíku a dusíku. Vstupní materiály se tedy dělí především dle obsahu uhlíku a dusíku (Van der Wurff et al. 2016). Starší, tmavší a dřevnatější materiál obsahuje více uhlíku, kdežto materiál čerstvý, šťavnatý a zelenější obsahuje více dusíku. Mezi materiál dodávající kompostu dusík řadíme například čistírenské kaly, drůbeží exkrementy a kejdu. Naopak uhlík nám dodá sláma, papír, kůra, štěpka a hobliny. Další materiály nám mohou do kompostu dodat další živiny. Vaječné skořápky obsahují vápník a kávová sedlina dodá kompostu draslík a hořčík. Speciální surovinou je popel, který je velmi bohatý na živiny jako je vápník, hořčík, draslík a fosfor. Popel je silně alkalický a neobsahuje žádný dusík (Kalina 2004).

Některé materiály je potřeba před kompostováním zpracovat jiným způsobem. Například zbytky masa a jídel a též plevle či rostliny s chorobami musí v kompostu projít fází, která přesáhne teplotu 50 °C, aby došlo k jejich hygienizaci či neutralizaci (Scott 2006). Některé větší kusy organického odpadu je potřeba rozdrtit pro lepší přístupnost mikroorganismům. Jiné odpady zase nelze kompostovat samostatně, a proto se tvoří směsi s jinými materiály (Kalina 2004).

Konečný produkt nazývaný kompost se vyznačuje tmavě hnědou barvou, drobivou povahou a je bez zápachu (Meena et al. 2021). Výsledný produkt se hodnotí především podle kvality a hygienické nezávadnosti. Nejčastěji tedy posuzujeme biologickou stabilitu a mikrobiologické a agrochemické vlastnosti. Zralost a stabilita kompostu se postupně průběhem procesu zvyšuje. Zralost nám určuje, k čemu je možné výsledný produkt využít a stabilita nám zase říká, jak je organická hmota odolná vůči degradaci (Plíva et al. 2016).

Při procesu kompostování se můžeme setkat se třemi hlavními skupinami mikroorganismů, a to bakteriemi, aktinomycetami a nižšími houbami neboli plísněmi. Bakterie jsou zde jak termofilní, tak mezofilní. V kompostu se můžeme setkat i s patogenními mikroorganismy, které jsou však ve výsledném produktu nežádoucí. Většina z nich je zahubena při teplotě vyšší než 60 °C (Van der Wurff et al. 2016). Dalšími vlastnostmi, které se hodnotí u výsledného produktu jsou především pH, poměr C: N, vlhkost, obsah spalitelných látek a obsah celkového dusíku. Vlhkost kompostu by se měla pohybovat v rozmezí 40 až 65 % a pH hodnota mezi 6,5 a 8,5 tedy kolem neutrální hodnoty. Obsah spalitelných látek dosahuje minimálně 25 % a celkový obsah dusíku by měl být minimálně 0,6 %. Dle obsahu spalitelných látek a obsahu celkového dusíku je tedy zřejmé, že v kompostu je vždycky více uhlíku, a tak můžeme určit, že ideální poměr C: N pro zralý kompost je 15–20: 1 (Plíva et al. 2016).

### **3.1.3 Fáze kompostování**

Ve všech fázích musí být přítomen kyslík a je důležité sledovat správnou teplotu a vlhkost, které jsou charakteristické pro jednotlivé fáze. V jednotlivých fázích nalezneme různé druhy mikroorganismů, jelikož ne všechny organismy zvládají vysoké teploty v první fázi kompostování, kde se setkáme s termofilními druhy. V dalších fázích se setkáme s mezofilními druhy. Samy mikroorganismy produkují teplo a zahřívají tak kompostovací materiál. Fáze byly rozděleny podle teplot, kterých kompost dosahuje (Meena et al. 2021). Při kompostování dochází až k 50% hmotnostnímu úbytku materiálu (Repková 2010).

#### **3.1.3.1 Rozkladná fáze**

Této fázi se také jinak říká fáze odbourávání či mineralizace. Tato první fáze probíhá 3–4 týdny. Během několika málo dnů dojde k rychlému nárůstu počtu bakterií a plísní, které rozkládají lehce rozložitelné látky. Během prvních dní mezofilní mikroorganismy rozloží například cukry, škroby a bílkoviny (Kalina 2004). Následně se materiál samovolně zahřeje na 50–70 °C, a proto se zde setkáme s termofilními bakteriemi a houbami. Tyto termofilní mikroorganismy mohou rozložit složitější látky jako například lignocelulózní látky (Sole-Mauri et al. 2007). Vysokou teplotou zde dochází také k hygienizaci odpadu (Nemet et al. 2021). Při hydrolyzních procesech zde vznikají organické kyseliny, které významně snižují hodnotu pH. Konečnými produkty této fáze jsou dusičnany, oxid uhličitý, čpavek, aminokyseliny či polysacharidy. Tyto vzniklé produkty se považují za tzv. „stavební kameny“ pro vznik humusových látek (Kalina 2004; Repková 2010).

### 3.1.3.2 Přejchodná fáze

Fáze přechodná neboli fáze přeměny se projevuje od čtvrtého do desátého týdne (Repková 2010). Teplota postupně klesá, a to přibližně na 40 °C a opět dojde k výměně mikroorganismů na mezofilní. Produkty vzniklé v rozkladné fázi se zabudovávají do humusového komplexu a jsou tak odolné před dalším rozkladem mikroorganismy (Váňa 2002). Odpady již nemají podobu jako na vstupu, ale mají jednotnou hnědou barvu a drobtovitou strukturu. Vzniklý materiál už nevykazuje známky fytotoxicity a produkt již lze aplikovat jako hnojivo. V této fázi má kompost nejlepší výživářské hodnoty (Kalina 2004).

### 3.1.3.3 Dozrávací fáze

V poslední fázi kompostování se z materiálu stává kompost se zemitou strukturou. Vytváří se zde vazby mezi organickými a anorganickými látkami a tím se tak hnojivo stane stabilnější a účinnější. Teplota je srovnatelná s teplotou okolí a pH se z kyselých hodnot dostane na neutrální. Při této fázi, které se taky říká fáze zralosti či syntézy, již nenalezneme čpavek či fytotoxické látky (Hlavatá 2004).

## 3.1.4 Faktory ovlivňující kompostování

### 3.1.4.1 Závislé na surovinách

#### *Látky a živiny (poměr C: N)*

Při kompostování vznikají prekurzory huminových látek, které se postupně v procesu mění na huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Tyto vzniklé produkty jsou velmi důležité pro výživu rostlin a díky jejich snadnému zabudování do rostliny nedochází k jejich vyplavování z půdy (Canellas et al. 2015).

Na obsah živin v kompostu mají vliv především vstupní suroviny, kterými můžeme značně ovlivnit, také pro kompost důležitý, poměr C: N (Sánchez et al. 2017). Složením vstupních surovin bychom měli docílit poměru C: N 30–35: 1. Tímto poměrem dojde k ideálním podmínkám pro rozklad a přeměnu organických látek mikroorganismy (Gil et al. 2008). Pokud chceme prodloužit délku procesu, pak vstupní suroviny lze smíchat tak, aby poměr C: N dosahoval pouze 25: 1 (Shilev et al. 2007).

Vstupní materiál poskytuje mikroorganismům podílejících se na kompostování živiny, především dusík a uhlík, a také energii. Mikroorganismy se do kompostovací zakládky dostanou spolu s odpadním materiálem, z okolního prostředí, či přidáním inokula například z jiné kompostárny nebo přidáním zeminy. Mezi primární živiny, které mikroorganismy v kompostu potřebují nepatří pouze dusík a uhlík, ale také fosfor, draslík a síra. Uhlík je hlavní prvek všech kompostovaných materiálů, jelikož je obsažen téměř ve všech organických sloučeninách. Uhlík je zde využit pro získání energie a růst mikroorganismů. Dusík je nutný pro tvorbu bílkovin, aminokyselin a peptidů a je využit při buněčném množení (Oshins et al. 2022).

### *Hodnota pH*

Na počátku procesu naměříme nižší hodnoty pH, z důvodu vzniku kyselin, a to především kyseliny mléčné a octové. Pokud je kompost příliš okyselen, dochází k zápachu, což je bráno jako nežádoucí jev. Kyselost kompostu se postupně vytrácí s rostoucí teplotou, kdy se snižuje obsah doted' přítomných kyselin (Sundberg et al. 2013).

Hodnota pH je ovlivněna vstupním materiálem a během celého procesu se mění. Kyselé pH, po první fázi rozkladu, se postupně neutralizuje, a to převážně z důvodu přeměny  $\text{NH}_4^+$  na  $\text{NH}_3$ . Hodnoty pH je důležité sledovat kvůli mikroorganismům, které jsou adaptovány na dané prostředí. Při změnách hodnot pH by se v kompostu mohli množit mikroorganismy pro proces nežádoucí. Ideální je udržovat pH v kompostovacím procesu od 5,8 do 7,2 (Meena et al. 2021).

### *Velikost částic a pórovitost*

Fyzikální vlastnosti, mezi něž řadíme velikost částic i pórovitost, nám určují distribuci kyslíku a také přístupnost biologicky rozložitelného organického materiálu mikroorganismům (Agnew & Leonard 2003). Uspořádání částic kompostu ovlivňuje hustotu kompostovaného materiálu, a tím pádem nám určuje také provzdušňování a výměnu ostatních plynů. Velikost a povrch částic nám určuje kompostovací potenciál, tedy jak budou mikroorganismy schopny bioodpad rozložit (Mohee & Mudhoo 2005). Pórovitost nám ovlivňuje proudění vzduchu v materiálu a závisí na ní také, jakou rychlostí se odpad bude rozkládat za současného proudění tepla a plynů (Trémier et al. 2009). Čím menší částice jsou, tím se pro mikroorganismy stávají přístupnější (Meena et al. 2021).

#### 3.1.4.2 Vztahené k řízení provozu

### *Obsah kyslíku*

Dostatečné množství kyslíku je nutné pro optimální průběh procesu kompostování. Podstatou procesu jsou aerobní mikroorganismy, které by při nedostatku kyslíku zahynuly. S nedostatečným objemem kyslíku se v průběhu procesu můžeme setkat během první termofilní fáze (He et al. 2000; Lin et al. 2021) či při kompostování nadměrně vlhkého materiálu, který zaplní póry vodou. Pokud je kyslíku nedostatek je potřeba ho dodávat, například promícháváním kompostu (Nguyen et al. 2023).

Pro optimální průběh aerobního procesu se uvádí, že koncentrace kyslíku nesmí klesnout pod 5 %. V praxi se však setkáme spíše s hranicí 10 % (Chen et al. 2011). Kyslík je nejčastěji přijímán z okolního prostředí a můžeme ho nuceně či pasivně dodávat provzdušňováním. Za nucené provzdušňování považujeme dodávání kyslíku za pomoci dmychadel či ventilátorů. Vzduch procházející kompostovaným materiálem, vytlačuje z hromady přebytečnou vodu, teplo, oxid uhličitý a případně další plyny. Pasivní provzdušňování souvisí s přírodními silami (Oshins et al. 2022).

### *Teplota*

Teplota zásadně ovlivňuje rychlost rozkladných procesů. Aktivita mikroorganismů vytváří teplo, čímž se v materiálu zvyšuje teplota. Teplota významně ovlivňuje složení a aktivitu mikroorganismů v kompostu a také ovlivňuje chemické reakce procesu (Aggie Horticulture 2009; FAO 2021). Při vyšších teplotách dochází k rychlejšímu a kvalitnějšímu rozkladu organických látek, a tento rozklad opět vytváří teplo. Vyšší teploty dezinfikují odpad a odbourávají těkavé sloučeniny a jiné nežádoucí látky. Fáze kompostování byly rozděleny právě podle dosahujících teplot materiálu během rozkladných procesů (Oshins et al. 2022).

### *Vlhkost*

Vlhkost je jedním z klíčových aspektů ovlivňující průběh a rychlost kompostování organických materiálů. Doporučený obsah vlhkosti se liší v závislosti na vstupním materiálu, avšak jednotně se udává rozsah 50 až 70 % a je měnící se v průběhu procesu (Richard et al. 2002). Pokud je vlhkost nižší, než doporučené rozhraní dochází k významnému zpomalení procesu. Nižší vlhkost materiálu omezuje pohyb mikroorganismů (Chen et al. 2011), a naopak vyšší vlhkost zapříčiňuje zaplnění pórů vodou a schází tak prostor pro kyslík. Nedostatek kyslíku následně způsobí zpomalení rozkladných procesů a vznik pachových plynů (Amuah et al. 2022).

### **3.1.5 Mikroorganismy podílející se na procesu kompostování**

Na biochemickém procesu kompostování se podílejí velmi různorodé skupiny mikroorganismů a hlístic (Onwosi et al. 2017). Nejhojněji jsou zde zastoupeny aerobní termofilní mikroorganismy (Pietronave et al. 2004). Organickou hmotou však nepohrdnou ani anaerobní mikroorganismy, s kterými se můžeme setkat v místech s malým provzdušením (Franke-Whittle et al. 2014). Během kompostování vznikají různě početná mikrobiální společenstva, která se v průběhu procesu mění s jednotlivými fázemi (Mehta et al. 2014). Ve vstupním materiálu jsou mezofilní organismy, které rozkládají lehce rozložitelné látky a díky své metabolické aktivitě materiál postupně zahřívají. V teplém prostředí kompostu se tak začnou množit termofilní mikroorganismy, které rozkládají polysacharidy, bílkoviny a tuky. V teplém prostředí však nepřežije většina patogenních organismů. Jelikož kompost postupně chladne, až na teplotu svého okolí, začínají opět převažovat mezofilní mikroorganismy. Některé mikroorganismy nám slouží jako ukazatelé jednotlivých fází a kvality zrání kompostu (Bhatia et al. 2013; Pepe et al. 2013). Jako indikátor správného procesu kompostování nám mohou posloužit aktinobakterie (Sundberg et al. 2013). V některých případech se za pomoci anaerobních mikroorganismů vytváří methan (Franke-Whittle et al. 2014), který má negativní vliv na oteplování atmosféry (Onwosi et al. 2017).

### 3.1.6 Výhody a nevýhody kompostování

Samotné kompostování snižuje objem biologicky rozložitelného odpadu, který by působil negativně na životní prostředí, a to především při jeho skládkování (Yin et al. 2024). Je to levná, bezpečná a efektivní metoda na snížení objemu bioodpadu a získání zdroje organických hnojiv pro zemědělskou výrobu (Awasthi et al. 2022). Vzniklé hnojivo neboli kompost dodá půdě chybějící organickou hmotu (Sharma et al. 2019), mikroorganismy (D'Hose et al. 2018) a také zvýší její úrodnost (Awasthi et al. 2022). Metoda je výhodná nejen z důvodu její neškodnosti, ale také díky jednoduchému postupu a nízkým investičním a provozním nákladům (Yin et al. 2024).

Jednou z důležitých výhod je ta, že se až 100 % dusíku organicky váže a již se z půdy nemůže ztratit. Dále je důležité zmínit tvorbu humusových látek, které zapříčiňují zvyšující se množství bakterií a hub v půdě po aplikaci kompostu. Kompostováním zbavíme odpad hnilobných a jedovatých látek, dále také původců chorob a zničíme většinu semen plevelných rostlin. Kompostováním lze rozložit i těžko rozpustné látky a stopové prvky. Vznikají tzv. přírodní antibiotika, která rostlina účinně využívá proti svým chorobám a škůdcům (Kalina 2004). Kompost je považován za mnohem kvalitnější hnojivo než ledajaké anorganická hnojiva (Chowdhury et al. 2015). Po aplikaci kompostu na zemědělskou půdu se významně zvýší retenční schopnost půdy (Onwosi et al. 2017).

U kompostování nám převažují spíše klady a negativa hledáme jen stěží. Problémem může být pracnost při zpracování velkého objemu bioodpadů. Někdo může vidět negativum ve ztrátách živin, ale tyto ztráty nejsou zas tak veliké. Například dusík může být uvolňován do okolního prostředí pouze ve formě čpavku, a tímto způsobem dochází ke ztrátám dusíku maximálně do 20 %. Uhlík zde uniká do prostředí ve formě oxidu uhličitého, a to v množství přibližně 30 %. Pokud dochází k nadměrné produkci průsakových vod, setkáváme se s poměrně velkými ztrátami draslíku (Kalina 2004).

## 3.2 Vermikompostování

### 3.2.1 Princip vermikompostování

Vermikompostování je, jak už slovo napovídá rozklad rostlinného odpadu za pomoci žížal a mikroorganismů (Ali et al. 2015). V některé literatuře se můžeme setkat s pojmem žížalování, což je synonym pro vermikompostování. Latinské slovo vermis znamená červ či žížala (Nzimba 2020). Aby bylo možné biologicky rozložitelný odpad vermikompostovat, nejsou potřeba pouze speciálně vyšlechtěné žížaly, ale nutné je mít také speciální nádobu. Nádobě se říká intuitivně vermikompostér a velmi zjednodušeně jde o plastovou nádobu s několika patry (Cholenská 2021). Mezi lidmi jsou často používány slova jako žížalovník, žížalník či žížalárium, avšak všechny znamenají vermikompostér. Do nádoby vkládáme biologicky rozložitelný odpad, nejčastěji rostlinného původu, který žížaly spolu s mikroorganismy zpracovávají a přetvářejí. Na spodu nádoby se postupně tvoří kvalitní vermikompost, který je často považován za kvalitnější hnojivo než „obyčejný kompost“.



Dalším produktem vermikompostování může být také tzv. žížalí čaj, což je tekutina vycházející z vermikompostu, která po zředění slouží jako vynikající závlaha pro rostliny (Nzimba 2020).

Vermikompostování nám zajišťuje co nejrychlejší a nejkvalitnější zpracování bioodpadu za vzniku kvalitního organického hnojiva. Jedná se o aerobní mezofilní biooxidační proces, při kterém se rozkládá organický materiál (Singh & Singh 2014). Jde především o interakci mezi žížalami a mikroorganismy (Gómez-Brandón & Domínguez 2014). Samotné žížaly zajišťují provzdušňování, fragmentaci a také překopávání materiálu (Ndegwa et al. 2000). Na rozkladu organického zbytku se nejčastěji podílejí bakterie, houby a nálevníci, kteří zvyšují samotnou degradaci materiálu (Edwards et al. 2011). Jelikož nastává boj o organické látky, mohou především žížaly ovlivnit druhy mikroorganismů podílejících se na procesu (Gómez-Brandón & Domínguez 2014).

### **3.2.2 Historie vermikompostování**

Kompostování a s tím spojené vermikompostování je známo již od pradávna. Jedni z prvních, kdo si uvědomovali funkci žížal v půdě byli Egypťané (Lowe et al. 2023). Již Charles Darwin provedl rozsáhlou studii, při které podrobně popsal rozklad organické hmoty, kompost a také život žížal, a to vše sepsal v roce 1881 do své knihy. V knize zdůrazňuje, že výkaly žížal mají skvělé účinky na růst rostlin (Brown et al. 2003).

První vermikulturna, tedy místo pro chov žížal, byla založena v 50. letech minulého století v USA. První kompost vzniklý pomocí žížal byl vytvořen o 30 let později také v USA a ve Velké Británii. Nejvíce se proces vermikompostování rozšířil i na jiné kontinenty po vydání studie, kde se popisovalo právě použití žížal na stabilizaci odpadů. V roce 1981 tedy vermikompostování znali a využívali téměř po celém světě (Singh & Singh 2014).

### **3.2.3 Rozdíl mezi kompostováním a vermikompostováním**

Materiál, který se vermikompostuje nesmí projít termofilní fází, jelikož žížaly při teplotě 35 °C a vyšší umírají (Ndegwa & Thompson 2001). Často se tedy provádí tzv. předkompostování materiálu, kdy se žížaly dodají do materiálu až po vysokých teplotách. Vysoké teploty také odstraňují patogenní látky, které jsou při vermikompostování odstraňovány za pomoci vztahů mezi mikroorganismy a žížalami (Domínguez et al. 1997). U vermikompostování je také vyžadována vyšší vlhkost, a to až o 20 %. Jelikož vermikompostování neprochází termofilní fází, může celý proces trvat o něco déle (Tognetti et al. 2005).

Co se týče výsledného produktu je vermikompost významně bohatší na obsah živin, nežli je tomu u kompostu vzniklého běžnou cestou (Ndegwa & Thompson 2000). U vermikompostu můžeme pozorovat také vyšší aktivitu mikroorganismů a také jejich větší biodiverzitu. Avšak aplikováním kompostu a vermikompostu na půdu, nerozeznáme téměř žádný rozdíl. (Tognetti et al. 2005). Z pohledu prodeje se daleko lépe obchoduje s vermikompostem, který přijde zákazníkům více atraktivní (Ndegwa & Thompson 2000).

### 3.2.4 Faktory ovlivňující vermikompostování

#### 3.2.4.1 Teplota

Teplota má významný vliv na chod vermikompostování. Významně ovlivňuje dýchání, metabolismus, růst a množení žížal a mikroorganismů (Garg & Gupta 2011). Většina žížal využívaných během vermikompostování, se zvládne adaptovat na teploty v rozmezí 10 až 35 °C (Yadav & Garg 2011). Ideální teplota je ovšem kolem 25 °C, při které dochází i k největší produkci žížal (Zhang et al. 2020). Teplota se ovšem odvíjí také od zpracovávaného odpadu. Doporučená teplota při zpracování čistírenského kalu je 20–28 °C a při zpracování hnoje 24–29 °C (Garg & Gupta 2011).

Teploty vyšší než 35 °C většina žížal nepřežije. U některých druhů žížal bylo pozorováno, že přežijí i chladnější teploty, a to do té doby, dokud zvládnou přijímat potravu. U zámotků bylo zjištěno, že zvládnou žít i v dlouhodobě zmrzlém materiálu (Singh & Singh 2014).

#### 3.2.4.2 Vlhkost

Vlhkost je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňující vermikompostování (Ali et al. 2015). Je známo, že tělo žížaly je tvořeno ze 75–90 % vodou (Yusnaini et al. 2018). Zpracovávaný odpad by měl tedy dosahovat vysoké vlhkosti, a to nejlépe v rozmezí 65–70 % avšak žížaly dokáží fungovat ve vlhkosti až 90 %. Vlhkost bioodpadu ovlivňuje, jakou rychlostí bude žížalami zkonsumován. Pokud je vlhkost nižší než optimální hodnoty, dochází ke zpomalení reprodukce a vývoje žížal (Ali et al. 2015).

#### 3.2.4.3 Hodnota pH

Hodnota pH je ovlivněna především materiálem vstupujícího do procesu. Sama hodnota pH ovlivňuje vývoj žížal a také růst populace mikroorganismů vyskytujících se ve střevech žížal. Materiál, který žížaly a mikroorganismy zpracovávají, by se měl co nejvíce pohybovat v neutrálních hodnotách. Aby se hodnota pH vstupních materiálů dostala do optima, můžeme přidat jiný druh odpadu. Častým přídatkem k bioodpadům, které mají pH kolem 6, může být kravský hnůj či zemina, která odpad zneutralizuje (Amaravathi & Reddy Mallikarjuna 2015).

#### 3.2.4.4 Přístup vzduchu

Žížaly dýchají celým povrchem těla kyslík je dále vstřebáván do krve a ostatních částí těla. Žížaly používají kyslík i na oxidaci organického materiálu. Vylučují pak tedy oxid uhličitý (Dominquez et al. 2001 & Chowdhury et al. 2014). Pokud má vermikompostovací materiál zvýšenou vlhkost je zde menší obsah potřebného kyslíku a neprobíhá optimálně provzdušňování, a tedy přísun kyslíku žížalám (Yadav & Garg 2011). Ani zvýšená teplota není

příliš vhodná, jelikož se zvýší produkce mikroorganismů, a tedy i větší spotřeba kyslíku mikroorganismy a žížaly ho tak mají nedostatek (Samal et al. 2019).

#### 3.2.4.5 Světlo

Vermikompost bychom neměli vystavovat přílišnému světlu, jelikož žížaly mají raději tmu. I když nemají oči, zvládají vnímat světlo celým tělem. Snaží se vyvarovat kontaktu se světlem, také kvůli zdroji tepla ze světla (Samal et al. 2019). Kratší vystavení světlu jim může vyvolat ochrnutí a delší doba na světle až smrt (Yadav & Garg 2011). Při vermikompostování ve větších prostorech můžeme využívat červené světlo, které žížaly považují za zatažený a deštivý den, který spíše vyhledávají (Samal et al. 2019).

#### 3.2.4.6 Přítomnost látek nevhodných pro žížaly

Žížaly jsou velmi citlivé především na obsah solí v krmivu a jejich obsah by tudíž neměl přesáhnout 0,5 % (Gunadi et al. 2002). Materiál podávaný žížalám by za žádných okolností neměl obsahovat biologicky nerozložitelné látky či toxické látky. Mezi nevhodné látky řadíme například kovy, léčiva, plasty, pesticidy či detergenty (Samal et al. 2019).

#### 3.2.4.7 Druh surovin

Žížaly a mikroorganismy jsou schopny rozkládat organické látky a jejich skladba ovlivňuje výsledný produkt. Nejčastěji jsou žížalám poskytovány zbytky ze zemědělské výroby, lesní zbytky, biologicky rozložitelný odpad z lidských sídlišť a odpady z některých druhů průmyslu (Deepthi et al. 2023). Organismy ve vermikompostu jsou schopné zpracovat dále také čistírenské kaly, živočišný odpad či organický odpad ze zahrad (Sinha et al. 2010). Velmi nevhodné je do vermikompostovacího procesu přidávat odpady s vyšší slaností. Mělo by být omezeno přidávání většího množství čerstvé trávy, masa a mléčných produktů (Sinha et al. 2008).

Pokud biologicky rozložitelný odpad přidáváme postupně, žížaly si mnohem raději vyberou čerstvý substrát. Stejně tak houby a mikroorganismy a je doprovázející enzymy budou vykazovat vyšší aktivitu v čerstvém materiálu (Hřebečková et al. 2019). Jako nejvhodnější se pro zpracování žížalami uvádí bioodpad s poměrem C: N 25–30:1 (Shrimal & Khwairakpam 2010).

Abychom dosáhli co největší výnosnosti vermikompostu a aby proces probíhal optimálně, můžeme k rostlinným zbytkům přidat tzv. objemové činidlo (Ghahdarijani et al. 2022). Jako činidlo můžeme přidat například trus hospodářských zvířat, nejčastěji krav, ovcí či drůbeže (Suthar 2010). Dalším objemovým činidlem může být kal z čistíren odpadních vod či kejda z bioplynových stanic. Tyto činidla slouží také jako přídavek mikroorganismů pro lepší a rychlejší rozklad organické hmoty (Samal et al. 2019).

### 3.2.5 Žížaly při vermikompostování

#### 3.2.5.1 Žížaly

##### *Biologie žížal*

Žížaly jsou živočichové spadající do kmene kroužkovci (Annelida). Jejich tělo se skládá ze segmentů a po celém těle se vyskytují buňky zastávající funkci zraku, sluchu a čichu (Gajalakshmi & Abbasi 2004). Žížaly jsou hermafrodité, jedna žížala má tedy samčí i samičí pohlavní orgány, avšak k samooplození nedochází (Sharma et al. 2005). Na přední části těla se setkáme se zduřelým článkem, který se nazývá opasek (clitellum) a ukrývá vajíčka a sekret (Paul et al. 2022). Žížaly se k sobě fixují tím, že se provléknou pod opasek druhé žížaly (Plíva et al. 2016). Sperma se přenese do tzv. spermaték, kde přetrvává, než se v opasku začne tvořit kokon s vajíčkou. Sperma se dostane do kokonu a oplodní tak vajíčka při svlékání kokonu z žížaly (Cosin et al. 2010). Kokon se následně uzavře a postupně mění barvu ze žluté, hnědé až na tmavě hnědou (Kaushal et al. 1999). Vajíčka se vyvíjí přibližně 3 týdny a následně se vylíhnou až 3 žížaly (Plíva et al. 2016).

Žížaly se dělí na 3 skupiny, podle místa výskytu (Singh et al. 2020). Anektické neboli hlubinné žížaly nalezneme u minerálních vrstev půdy a žížaly endogeické žijí ve vrchních vrstvách půdy (Demetrio et al. 2019). Pro vermikompostování jsou nejatraktivnější žížaly epigeické, žijící na povrchu půdy. Epigeické druhy nevytvářejí chodbičky a živí se organickým materiálem na povrchu půdy (Przemieniecki et al. 2021).

Na život žížal působí několik faktorů, mezi něž řadíme např. hodnotu pH, poměr C: N, vlhkost či teplotu. Nejméně žížal nalezneme v kyselých půdách a v půdách s nadměrným množstvím jílu či písku (Samal et al. 2019). Žížaly jsou schopné za den sníst 100 až 300 mg potravy na 1 g svojí tělesné váhy (Yadav & Garg 2011).

##### *Funkce žížal v půdě a při vermikompostování*

Žížaly zlepšují jak ekologické, tak biologické vlastnosti půdy. Dokáží přeměnit negativní působení pesticidů a těžkých kovů a přeměnit znehodnocenou půdu na kvalitnější (Šrut et al. 2019). Používají se tedy i při rekultivacích znehodnocené plochy či jako indikátoři půdní kvality (Singh et al. 2020). Díky žížalám se do půdy dostává organický uhlík a dusík a tím je zlepšena stabilizace a množství organické hmoty (Grdiša et al. 2013).

Důležitou roli při vermikompostování hraje právě konzumace, trávení a vylučování žížal. Hlavní význam mají enzymy ve střevech žížal (Ravindran et al. 2016). Jejich vápenaté žlázy v jícnu (Plíva et al. 2016) zvyšují hodnotu pH, při které se začnou množit bakterie, plísně, řasy a prvoci (Lemtiri et al. 2014), které napomáhají k lepšímu vstřebávání organické hmoty. Postupně se ve střevě asimiluje uhlík a dusík až jsou přeměněny a uvolněny ve formě oxidu uhličitého a oxidu dusného. Ve střevě jsou také zničeny patogeny, a to pomocí antibakteriálních látek obsažených ve střevní mikroflóře (Ravindran et al. 2016).

### *Eisenia andrei* a *Eisenia fetida*

Pro proces vermikompostování jsou nejvhodnější žížaly epigeické, a to z mnoha důvodů. Vykazují největší spotřebu a nejrychlejší trávení organické hmoty. Zároveň jsou velmi odolné vůči změnám okolních podmínek a jsou charakteristické krátkým životním cyklem, vysokou reprodukcí a snadnou kultivací (Gajalakshmi & Abbasi 2004). Všechny tyto charakteristiky prospěšné pro vermikompostování nejlépe vykazuje druh *Eisenia andrei*, neboli žížala kalifornská a také *Eisenia fetida*, žížala hnojní (Yilmaz Cincin & Agdag 2020).

Žížala kalifornská a žížala hnojní jsou druhy, které jsou si velice blízké. Tyto druhy jsou ovšem rozdílné a je nutné je například kvůli kvalitní reprodukci jednotlivých druhů oddělit (Domínguez et al. 2005). Žížaly kalifornské a hnojní nejsou použity pouze na vermikompostování, ale také při ekotoxikologických či genetických studiích. Jsou přítomné téměř po celém světě, jelikož jsou tolerantní vůči rozdílným teplotám a vlhkosti, lze s nimi tedy dobře manipulovat (Domínguez 2004).

Tyto dva druhy byly nejprve rozpoznány pouze podle rozdílné pigmentace těla (Domínguez et al. 2005). Žížala hnojní je pruhovaná či páskovaná s bledou či žlutou barvou a žížala kalifornská se vyznačuje červenou barvou po celém těle. Pigmentace těla je tedy hlavním rozpoznávacím znakem mezi těmito druhy (Plytycz et al. 2018). Většinu životních pochodů mají tyto druhy totožné, u *Eisenia andrei* ovšem můžeme pozorovat rychlejší růst a reprodukci (Domínguez et al. 2005). Některé studie zjistily, že žížaly mají odlišné fluorescenční otisky a metabolizují jiné druhy molekul (Albani et al. 2003). Po dlouho probíhajících dohadách, bylo zjištěno, že *Eisenia andei* je poddruhem *Eisenia fetida*, což vysvětluje téměř totožné životní pochody (Pérez-Losada et al. 2005).



Obrázek č. 1. Žížala kalifornská (Autor Milan Kořínek 2017).



Obrázek č. 2. Žížala hnojní (Rob Hille 2014).

### 3.2.6 Mikroorganismy podílející se na vermikompostování

Na procesu vermikompostování se podílí mnoho druhů mikroorganismů a řada z nich není ani přesně známa (Thakur et al. 2021). Několik mikroorganismů působí přímo ve střevech žížal a napomáhají tak rozkladu organické hmoty přímo (Monroy et al. 2009). Mnoho jiných druhů, především plísně, prvoci a některé rezistentní bakterie, jsou však vázány na odlitky žížal, tedy exkrementy (Brown & Doube 2004). Tyto vzniklé odlitky jsou bohaté na amonný dusík a částečně strávenou organickou hmotu a jsou tak skvělým substrátem pro mikroorganismy (Thakur et al. 2021).

#### 3.2.6.1 Popis mikroorganismů a jejich funkce během vermikompostování

Mikroorganismy jsou nedílnou součástí životního prostředí a života na Zemi vůbec. Mikroorganismy v půdě jsou hlavními činiteli koloběhu prvků a mají vliv téměř na všechny pochody v ekosystémech (Dobrovol'skaya et al. 2015). Složení půdy má vliv na taxonomické složení mikrobiální komunity a také na jejich aktivitu. Mikroorganismy napomáhají k přeměně uhlíku v půdě. Uhlík je ovlivněn druhy a aktivitou mikroorganismů, enzymatickou aktivitou vytvořenou mikroby a také rychlostí rozkladu organické hmoty. Mikrobiální společenstva ovlivňují také rostlinné živiny, a to především svou početností a svými vyprodukovanými enzymy. Mikroorganismy mají také fyto-sanitární funkci (Nikitin et al. 2022).

I když se jako podstata procesu vermikompostování uvádějí žížaly, jsou to právě mikroorganismy, které provádějí biochemické rozklady organické hmoty. Žížaly ovšem svou činností zvětšují plochu pro mikroorganismy a díky nim mohou růst, rozmnožovat se a provádět degradabilní procesy (Lores et al. 2006). Mikroby jsou v hojném počtu nejen během vermikompostování, ale také v konečném produktu (Vukovic et al. 2021). Jsou to pak především mikroby fixující dusík, rozpouštějící fosfáty či ty bakterie které produkují enzymy a podporují růst rostlin (Sinha et al. 2010). Mikroorganismy napomáhají v přírodních cyklech uhlíku, dusíku a fosforu (Vukovic et al. 2021).

Aktivita mikroorganismů je zvýšena především kvůli obsahu dusíkatých látek v organické hmotě (Ravindran et al. 2016). Mikroorganismy jsou skvělými rozkladači například bílkovin, hemicelulózy, celulózy a ligninu. Jsou schopni také zvlhčovat své prostředí, a tím se organická hmota kolem nich stává stabilnější (Singh et al. 2020).

Pomocí obsahu fosfolipidových mastných kyselin můžeme určit, zda mikroorganismy dosahují dostatečné diverzity, aktivity či množení. Fosfolipidové mastné kyseliny nám ukazují, jak se skupiny mikroorganismů mění v průběhu procesu a zda je průběh optimální (Villar et al. 2016).

Zastoupení kmenů bakterií závisí především na druhu vstupního materiálu a také na aktivitě žížal. Nejnižší rozmanitost mikroorganismů pozorujeme na začátku procesu, tato rozmanitost se postupně, ale zároveň výrazně zvyšuje v průběhu procesu. (Vukovic et al. 2021). Nejčastějšími kmeny bakterií jsou Proteobacteria, Bacteroidetes, Aktinomycety, Firmicutes či druhy z kmene Verrucomicrobia. Proteobakterie jsou nejvíce ve vstupním materiálu a postupně se jejich hojnost snižuje (Domínquez et al. 2019).

### 3.2.6.2 Houby

Houby mají velký vliv na mobilizaci fosforu, pomáhají zpřístupnit organofosforečnany či anorganické sloučeniny fosforu. Nejčastěji se těchto procesů účastní mykorhizní houby (Nikitin et al 2022). Až 98 % rostlin je symbiotických s mykorhizními houbami a pomocí hyf jsou rostlinám dodávány živiny a látky podporující růst (Smith & Read 2012). S nárůstem mykorhizních hub dochází také ke zvýšené koncentraci dusíku (Nikitin et al. 2022). Nejčastějšími mykorhizními houbami, které nalezneme v substrátech jsou z oddělení Glomeromycota (Smith & Read 2012).

Například v čistírenských kalech je dominantní oddělení hub Basidiomycota (stopkovýtrusné houby). Po pozření materiálu žížalou se ve střevech stanou zásadní změny ve složení hub. Zatímco stopkovýtrusné houby začnou ve střevech mizet, začne se tvořit oddělení hub Ascomycota (vřeckovýtrusné houby) a Mortierellomycota. Co se týče rodů jsou ve střevech sníženy počty *Apiotrichum*, kvasinek *Candida* a *Kazachstania* a také dochází k početní redukci rodu *Trichosporon*. Naopak druhy, které zvětšují svou populaci řadíme do rodů *Clonostachys*, *Mortierella* a *Fusarium*, které se běžně vyskytují v půdě. Dále ve střevech žížal vznikají rody *Coprinus* a *Humicola*. Co se týče hotového vermikompostu, charakterizujeme zde především oddělení Mortierellomycota a Blastocladiomycota. Vermikompost obsahuje ve větší koncentraci rody *Debaryomyces*, *Mortierella*, *Scedosporium* a *Trichosporon* (Domínquez et al. 2021).

### 3.2.6.3 Bakterie

#### *Gramnegativní bakterie*

Gramnegativní rod bakterií *Pseudomonas* z oddělení Proteobacteria napomáhají s přístupností fosfátů pro rostliny. Dalším gramnegativním rodem ve vermikompostu je *Azotobacter*, který nám v půdě fixuje dusík (Chitrapriya et al. 2013). Další rod fixující dusík je zde *Devosia*, který je také schopný uvolňovat látky, které jsou prospěšné pro růst rostlin. Rod *Achromobacter*, nám produkuje enzymy degradující rostlinné zbytky (Domínquez et al. 2019).

V čistírenských kalech, vstupujících do vermikompostovacího procesu, se nejhojněji vyskytují kmeny Bacteroidetes, Bdellovibrionota, Campilobacterota a Proteobacteria (Domínquez et al. 2021). Většina původních bakterií se výrazně zredukuje a nahradí je kmen Verrucomicrobiota, či se zvýší hojnost některých původních kmenů jako Proteobacteria a Bacteroidetes (Aira et al. 2015). Co se týče určených rodů, víme že ve střevech žížal dojde k výraznému poklesu rodů *Terrimonas*, *Bacteroides*, *Cloacibacterium* a *Macellibacteroides*. Naopak ke zvýšení populace dochází u rodů *Dyadobacter*, *Aeromonas*, *Luteolibacter*, *Devosia*, *Cellvibrio*, *Pedobacter* či rodu *Sphingomonas* (Domínquez et al. 2021).

Ve vzniklém vermikompostu nalezneme kmeny Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Proteobacteria a Verrucomicrobiota (Cai et al. 2018). Z gramnegativních rodů máme ve vermikompostu *Alcanivorax* a *Nitrosomonas* (Ma et al. 2022).

### *Grampozitivní bakterie*

Z grampozitivních bakterií se ve vermikompostovacím materiálu setkáme například s rody *Bacillus* a *Streptomyces*, které napomáhají v rozpouštění fosfátů (Chitrapriya et al. 2013). Dále se zde setkáme s rodem *Cellulomonas* produkující enzymy, které degradují rostlinné buňky (Domínguez et al. 2019).

Z grampozitivních bakterií nalezneme ve vstupním materiálu například kmen Firmicutes a rody *Acetoanaerobium* a *Proteocatella*, jejich počty se ovšem ve střevech žížal redukuje (Domínguez et al. 2021).

### *Aktinomycety*

Bakterie kmene Aktinomycety patří mezi grampozitivní bakterie. Na procesu vermikompostování, se z kmene Aktinomycet účastní právě výše zmíněné rody *Streptomyces* či *Cellulomonas* (Vukovic et al. 2021).

Ve výsledném produktu, vermikompostu, nalezneme Aktinomycety v podstatě v hojném počtu v závislosti na vstupních materiálech (Gómez-Brandón et al. 2020).

#### 3.2.6.4 Celková mikrobiální biomasa

Při procesu vermikompostování jsou pozorovány změny v mikrobiálním složení na počátku a na konci procesu. Změny v mikrobiologickém zastoupení probíhají především ve střevech žížal a vzniklé žížalí odlitky (výkaly) se mírně odlišují svým složením. Například vstupní materiál v podobě čistírenských kalů obsahuje na počátku kolem 19 kmenů bakterií. Z řady studií vyplývá, že složení bakterií a hub, bylo téměř shodné při použití jakéhokoli vstupního materiálu. Ve všech vzniklých vermikompostech dominují především kmene Proteobacteria, Aktinobakterie, Bacteroidota a Verrumicrobiota, většina z nich je tedy gramnegativní (Domínguez et al. 2021).

Rozklad organických látek nejčastěji doprovází bakterie *Aminobacter aminovorans*, *Bacteroides reticulotermitis* či *Pectobacterium carotovorum* a také houby *Citeromyces matritensis* či *Arthrotrrys oligospora* (Huang et al. 2014). Bakterie jsou ve vermikompostu zastoupeny podstatně více než houby (Schönholzer et al. 1999). Bylo zjištěno, že žížaly mohou odstranit až 85 % koliformních bakterií (Monroy et al. 2008). Houby a aktinomycety jsou více adaptovány na kyselé prostředí, a proto je ve vermikompostu nalezneme pouze v takové míře (Gock et al. 2003; Rousk et al. 2010). Bakterie dosahují vyšších koncentrací z důvodu vyššího obsahu vody a také dostatečného množství biologicky rozložitelných látek. Houby jsou redukovány také kvůli tomu, že slouží jako potrava pro žížaly (Schönholzer et al. 1999).



### 3.2.7 Enzymy a jejich aktivita během vermikompostování

Enzymů, působících jako biokatalyzátory, nalezneme při procesu vermikompostování nepřeberné množství. Díky enzymům probíhá proces přiměřeně rychle a napomáhají odpad degradovat a stabilizovat (Enebe & Erasmus 2023). Enzymy pomáhají především štěpit složitější molekuly na jednodušší formy, které jsou následně přístupnější rostlinám a mikroorganismům v půdě (Singh et al. 2020).

Enzymy jsou podle mezinárodní komise děleny do sedmi hlavních skupin. První skupina enzymů, Oxidoreduktázy, katalyzují oxidačně-redukční reakce; druhá skupina, Transferázy, přenášející funkční skupiny z donoru na akceptor. Enzymy Hydrolázy zapříčiňují hydrolýzu; a Lyázy štěpí chemické vazby, ale ne hydrolýzou či oxidačně redukčními procesy. Pátá skupina enzymů, Izomerázy, přemísťují atomy a jejich skupiny uvnitř molekul. Předposlední skupina enzymů se nazývá Ligázy a katalyzují složitější vazby molekul. Poslední skupina, Transloπέzy, zapříčiňuje přemísťování hydronů, anorganických kationtů či anorganických aniontů (International union of biochemistry and molecular biology 1992).

Každý enzym má během vermikompostování jinou funkci a některé jsou pro správný průběh obzvláště důležité. Nejdůležitější jsou enzymy rozkládající organický materiál a ty přeměňující organickou hmotu. Enzymy nám také napomáhají v koloběhu živin, například fixují dusík, napomáhají vázat uhlík či každou živinu zvlášť, ale mají také vliv například na živiny jako je fosfor či síra. Některé enzymy jsou schopné rozkládat nežádoucí a třeba i škodlivé látky pro mikroorganismy či žížaly. Jsou schopny redukovat nepříznivé vlivy pesticidů, léčiv, xenobiotik či prostředků osobní péče. (Gunjal et al. 2019). Při vermikompostování se sledují především aktivity hydroláz a jejich metabolické pochody při rozkladu organické hmoty (Hanč et al. 2022).

Hydrolytické enzymy jsou extracelulárními enzymy a jsou tak vylučovány mikroorganismy do okolí. Druhy enzymů a jejich produkci můžeme ovlivnit vstupním materiálem (Benitez et al. 2005). Hydrolytické enzymy lze také získat komerčním způsobem, avšak tato metoda je finančně náročná. Zisk enzymů pomocí mikroorganismů probíhá samovolně a nejsou tak potřeba žádné finanční prostředky. Oba způsoby vykazují podobně výkonné enzymy (Nabarlatz et al. 2012).

#### 3.2.7.1 Enzymatická aktivita

Mikroorganismy během své činnosti při vermikompostování vytvoří mnoho druhů enzymů (Enebe & Erasmus 2023). Tyto enzymy mají různé účely, a to například podílení se na oxidačně redukčních reakcích, na hydrolýze, jsou součástí koloběhu živin a také pomáhají přemísťovat různé chemické látky. Těmito katalytickými procesy napomáhají ke spojování chemických molekul či napomáhají k jejich rozkladu a uvolňují tak živiny. Jsou také schopny přetvářet vstupní materiály vermikompostování na výsledný produkt vermikompost. Enzymatická aktivita tak slouží jako indikátor správně probíhajícího procesu a zralosti vermikompostu (Tiqui 2002; Karmegam et al. 2019; Santana et al. 2020).

Enzymatická aktivita slouží jako indikátor správného postupu rozkladných procesů během vermikompostování (Aira et al. 2007) Slouží jako indikátor o přeměně složitých organických látek na jednodušší, lépe přístupnější látky. Díky enzymatické aktivitě můžeme posoudit stabilitu konečného produktu a indikují život žížal. Celkově díky enzymatické aktivitě můžeme hodnotit celý proces vermikompostování (Fernández-Gómez et al. 2010).

Enzymatická hydrolýza je hlavním rozkladným procesem při procesu vermikompostování a je tedy nezbytná (Enebe & Erasmus 2023). Nejnižší enzymatická aktivita je pozorována na začátku procesu vermikompostování a postupně se tato aktivita zvětšuje (Hanč et al. 2022).

### 3.2.7.2 Faktory ovlivňující enzymatickou aktivitu

Dá se říct, že enzymatickou aktivitu nejvíce ovlivňují přítomné mikroorganismy, a to svou diverzitou, aktivitou, množstvím a životaschopností. V podstatě vše, co ovlivňuje činnost a život žížal a mikroorganismů, následně ovlivní i enzymy a jejich aktivitu (Srivastava et al. 2021).

### 3.2.7.3 Enzymy zkoumané během vermikompostování

#### *β-D-glukosidáza*

Nalezneme ji téměř ve všech složkách životního prostředí a je hlavním účastníkem koloběhu uhlíku (Hanč et al. 2022). Jejím působením se celulóza přeměňuje do molekuly glukózy (Payne et al. 2015). Díky tomuto enzymu můžeme určit, zda půda obsahuje dostatečné množství organické hmoty a zda má dostatečnou kvalitu. Přidáním organických hnojiv do půdy přispíváme k větší aktivitě tohoto enzymu (Almeida et al. 2015).

Enzym β-D-glukosidáza hydrolyzuje především maltózu a celulózu (Utobo & Tewari 2015) a používáme ho jako indikátor kvality půdy (Adetunji et al. 2017). Doprovází nejen rostliny a živočichy, ale také plísně, bakterie či kvasinky (Veena et al. 2011). Katalyzuje hydrolýzu a účastní se především poslední rozkladné fáze celulózy (Adetunji et al. 2017). Jejím působením vzniká glukóza, což je klíčový energetický zdroj uhlíku pro růst a aktivitu půdních mikroorganismů (Merino et al. 2016).

Pokud se pH půdy přiblíží neutrálním hodnotám, klesne aktivita β-D-glukosidázy (Adetunji et al. 2017). Tento pokles nám může sloužit jako indikátor změny acidity půdy (Acosta-Martinez & Tabatabai 2000). Aktivitu β-D-glukosidázy může ovlivnit také vlhkost půdy či vermikompostu (Zhang et al. 2011), enzym hůře snáší sucho a jeho aktivita při něm razantně klesá. Aktivitu tohoto enzymu může ovlivnit také slanost půdy (Rietz & Haynes 2003) či obsah rizikových prvků. Jelikož je β-D-glukosidáza závislá na mikroorganismech a substrátu, kterých je více v horních vrstvách půdy, její aktivita klesá s hloubkou půdy (Wang & Lu 2006).

### *Kyselá fosfatáza*

Enzym kyselá fosfatáza zapřičiňuje hydrolyzu monoesterů a fosforečných anhydridů (Horáková & Němec 2003). Dochází tedy k mineralizaci organického fosforu (Enowashu et al. 2009). Fosfáty, které jsou rozložitelné mikroorganismy jsou důležité pro přeměnu organického fosforu na biologicky dostupné formy s obsahem kyselá i zásadité fosfatázy (Zheng et al. 2021).

Jelikož rostliny zvládají přijímat fosfor především v anorganické formě a většina fosforu v půdě je ve formě organické (Nannipieri et al. 2011), pomáhají si rostliny vytvářením enzymu fosfatázy. Kořeny rostlin a mikroorganismy zvyšují počet enzymů fosfatázy, čímž se zlepší rozpustnost fosfátů a vznikne tak pro rostlinu přístupná forma fosforu (Kai et al. 2002). Aktivita fosfatázy nám slouží jako indikátor obsahu anorganických forem fosforu (Piotrowska-Dlugosz & Charzynski 2015). Kyselá fosfatáza se, jak už název napovídá, vyskytuje především v kyselých půdách (Dodor & Tabatabai 2003).

Aktivita fosfatázy je ovlivněna významně hodnotou pH. Podle hodnoty pH se v půdě vyskytuje jiný druh fosfatázy (Dodor & Tabatabai 2003), pokud je půda kyselá je zde aktivní kyselá fosfatáza, kdežto alkalická fosfatáza je na ústupu a naopak. Obě tyto fosfatázy mají také jiný původ. Kyselou fosfatázu nalezneme v kořenových exsudátech, kdežto alkalická fosfatáza je vylučována půdními mikroorganismy (Šarapatka & Čáp 2013). Poměr alkalické a kyselá fosfatázy nám ukazuje, zda půda vykazuje optimální hodnoty pH pro rostliny, či zda je potřeba tuto hodnotu vyvážit přidáním vápna (Dick et al. 2000). Aktivitu kyselá fosfatázy může snížit například sucho či obsah rizikových prvků (Adetunji et al. 2017).

### *Arylsulfatáza*

Arylsulfatáza je hlavním enzymem účastnící se koloběhu síry (Uzarowicz et al. 2020). Ve vermikompostu ovlivňuje hydrolyzu a rozpad arylsulfátu, také vazby mezi uhlíkem a sírou a za jeho pomoci se vytváří anorganické sulfátové molekuly (Santana et al. 2020). Mineralizací organické síry dochází ke vzniku  $S-SO_4^{2-}$  (Uzarowicz et al. 2020).

### *Lipáza*

Lipáza ovlivňuje rozpad lipidů (tuků) na mastné kyseliny a glycerol. Lipáza se také podílí na koloběhu uhlíku. Při vermikompostování vykazuje lipáza často největší aktivitu (Enebe & Erasmus 2023). Tyto enzymy nalezneme téměř v každém prostředí, a kromě rozkladu tuků a olejů se podílí na mnoha dalších reakcích. Mají vliv také na esterifikaci a aminolýzu v organických rozpouštědlech. Tento enzym je podroben různým studiím a je možné, že v budoucnosti bude využit v mnoha průmyslových odvětvích (Villeneuve et al. 2000).

### *Chitináza*

Také chitináza se účastní koloběhu uhlíku a je tedy velmi důležitým enzymem. Má obranné účinky proti chorobám a škůdcům rostlin a také ovlivňuje vývoj plísní. Katalyzuje rozklad odpadu, ve kterém je obsažen chitin, jako například ptačí peří, hmyz či houby (Enebe & Erasmus 2023). Nejvíce chitinázy jsou schopné vyprodukovat aktinobakterie (Jayasinghe & Parkinson 2009). Její aktivita klesá postupně se zralostí vermikompostu (Enebe & Erasmus 2023).

Chitinázy můžeme rozdělit do dvou skupin, podle polohy štěpení chitinu. Exo chitinázy rozkládají chitin na konci řetězců, oproti tomu endo chitinázy jsou schopny štěpit chitin na jakémkoliv poloze v řetězci. Chitináza se podílí na biologii hub a především plísni, kdy ovlivňuje vztahy mezi nimi, jejich živiny či buněčnou stěnu (Tzelepis & Karisson 2021).

#### *Celobiohydroláza*

Celobiohydroláza hydrolyzuje  $\beta$ -D-glukosidické vazby celulózy a celotetraózy a také nám uvolňuje celobiózu nebo glukózu z celulóзовého řetězce (Mertz et al. 2007). Díky tomuto enzymu se lignocelulóзовé materiály stávají čistšími a zbavují se nežádoucích nečistot a je tak možné vytvořit biopaliva či výrobky z biologického materiálu. Tento enzym nám vytvářejí především vláknité houby (Zoglowek et al. 2015).

#### *Alanin a leucin aminopeptidáza*

Aminopeptidázy řadíme mezi exopeptidázy, tedy enzymy, které rozkládají bílkoviny během trávení. Jsou schopné uvolňovat konečný dusík z aminokyselin, peptidů, alaninu, leucinu či například z amidů. Štěpí peptidy jen z konců řetězců a většina odstraňuje celé aminokyseliny najednou (Wickström et al. 2011).

### **3.2.8 Produkty vermikompostování**

#### 3.2.8.1 Vermikompost

Hlavním produktem vermikompostování je vermikompost, který se dá považovat za velmi kvalitní organické hnojivo (Ndegwa et al. 2000). Vlhkost finálního produktu by se měla pohybovat v rozmezí 50 až 70 %. Hodnota pH se pohybuje od 6 do 9, tedy kolem neutrálních hodnot (ČSN 46 5736). Hmotnostní úbytek může přesahovat i 60 % vstupní váhy materiálu (Amaravathi & Reddy Mallikarjuna 2015). Vzniklé hnojivo se vyznačuje hnědou až černou barvou s drobtovitou a hrudkovitou strukturou. Dalším kvalitativním znakem vermikompostu je poměr C: N, který by měl být maximálně 30: 1 (ČSN 46 5736).

Toto organické hnojivo je považováno za šetrné k životnímu prostředí, a to jak jeho výroba, tak také aplikace na půdu. Po aplikaci je pozorováno výrazné zkvalitnění vlastností půdy (Singh et al. 2020). Aplikace vermikompostu zvyšuje výnosy zemědělských plodin a půda se rychleji obnovuje (Sinha & Herat 2012). Obsahuje také humáty a fulváty, které významně ovlivňují růst rostlin a mohou například odbourávat škodlivé látky (Edwards et al. 2011). Vermikompost může rostlině poskytnout také růstové hormony jako například gibereliny, auxiny a cytokininy (Ravindran et al. 2015).

Vermikompost půdu významně obohacuje o živiny a mikroorganismy. Přítomné bakterie a aktinomycety produkují organické těkavé látky, které eliminují patogenní látky v půdě (Mu et al. 2017).

Podle vyhlášky č. 474/2000 Sb. o stanovení požadavků na hnojiva, musí vermikompost splňovat obsahy některých látek. Například spalitelné látky musí dosahovat minimálně 35 % a stanovují se pomocí ztráty žíháním. Hodnotí se také obsahy důležitých živin jako je fosfor, dusík a draslík (Ministerstvo zemědělství, Vyhláška č. 474/2000 Sb.). Dusík dosahuje minimálně 1 % a hodnotí se jako celkový dusík v sušině. Draslík v podobě oxidu draselného dosahuje též minimálně 1 % a celkový fosfor nalezneme v podobě oxidu fosforečného a obsah nesmí být nižší než 0,6 % (ČSN 46 5736).

Pokud chceme vermikompost aplikovat na půdu, musíme provést analýzu na obsahy rizikových prvků. Nejvyšší přípustné množství těchto prvků nám určuje ČSN 46 5736 o vermikompostech (Tabulka č. 1).

Tabulka č. 1 – Nejvyšší přípustná množství rizikových prvků mg/1 kg vysušeného vzorku (ČSN 46 5736).

Rizikový prvek	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Mo	Ni	Pb	Zn
<b>Maximální množství v mg</b>	20	2	100	150	1	20	50	100	600

### 3.2.8.2 Žížaly

Vermikompostování se v posledních letech rozšiřuje nejen kvůli tvorbě kvalitního organického hnojiva, ale také kvůli obchodu s živými žížalami. To, jak dostat žížaly z vermikompostu, a především z velkoprodukčních zařízeních je stále ve fázi vývoje (Lin et al. 2021). V dnešní době se žížaly z vermikompostu vybírají ručně, či pomocí drobných nástrojů, avšak tyto metody jsou velmi neefektivní a časově náročné (Gopal & Gupta 2019). Za pomoci separačního nástroje jsme schopni odstředivou silou získat z vermikompostu přes 80 % žížal, avšak musí být dodržena vlhkost pod 45 % (Lin et al. 2021). Žížaly se musí oddělit od hotového vermikompostu co nejdříve po dokončení procesu (Gopal & Gupta 2019). Žížaly můžeme nalákat například na potravu, vypudit je osvětlením či zahřátím (Lin et al. 2021)

Po dokončení procesu máme k dispozici mnoho žížal, především nedospělé jedince a kokony. Můžeme je využít jako násadu při dalším vermikompostování. V některých zemích dochází k obchodu s žížalami, právě pro vermikompostování či k dalším účelům (Zajonc 1992). Žížaly jsou ale také prodávány jako krmivo bohaté na bílkoviny, kde ob stojí také na obsahy aminokyselin, a jsou tedy vhodné jako krmivo pro domácí zvířata (Ding et al. 2019). Jedinci slouží dobře na výkrm drůbeže či ryb či (Parolini et al. 2020). Jelikož žížaly akumulují rizikové prvky z vermikompostu, je nutné tyto obsahy kontrolovat v krmenech zvířatech a popřípadě zkrmování žížalami ukončit (Zajonc 1992).

### 3.2.8.3 Žížalí čaj

Tekutina vznikající při vermikompostování se nazývá žížalí čaj (Carlos et al. 2008). Tento výluh je odebírán a je často využíván jako tekuté organické hnojivo (Arancon et al. 2020). Výluh obsahuje poměrně velké množství živin a musí s ním být tedy zacházeno opatrně.

V některých případech kvůli svým obsahům živin může být až toxický a měl by se tedy ředit. Může působit jako inhibitor klíčení a růstu rostlin (Frederickson 2002). Vhodné ředění se udává 1: 10 s vodou (Carlos et al. 2008). Výluh obsahuje i velké množství huminových a fulvových kyselin, které mají vliv na růst a vývoj rostlin (Gutiérrez-Miceli et al. 2014). Výluh dosahuje nejčastěji neutrálních pH hodnot (Carlos et al. 2008). Bylo zjištěno, že neobsahuje patogenní mikroorganismy, jako například *Escherichia coli* či rod *Salmonella* (Gutiérrez-Miceli et al. 2014).

V posledních letech se začaly vytvářet výluhy, které jsou uměle vytvořené (Arancon et al. 2007). K tvorbě umělého výluhu existují nádoby, do kterých se vloží vermikompost a voda. Tyto dvě hlavní suroviny se smíchají, a to pomocí míchání či provzdušňování (Cabaces et al. 2015). Do vody jsou postupně uvolňovány živiny (Arancon et al. 2007) a látky působící jako ochrana proti škůdcům či chorobám (Bidabadi 2018). Tento výluh tvořený jako klasický čaj, se nazývá správně žížalí čaj. Tekutina, která vytéká přímo z vermikompostovacího procesu, by teda tento název nést neměla (Arancon et al. 2007).

### 3.2.9 Výhody a nevýhody vermikompostování

Největší výhodou vermikompostování je celkový biologický proces (Vukovic et al. 2021). Tento proces je považován za rychlý a jeho výsledný produkt dosahuje velmi kvalitních vlastností (Thakur et al. 2021). Vermikompostování nás nejen zbavuje vzniklého biologicky rozložitelného odpadu, ale také nám poskytuje vermikompost, který je svými vlastnostmi nenahraditelný (Adhikary 2012). Působí dobře na rostliny, půdu a celé životní prostředí (Reddy et al. 2013).

#### 3.2.9.1 Vliv žížal na půdu

Žížaly svou činností zásadně ovlivňují fyzikální, chemické i biologické vlastnosti půdy (Shuster et al. 2000). Žížaly ovlivňují strukturu půdy především 2 základními mechanismy. Prvním způsobem je jejich zpracování organické hmoty, kdy mění vlastnosti a složení těchto látek a ve formě svých exkrementů je roznášejí do různých vrstev půd (Blouin et al. 2013). Druhým způsobem, jak mění strukturu, je tvoření chodbiček v půdě a přemísťování tak části podloží na povrch půdy. Díky těmto mechanismům dochází k větší hustotě pórů v půdě, lepší aeraci a také k tvorbě půdních částic (Ansari & Ismail 2012).

Mineralizováním organické hmoty dochází k uvolňování živin, které jsou v přijatelnější formě pro rostliny (Ananthanarayanan et al. 2021). Žížaly mají vliv na celkové koloběhy živin v půdě, a to především na uhlík a dusík (Bossuyt et al. 2005). Působením žížal dochází k lepšímu zadržení vody v půdě (Angst et al. 2017). Zpracovaná organická hmota je dále mnohem přístupnější pro mikroorganismy, které tento materiál mohou dále zpracovávat. Činností žížal se právě zvyšuje množství a aktivita mikroorganismů (Domínquez et al. 2019; Vukovic et al. 2021).

### 3.2.9.2 Vliv aplikace vermikompostu na půdu a celkové životní prostředí

Hnojivo vermikompost je bohaté na obsahy živin, mikroorganismů a enzymů a mají tak blahodárný vliv na půdu a okolí. Celkově vermikompost zlepšuje stav půdy a ta se tak stává lepším prostředím pro rostliny. U rostlin tak můžeme pozorovat vyšší odolnost vůči chorobám a škůdcům a také zvyšující se výnos pěstovaných plodin (Deepthi et al. 2021; Enebe & Erasmus 2023). Bylo zjištěno, že po aplikaci vermikompostu dochází také ke snížení globálního oteplování díky snížení emisí skleníkových plynů (Haquel & Biswas 2021).

Vermikompost obsahuje mnoho prospěšných živin, především těch ve vodě rozpustných, které jsou lépe přijímány rostlinami. V půdě vermikompost redukuje škodlivé látky a patogeny rostlin. Aplikací můžeme v půdě zregulovat poměr C: N a také dodat důležitou živinu, dusík. Vermikompost dodá půdě také prospěšné mikroorganismy, především bakterie (Thakur et al. 2021).

### 3.2.10 Systémy vermikompostování

Vermikompostovat můžeme několika metodami, které se dělí především podle velikosti zařízení. V domácnostech se nejčastěji setkáme s malými nádobami, které mají různou konstrukci. V domácích vermikompostérech dochází k přímému zpracování kuchyňských zbytků z dané domácnosti. Velkoprodukční vermikompostování zahrnuje různé technologické postupy, které dělíme na jednoduché a složité systémy. Mezi jednoduché systémy patří vermikompostování v pásových hromadách na volné ploše či v ohraničených záhonech. Ke složitým systémům řadíme různé druhy vermireaktorů. Ať se jedná o jakýkoliv způsob, vždy musí být zabezpečeny optimální podmínky pro život žížal a pro správný průběh rozkladných procesů (Hanč & Plíva 2013).

#### 3.2.10.1 Maloprodukční

Celý proces probíhá v uzavřené nádobě, z různého materiálu. Nádoba je malá, a proto se vejde do bytů. Je složena z několika pater a když žížaly zpracují bioodpad z jednoho patra, přelézají do dalšího, vyššího, patra. Na spodu nádoby je umístěn kohoutek, kterým je nutné pravidelně vypouštět vzniklý výluh. Postupně jsou odebírána patra s hotovým vermikompostem, tato patra jsou následně znovu použita pro čerstvý bioodpad. Maximálně je možné využít 4 patra najednou. U domácích vermikompostérů je nutné dodržovat teplotu kolem 20 °C, a také dostatečnou vlhkost, kterou můžeme podpořit občasným postříkem (Hanč & Plíva 2013).

### 3.2.10.2 Velkoprodukční

#### 3.2.10.2.1 Pásová zakládka na volné ploše

K vermikompostovacímu procesu dochází na volném prostranství a bez zakrytí. Je to jeden z nejlevnějších a nejjednodušších způsobů, jak přeměnit organický odpad pomocí žížal na kvalitní hnojivo. Zakládky nemusíme díky žížalám překopávat, pouze musíme hlídat správnou vlhkost procesu. Na 1 m<sup>2</sup> se snažíme dodržet 50 000 jedinců žížal. Dochází k postupnému přikrmování žížal, buď 10 cm organického materiálu za 1 týden, nebo 20-30 cm za 2 týdny či 30-50 cm jednou za 3 týdny. Žížaly postupně z hotového vermikompostu přelézají na čerstvě přidáný odpad. Nejsložitější na samotném procesu je získání žížal z hotového vermikompostu. Na hromady mírně působí povětrnostní vlivy a také mráz v zimě, kdy zamrzne tenká vrstva povrchu, ovšem žížaly pod touto vrstvou dál provádějí rozkladné operace (Plíva et al. 2016).

#### 3.2.10.2.2 Ohraničené záhony

Materiál je ohraničen nejčastěji v záhonech s šířkou 2 m a často jsou pod přístřeškem. Vermikompostování je tak částečně chráněno před okolními vlivy a také před zvířaty požírající žížaly. Především při vyšších venkovních teplotách je nutné záhony zavlažovat a je tak nutné u záhonu vytvořit mírný svah, aby docházelo k odtoku přebytečné vláhy. I v tomto postupu je těžší odebrat žížaly z hotového vermikompostu (Hanč & Plíva 2013).

#### 3.2.10.2.3 Vermireaktory

Vermireaktory řadíme ke složitějším technologiím ve vermikompostování. Tyto složité technologie probíhají v uzavřeném zařízení a dochází tak k urychlení procesu, zmenšení potřebné plochy a také je snadnější využít vzniklý výluh. Celý proces lze tak řídit a automatizovat a jsou tak dodrženy optimální podmínky. Rozeznáváme vermireaktory dvoumodulové či se souvislým procesem (Hanč & Plíva 2013).

Dvoukomorový vermireaktor je složen ze dvou totožných nádob, které jsou buď propojeny či fungují každý zvlášť. Ve vermireaktorech dochází k urychlení procesu, lepší hygienizaci materiálu a také k zajištění optimálních podmínek pro život žížal a mikroorganismů. V prvním reaktoru probíhá nejprve proces předkompostování, tedy bez přítomnosti žížal, až následně je připojen druhý vermireaktor s žížalami. Po přežení většiny žížal do reaktoru s předkompostovaným materiálem, jsou reaktory opět odpojeny. Vermireaktor bez žížal se vyčistí a naplní čerstvým organickým odpadem, kde opět probíhá předkompostování. Po předkompostování se opět připojí první vermireaktor s hotovým vermikompostem a žížaly z něj přelézou do druhého reaktoru s předkompostovaným materiálem. Tento postup se stále dokola opakuje (Plíva et al 2016).

Druhým způsobem vermikompostování ve vermireaktorech je systém se souvislým procesem. Velkým vermireaktorem postupně protéká od shora dolů často předkompostovaný bioodpad. Žížaly ho zpracovávají především v horních vrstvách vermireaktoru, kde je dostatek vzduchu a čerstvý materiál. Vzniklý vermikompost je získáván spodem vermikompostéry, kde se otevře otvor a vybere se sítím propadlý kvalitní vermikompost (Hanč & Plíva 2013).



### 3.2.11 Vermifiltrace

Vermifiltrace je proces čištění různých druhů odpadních vod za pomoci žížal (Singh et al. 2018). Odpadní voda je bohatá na spoustu živin a je možné ji využít na zemědělských půdách. Voda využívaná v systému vermifiltrace neobsahuje čistírenské kaly a nedoprovází ji ani zápach (Luth et al. 2011). Systém obsahuje nádobu s odpadní vodou, filtrační jednotku a podestýlkový materiál vhodný pro žížaly. Podestýlka je zde braná jako půda a nachází se navrchu. Ve spodní části nalezneme písek či štěrk a mezi ním protéká vyčištěná voda. Odpadní voda protéká přes podestýlku, kde jsou žížalami zpracované organické látky z odpadní vody (Sinha et al. 2012).

## 3.3 Čistírenské kaly

### 3.3.1 Charakteristika čistírenských kalů

Čistírenský kal pochází z primárního čištění odpadní vody, kde se sbírá ze sedimentačních nádrží, či to může být aktivovaný kal z biologického čištění odpadních vod. Tyto kaly obsahují jak látky anorganické, tak především pro vermikompostování nutné organické látky. Bohužel kal obsahuje značné množství patogenů (Demirbas et al. 2017), toxických látek (např. rizikové prvky, aromatické uhlovodíky a polychlorované bifenyly), léčiv, hormonů a dalších nežádoucích látek (Duşa et al. 2020). Pokud neupravený kal obsahuje větší koncentrace nežádoucích látek, je nemožné jej aplikovat na zemědělskou půdu (Kholostov et al. 2022).

Produkce kalů z čistíren odpadních vod se pohybuje kolem 45 milionů tun celosvětově za rok. Toto číslo vyjadřuje sušinu, tedy neodpařitelný zbytek po zahřívání a odpařování při teplotě do 105 °C (Zhang et al. 2017). Kaly se ještě do nedávna skládkovaly či byly bez úpravy aplikovány na zemědělskou půdu. Až nedávno se kaly začaly kompostovat a následně vermikompostovat. V České republice se v roce 2018 jedna třetina vyprodukovaných kalů, tedy přibližně 75 tisíc tun sušiny, kompostovala (Hanč et al. 2022).

Pro čistírenské kaly z odpadních vod se stále hledá technologie, která by měla ekonomické přínosy a byla zároveň šetrná k životnímu prostředí (Gavrilov et al. 2017). Vermikompostování je právě jedna z těch správných metod, jak si s narůstajícím množstvím kalů poradit (Kholostov et al. 2022).

### 3.3.2 Rozdělení čistírenských kalů

Čistírenské kaly jsou produktem čištění odpadních vod a jsou to látky kapalné či polotuhé. Podle procesů, kterými kal projde obsahuje 0,25 až 20 % sušiny (Collivignarelli et al. 2019). Tento vzniklý kal již neprochází v procesu čištění odpadních vod dalšími úpravami. Těmito úpravami se rozumí například aerobní či anaerobní digesce, tepelné sušení, alkalická stabilizace nebo dezinfekce (Ukwatta et al. 2015). Tyto kaly se dále využívají jako bohatý zdroj na živiny, energii či pro obsah organických látek (Ashkuzzaman et al. 2019).

Podle stupňů čištění odpadních vod dělíme také čistírenské kaly vzniklé v jednotlivých fázích. Primární kal vzniká v první fázi čištění, tedy v mechanické fázi. Sekundární neboli biologický kal vzniká v druhé fázi čištění a označujeme ho jako kal aktivovaný. V poslední, terciární fázi čištění vzniká kal směsný, který vzniká při pokročilejším čištění odpadních vod a odstraňujeme tak rozpuštěné látky z vody. Můžeme rozlišovat také vyhnílý kal (Collivignarelli et al. 2019).

#### 3.3.2.1 Primární kal

Primární kal vzniká v mechanickém čištění a jsou to především látky, které se usadí v usazovací nádrži. Tento kal je složen z usazovaných pevných látek a plovoucích látek v čerstvé odpadní vodě. Primární kal se vyznačuje vysokým obsahem hnilobných látek a obsahem sušiny od 2 do 7 % (Turovskiy & Mathai 2006).

#### 3.3.2.2 Sekundární kal

Sekundární kal vzniká při biologických úpravách odpadních vod a jde o tzv. proces s aktivovaným kalem či s nosiči biomasy neboli biofilmy. Aktivovaný kal je směs mikroorganismů ve vodě, která je odpovědná za proces čištění (Manara & Zabaniotou 2012). Tento kal obsahuje nejen bakterie, ale také plísně, kvasinky, prvoky či vířníky. Dále také obsahuje aktivovaný kal řadu anorganických látek a nerozložených organických látek jako například papír, oleje či rostlinné zbytky (Collivignarelli et al. 2019). Obsah sušiny v sekundárním kalu je 0,5 – 1,5 % a je tedy nižší než u primárního kalu (Turovskiy & Mathai 2006).

#### 3.3.2.3 Směsný kal

Směsný kal vzniká spojením kalu primárního a sekundárního a je to tedy tzv. směsný surový kal. Nejčastěji je tento kal zpracováván pomocí anaerobní stabilizace za vzniku bioplynu. Po stabilizaci a odvodnění nám vzniká odvoděný anaerobně stabilizovaný kal a kalová voda (Collivignarelli et al. 2019).

### 3.3.3 Využití čistírenských kalů

Aby bylo možné čistírenské kaly využít jako hnojivo, ať už upravené či nikoliv, je nutné, aby splňovaly jisté parametry (Kholostov et al. 2022). V Evropské unii vznikla legislativa, která nám určuje mezní hodnoty nežádoucích látek (Sandy 2018). Pokud čistírenské kaly obsahují více nějaké látky, není možné je, jakkoliv využít. Nejvíce se kontrolují koncentrace rizikových prvků a patogenů. Čistírenské kaly tedy často musí projít nejprve chemickými, fyzikálními či biologickými úpravami (Kholostov et al. 2022).

### 3.3.4 Legislativa ošetřující čistírenské kaly

Dříve byly kaly z čistíren odpadních vod spíše skládkovány a jejich potenciál pro zdroj organických látek a živin byl tak potlačen (Domínguez et al. 2021). To se změnilo po roce 1999, kdy Evropská unie vydala směrnici 1999/31/ES o skládkování odpadů. Podle této směrnice má dojít k omezení skládkování biologicky rozložitelného odpadu na 35 % celkové hmotnosti ukládaných odpadů (Směrnice Rady 1999/31/ES) Toto omezení schvaluje také strategie Evropské unie pro oběhové hospodářství, které stanovilo, že do roku 2035 může být skládkováno pouze 10 % celkové produkce odpadů (Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2018/850).

Čistírenské kaly jsou popsány v zákoně č. 541/2020 Sb. o odpadech a dále jsou ošetřeny ve vyhlášce č. 273/2021 Sb. o podrobnostech nakládání s odpady. Vyhláška se řídí mimo jiné předpisem Evropské unie, a to směrnicí rady 86/278/EHS o ochraně životního prostředí a zejména půdy při používání kalů z čistíren odpadních vod v zemědělství.

Čistírenské kaly, které jsou upravené a mají být aplikovány na zemědělskou půdu musí splňovat několik parametrů. Kaly musí být na půdu vloženy maximálně 8 měsíců po vzniku a po aplikaci na půdu musí být do 48 hodin zapraveny do půdy. Kaly musí projít analýzou na obsahy potřebných živin, jinak nesmí být na půdu použity. Na 1 ha zemědělské půdy lze použít maximálně 5 tun sušiny kalů a po aplikaci nesmí být po dobu 3 let aplikovány další kaly. U čistírenských kalů jsou velmi hlídány obsahy rizikových prvků a látek, které jsou hlídány vyhláškou č. 273/2021, která udává podmínky použití upravených kalů na zemědělskou půdu (Tab. 2) (Mínisterstvo životního prostředí, Vyhláška č. 273/2021 Sb.).

Tabulka č. 2 - Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě (mg/kg sušiny) (Mínisterstvo životního prostředí, Vyhláška č. 273/2021 Sb.).

Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě (mg/kg sušiny)									
As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn	PCB	PAU
30	5	200	500	4	100	200	2500	0,6	10

### 3.4 Nasávaná kartonáž

Nasávaná kartonáž je vyráběna z odpadního papíru a tvoří se z vláken či buničiny (Latha et al. 2018). Nejčastěji se využívá jako nosič potravin či na balení produktů. Kvůli své nevzhledné podobě se nejčastěji využívá pouze na obaly na vejce (Didone et al. 2017). Ovšem v poslední době se tento materiál začal využívat na jednorázové nádoby, a tím je tak snížena zátěž životního prostředí plastovými obaly (Semple et al. 2022). Výrobky z násavé kartonáže mají hned několik výhod. Jejich oblíbenost stoupá především kvůli jejich udržitelnosti, recyklovatelnosti a snadné výrobě a zpracování jako odpadu (Zhang et al. 2022).

### 3.4.1 Specifika nasávané kartonáže

Nasávaná kartonáž má velmi jednoduché složení. Skládá se pouze z vody a dřevních vláken, tedy především z celulózy (Latha et al. 2018). Kartonáž je tedy dobře biologicky rozložitelným materiálem. Jeho jednoduché složení, nám předurčuje také jednoduchou obnovitelnost materiálu (Su et al. 2018). Na výrobu je potřeba soustředit materiály z dřevěných vláken, což jsou například lepenky, časopisy, noviny, či jiný druh odpadního papíru (Didone et al. 2017).

#### 3.4.1.1 Celulózní vlákna

Buničina je tvořena z celulózy, hemicelulózy a ligninu, ovšem často se papírenský materiál označuje nesprávně jednotným názvem celulóza. Přírodní vlákna celulózy jsou nejčastěji získávána ze dřeva, recyklovaného papíru či například ze zemědělských odpadů z biomasy (Hosseinpour et al. 2010). Celulózu lze získat ze slámy pšeničné a rýžové (Zhang et al. 2022) či také z vláken konopí (Su et al. 2018) a bambusu (Liu et al. 2020).

Celulózní vlákna, přírodního charakteru, se nejčastěji získávají mechanicky či chemicky (Hosseinpour et al. 2010). Vzniklá mechanická vlákna mají nízkou pevnost, jelikož obsahují lignin, ale mají díky tomu vyšší výnos buničiny (Li et al. 2011). Chemickou metodou získáme menší množství buničiny zbavené obsahu ligninu. Při chemickém získávání je použita teplota a tlak, a produkt má vyšší pevnost (Duan et al. 2015). Na vytvoření produktů z nasávané kartonáže lze využít produkty z obou metod výroby (Zhang et al. 2022).

Celulózní vlákna lze získat také z recyklovaných papírů. Tyto vlákna jsou ale často barvená a vyznačují se nízkou pevností (Hubbe et al. 2007). Výhodou využití již vzniklé buničiny je snížení potřeb nových vláken, snížení spotřeby energie a snížení nákladů (Zhang et al. 2022).

Výroba nasávané kartonáže má 2 základní kroky, a to přípravu a lisování. Pokud ovšem vzniká buničina z recyklovaného papíru musí tyto vlákna projít několika procesy. Odpadní papír se nejprve musí shromáždit a roztrždit a po těchto základních krocích přichází na řadu rozvláknění a odbarvení s čištěním (Hubbe et al. 2007). Ať už se používají vlákna nová tedy přírodní či vlákna z odpadního papíru, přichází na řadu tvarování vláken vakuem a následné sušení. Po odvodnění a nasátí vody vakuem dochází ke vzniku požadovaného tvaru nasávané kartonáže procesem formování (Didone et al. 2017).

### 3.4.2 Využití odpadní nasávané kartonáže

Dříve se nasávaná kartonáž dělila do skupin podle různých parametrů. Materiál se hodnotil a dělil například podle hustoty, výrobního procesu či dle metody kterou byl vyrobený. V dnešní době jsou mezinárodně uznávané 4 kategorie nasávané kartonáže (Singh et al. 2023).

První kategorií je silnostěnná buničina neboli kartonáž. Tento typ se vyrábí pomocí forem a následného sušení v peci. Na povrchu je tento typ kartonáže poměrně hladký a upravený, a naopak druhá strana je drsná (Oliaei et al. 2021). Díky tloušce 5–10 mm zvládne balit i těžší a ostré materiály. Na výrobu je potřeba klasický recyklovaný papír s příměsí sulfátového papíru. Je použit především jako obalový materiál (Dey et al. 2020).

Druhá skupina nese název dle svého konečného využití, a to přenosná kartonáž nebo také přetlačovaná buničina. Kategorie se vyznačuje tenčími stěnami (3–5 mm) a je to nejpoužívanější kategorie nasávané kartonáže (Dislaire et al. 2021). Je několik způsobů, jak tento typ vytvořit, například jako silnostěnnou kartonáž, či vakuovým tvarováním. Formy jsou z jemné drátěné sítě a tvoří tak materiál z obou stran stejně hladký a rozměrově přesný (Didone et al. 2017). Vzniklý materiál se následně suší v peci. Nejvíce využívaným materiálem na tvorbu této kategorie kartonáže jsou recyklované noviny. Nejčastějším využitím a také všem známým jsou obaly na vejce či dále obaly na elektroniku (Su et al. 2018).

Třetí skupinou jsou kartonáže vzniklé tepelným tvarováním. Tato metoda je poněkud nová, avšak vzniklý výrobek vykazuje velmi kvalitní vlastnosti (Didone et al. 2017). Používají se vyhřívané formy, ve kterých se materiál tvaruje, lisuje, zhutňuje a také rovnou suší. Výrobky mají tenkou a hladkou stěnu (2–4 mm) a jsou přesné. Jejich vzhled připomíná plastové obalové materiály (Singh et al. 2023). Tyto kvalitní obaly je možné využít na zdravotní či kosmetické přípravky (Zhang et al. 2022).

Poslední kategorie vyžaduje speciální postup či úpravu konečného produktu. Například je potřeba výslednou kartonáž natřít, hygienizovat či přidat do výroby nějaký další materiál (Didone 2017).

### **3.5 Vermikompostování čistírenských kalů a nasávané kartonáže**

Při verмикompostování čistírenských kalů bylo pozorováno, že vstupní materiál se postupně okyseluje. Materiál v prvotních fázích vykazuje také zvýšené obsahy rizikových prvků, avšak v celém procesu se tyto obsahy pohybují v optimálních hodnotách. V konečné fázi můžeme pozorovat nárůst obsahu dusíku a fosforu, kdy obsah fosforu je téměř dvakrát vyšší než v počátcích (Gupta & Garg 2008).

Čistírenský kal se nejčastěji verмикompostuje s příměsí jiného organického odpadu. Ve výsledném produktu můžeme téměř vždy pozorovat nárůst celkového dusíku a organických látek, snížení počtu koliformních bakterií a také snížení množství rizikových prvků (Ghahdarjani et al. 2022). V prvních 14 dnech dochází k poklesu enzymů, které zde zastávají potřebné činnosti. Naopak mikroorganismy se v prvních 14 dnech vyskytují v daleko větší míře než při klasickém kompostování, a to především díky žížalám (Villar et al. 2016).

Aby verмикompostování probíhalo optimálně, musí se omezit vstup toxických látek do procesu. Některé látky mohou žížaly zabít, a to například amoniak, či některé rizikové prvky. Jelikož se při verмикompostování nemusí eliminovat veškeré patogeny, volíme jisté metody, které nám s tímto pomůžou. Často se provádí tzv. předkompostování, které probíhá ve fermentorech po dobu 14 dní (Hanč & Plíva 2013).

Čistírenský kal se tedy nejprve kompostuje, aby prošel termofilní fází, a byl tak hygienizovaný a zbaven škodlivých látek pro žížaly (Domínguez 2004). Po první fázi kompostování se do materiálu přidají žížaly a materiál je dále podroben procesu vermikompostování. Předúprava materiálů v podobě kompostování se ukazuje jako spolehlivé řešení, aby materiál rychleji degradoval a konečný produkt vykazoval lepší stabilitu (Villar et al. 2016). Některé studie zase uvádí, že je vhodné čistírenské kaly před vermikompostováním nejprve vysušit. Sušením ovšem dochází k přeměně  $\text{NH}_4^+$  na  $\text{NH}_3$  a přicházíme tak o cenný dusík a zároveň sušením dochází ke ztrátám organické hmoty (Huang et al. 2022).

Společenstva bakterií a hub jsou ve vstupujícím čistírenském kalu téměř eliminovány. Původní společenstva nahrazují jiné druhy, které vznikají přeměnou materiálu ve střevech žížal a následným vytvořením exkrementů. Při vermikompostování čistírenských kalů dochází k vytvoření stabilního společenstva mikroorganismů, které jsou po aplikaci vermikompostu prospěšné pro růst rostlin (Domínguez et al. 2021).

Co se týče aktivity žížal v jednotlivých materiálech, bylo pozorováno, že vyšší reprodukce dosahují žížaly v nasávané kartonáži oproti čistírenským kalům. Osvědčilo se tedy čistírenské kaly mísit s potravinářským odpadem či právě s kartonáží. Žížaly zajistí dokonalé propojení těchto látek ve svých střevech a může se tak, přidáním některých látek, zvýšit obsah uhlíku a zamezit ztrátám dusíku (Domínguez et al. 2000).

## 4 Metodika

### 4.1 Materiál

Jako vstupní suroviny v pokusu sloužily čistírenské kaly ze dvou zdrojů a také nasávaná kartonáž, v tomto případě byly použity obaly od vajec. Čistírenský kal č. 1 byl získán z čistírny odpadních vod s objemovým zatížením přes 100 tisíc ekvivalentních obyvatel. Čistírenský kal č. 2 se lišil tím, že byl odebrán z čistírny odpadních vod s kapacitou 10 až 100 tisíc ekvivalentních obyvatel. Oba tyto využitě kaly pocházely z České republiky. Čistírenské kaly, jejichž množství bylo 6 tun, byly smíchány s 2,5 tunami nasávané kartonáže. Obaly od vajec byly nejprve rozdrceny za pomoci vysokorychlostního drtiče Willibald 5500. Konečný poměr surovin byl upraven tak, aby dosahoval hodnot C: N 25:1. Vzniklé směsi byly rozděleny na dvě hromady, podle kalu, který byl do dané směsi využit (Kal 1, Kal 2). Do každé směsi byla přidána voda o objemu 4,2 m<sup>3</sup>.



Obrázek č. 3. Vstupní materiály pro pokus (Autor Milan Hrčka).

### 4.2 Průběh pokusu

Pokusy se vzniklými směsmi byly prováděny v Recyklačním centru v Kutné Hoře, které je provozováno společností ZERS spol. s r.o. Experiment byl založen na předkompostování vzniklých směsí. Samotné předkompostování trvalo 1 měsíc v zastřešeném prostoru v betonových kójích. Díky předkompostování se snižovaly obsahy amoniaku v čistírenských kalech.

Čistírenské kaly a nasávaná kartonáž byly smíchány 22.3.2021 a k procesu předkompostování začalo docházet 30.3.2021. V měsíci, kdy probíhalo předkompostování byly 6.4., 13.4., 20.4. a 27. 4. provedeny překopávky pomocí čelního nakladače. Před překopávkami byly měřeny teploty v materiálu, které dosahovaly 25 až 40 °C. Pro správný průběh procesu bylo nutné dodržet optimální vlhkost 80 %, a proto se materiál skrápěl vodou.



Obrázek č. 4. Hromady, u kterých probíhalo předkompostování (Autor Milan Hrčka).

Po předkompostování byly vytvořeny čtyři zakládky. Tedy od každé směsi dvě a to tak, že jedna byla vždy se žížalami a druhá bez žížal. Dvě hromady bez žížal působily jako kontrolní zakládky. Spodní vrstva směsi měla jasné rozměry 5 m × 1 m × 0,15 m. Do zakládek, které měly projít vermikompostováním byl použit substrát s žížalami. Tento substrát měl objem 1,5 m<sup>3</sup> a jeho hustota co se žížal týče byla 100 ks žížal/ 1 liter. Odhadujeme, že každá zakládka obsahovala kolem 7500 ks žížal. Pro tento pokus byl využit druh žížaly *Eisenia andrei*. Kontrolní zakládky byly podrobovány kompostování za setných podmínek, jen bez žížal.

Proces vermikompostování byl započat 28.4.2021. V procesu docházelo k průběžnému krmení žížal, tedy k postupnému přidávání směsi pro žížaly. Postupně se přidalo šest vrstev předkompostované směsi z kalu a kartonáže, s tloušťkou každé vrstvy přibližně 15 cm. Před přidáním vrstvy byla upravena vlhkost materiálu na 70-80 %, což bylo hodnoceno pomocí pětní zkoušky. Krmné vrstvy byly přidány 1.6., 30.6., 31.7., 1.9., 1.10.



Obrázek č. 5. Zakládky v betonových kójích připravené na vermikompostování (Autor Milan Hrčka).



Tabulka č. 3 - Stáří vrstev v pokusu.

Vrstva	Termín přidání vrstvy	Stáří vrstvy
<b>VI</b>	1.10.	39 dnů
<b>V</b>	1.9.	69 dnů
<b>IV</b>	31.7.	101 dnů
<b>III</b>	30.6.	132 dnů
<b>II</b>	1.6.	161 dnů
<b>I</b>	28.4.	195 dnů

### 4.3 Odběry vzorků

Na konci procesu byly ze všech čtyřech zakládek odebrány z každé vrstvy tři vzorky, toto probíhalo 9.11. 2021. Nejprve se odebralo z každé vrstvy 30 g materiálu do sáčku pro stanovení hodnoty pH a také měrné vodivosti. Do připravených nádobek se navážilo 150 g vzorků pro lyofilizaci, pro určení množství sušiny v jednotlivých vrstvách zkoumaných zakládek a jako příprava vzorku pro analýzu obsahu C: N, mikroorganismů a enzymatické aktivity. Poslední vzorky měly hmotnost 500 g a sloužily pro určení počtu žížal.

### 4.4 Agrochemické analýzy

#### 4.4.1 Stanovení obsahu sušiny

Obsah organické hmoty byl stanoven gravimetrickým měřením, jako rozdíl před a po usušení vzorků. Sušení probíhalo při teplotě 35 °C.

#### 4.4.2 Stanovení pH

Z čerstvě odebraných vzorků byla zjištěna hodnota pH, a to v hmotnostním poměru 1:5 (vorek: voda). Naváženo bylo 8 g čerstvého vzorku, který byl smíchán se 40 ml demineralizované vody. Toto ředění bylo potřeba protřepat, a proto byla nádobka se vzorkem vložena na 10 minut do laboratorní třepačky. Po protřepání byla změřena hodnota pH přístrojem WTW pH 340i.

#### 4.4.3 Měrná vodivost

Stanovení měrné vodivosti bylo provedeno ve stejném poměru vzorku a vody jako u měření hodnoty pH. I u tohoto stanovení bylo potřeba navážít 8 g čerstvého vzorku a smíchat ho se 40 ml demineralizované vody a nechat ho opět 10 minut protřepávat. Poté se protřepaný vzorek vložil na 10 minut do centrifugy s frekvencí otáček 6000 za minutu. Vzorky se následně filtrovaly, ve filtrátu byla měřena vodivost pomocí konduktometru WTW Cond 730.

#### 4.4.4 Stanovení uhlíku a dusíku

Na stanovení obsahu uhlíku a dusíku byly použity cínové fólie, které se před začátkem pokusu zvážily. Na fólie bylo následně naváženo cca 20 mg mletých jednotlivých vzorků, které byly zváženy na analytické váze. Přesná váha vzorků byla zaznamenána pro lepší analýzu výsledků. Vzorky byly zabaleny a stlačeny ve fólii, pro dosažení kvalitních výsledků. Celkové obsahy těchto dvou stanovovaných prvků byly zjištěny pomocí elementárního analyzátoru CHNS VaroMacroCube.

### 4.5 Biologické analýzy

#### 4.5.1 Počet a biomasa žížal

Množství žížal bylo zjišťováno vysypáním jednotlivých vzorků a následným vybíráním žížal pinzetou. Žížaly byly dávány do prázdné misky a jejich počet byl zapsán do tabulky. Prázdna miska byla nejprve zvážena na analytické váze, stejně tak jako posléze miska s žížalami. Tímto bylo možné zjistit hmotnost žížal v dané vrstvě.

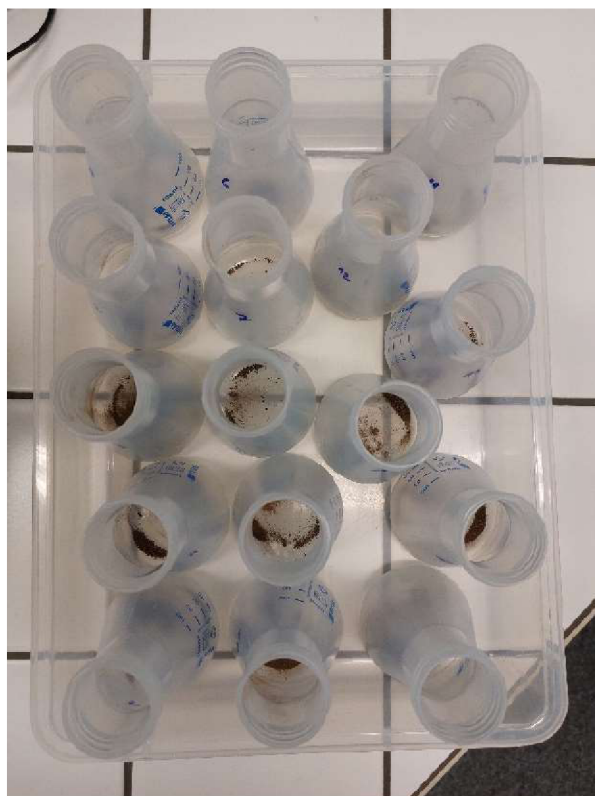
#### 4.5.2 Stanovení mikrobiální aktivity

Mikrobiální aktivita byla stanovena ve spolupráci s Mikrobiologickým ústavem akademie věd ČR se sídlem v Praze. Analýzou volných methylesterů fosfolipidových mastných kyselin (PLFA) byly identifikovány skupiny mikroorganismů, a to bakterie, bakterie G<sup>+</sup>, bakterie G<sup>-</sup>, aktinomycety a houby. Výsledné hodnoty byly také využity pro přehled o celkové mikrobiální biomase. Vzorky pro PLFA byly extrahovány za použití směsi chloroform-methanol-fosfátového pufru (1:2:0,8). Vzniklé extrakty se analyzovaly plynovou chromatografií v tandemu s hmotnostním spektrometrem (GC-MS, 450-GC, 240-MS, Varian, Walnut Creek, CA, USA). Následně byly zjištěny druhy methylovaných mastných kyselin podle jejich hmotnostních spekter. Pro stanovení byly využity směsi chemických standardů od firmy Sigma. Bakterie byly určeny pomocí 17:0, 16:1 ω 9, 15:0 a 16:1 ω 7. Jako biomarkery pro grampozitivní bakterie sloužily i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0 a a17:0. Množství gramnegativních bakterií nám určila suma mastných kyselin 16:1 ω 7, 18:1 ω 7, cy17:0, cy19:0 a 16:1 ω 5. Aktinobakterie byly kvantifikovány jako suma 10Me-17:0, 10Me-18:0 a 10Me-16:0. Houby nám určily obsahy 18:2 ω 6,9. Celková mikrobiální biomasa byla dána sumou všech vypsanych mastných kyselin a biomarkery 16:0 a 18:1 ω 9.

### 4.5.3 Stanovení enzymatické aktivity

Enzymatická aktivita byla zkoumána pomocí fluorescenční metody, která je přesnější než spektrofotometrická metoda. Fluorescenční metoda je založena na tvorbě fluoreskující sloučeniny v průběhu enzymové reakce. Hlavním činidlem tohoto procesu je fluorogenní činidlo 4-methylumbelliferol (MUF), což je substrát pro hydrolázy, který je schopen využívat fluorescenční detekci (Baldrian 2009). Principem této metody je, že volný fluoror se vyznačuje jinými luminiscenčními vlastnostmi, než kdyby byl navázaný na biomolekulu. Fluoror se na biomolekulu váže takovou vazbou, která může být štěpena stanovovaným enzymem (Šnajdr et al. 2008).

Aby mohla proběhnout analýza enzymů, bylo potřeba navážit 0,2 g lyofilizovaných vzorků do plastové Erlenmeyerovy baňky o objemu 100 ml. Následně byla přidáním 20 ml acetátového pufru, s hodnotou pH 5 a o koncentraci 50 mmol/l, vytvořena suspenze. Acetátový pufr byl připraven pomocí 4,48 g trihydrátu octanu sodného, 900  $\mu$ l kyseliny octové a 1 litru destilované vody. Vzorek s pufrem se nechal 30 sekund homogenizovat pomocí přístroje Ultra-Turrax a 8 000 ot/min. Vzorky z jednotlivých baněk byly rozlity do plastových korýtek, z kterých byly napipetovány dle návodu do černých 96 jamkových mikrotitratačních destiček, které mají 12 sloupců v řádcích označených písmeny A-H. V jedné destičce se zkoumaly dva vzorky najednou a do všech sloupců, kromě těch s číslem 7 a 8 bylo napipetováno 200  $\mu$ l vzorku. Vzorek č. 1 se umístil do sloupců 1-3, 9 a 11 a vzorek č. 2 do sloupců s čísly 4-6, 10 a 12. Do prvních šesti sloupců bylo napipetováno 40  $\mu$ l příslušného substrátu. Do 9 až 12 sloupce se napipetovaly substráty pro kalibraci (MUF/AMC) v koncentraci 1; 1: 10 a 1: 100. Při pipetování bylo také použito rozpouštědlo dimethylsulfoxid (DMSO). Naplněné destičky byly vloženy do inkubátoru, kde se při 40 °C ponechaly 5 minut. Měření probíhalo pomocí přístroje Tecan Infinite<sup>®</sup> M Plex. V tomto přístroji byla změřena fluorescence s excitační vlnovou délkou 355 nm a emisní vlnovou délkou 460 nm. Po měření se destička dala opět do inkubátoru, tentokrát na dvě hodiny a následně byla znova změřena. Pomocí odečtu počátečních a konečných hodnot byla získána enzymatická aktivita, která se uvádí v mikromolech substrátu za hodinu a na jeden gram vzorku.



Obrázek č. 6 a 7. Erlenmeyerovy baňky s naváženými vzorky a přístroj Ultra-Turrax připravený na homogenizaci vzorků (Autor Kateřina Suchardová).

Tabulka č. 4 - Využité substráty při stanovování fluorescenčních enzymů

Stanovení	Substrát	Koncentrace mmol/l
Kalibrace MUF	MUF = methylumbelliferol	1,00
$\beta$ -D-glukosidáza	MUFG = 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucopyranoside	2,75
Fosfatáza	MUFP = 4-methylumbelliferyl-phosphate	2,75
Arylsulfatáza	MUFS = 4-methylumbelliferylsulphate potassium salt	2,50
Lipáza	MUFY = 4-methylumbelliferyl-caprylate	2,50
Chitináza	MUFN = 4-methylumbelliferyl-N-acetylglucosaminide	1,00
Cellobiohydroláza	MUFC = 4-methylumbelliferyl-N-cellobiopyranoside	2,50
Kalibrace AMC	AMC = 7-aminomethyl-4-coumarin	1,00
Alanin aminopeptidáza	AMCA = L-alanine-7-amido-4-methylcoumarin	2,50
Leucin aminopeptidáza	AMCL = L-leucin-7-amido-4-methylcoumarin	2,50

Tabulka č. 5 - Destička pro stanovení enzymů.

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

Vzorek č. 1

Vzorek č. 2

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

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

S 40 µl MUS + 200 µl vzorku

Y 40 µl MUY + 200 µl vzorku

N 40 µl MUN + 200 µl vzorku

C 40 µl MUC + 200 µl vzorku

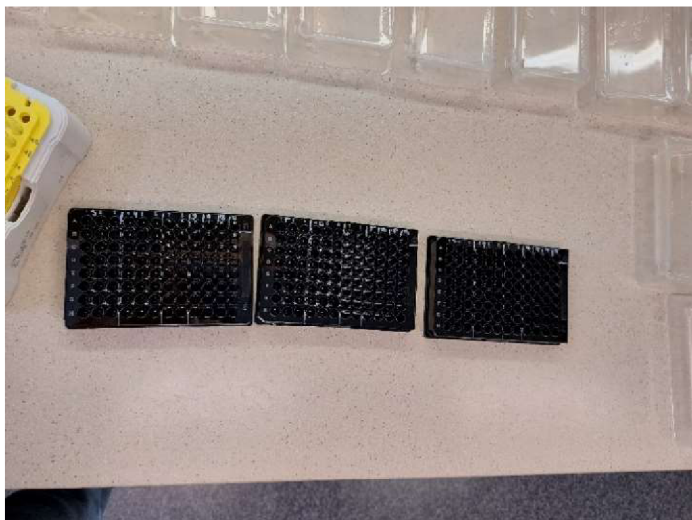
A\_A 40 µl AMCA + 200 µl vzorku

A\_L 40 µl AMCL + 200 µl vzorku

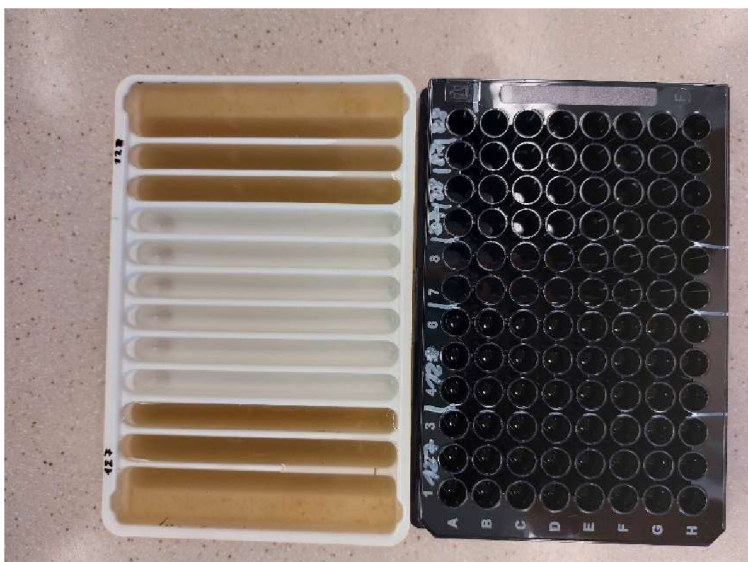
1 MUF

1:10 ředěný MUF/AMC v poměru 1:10

1:100 ředěný MUF/AMC v poměru 1:100



Obrázek č. 8. Příprava substrátů a destiček na pipetování (Autor Kateřina Suchardová).



Obrázek č. 9. Homogenizovaný vzorek ve formičce připravený na pipetování do stejně označené destičky (Autor Kateřina Suchardová).



Obrázek č. 10. Příklad přístroje Tecan Infinite<sup>®</sup> M200 na měření enzymů (<https://nanoqam.ca/wp/en/services-2/micro-plate-reader/>).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SM1_1 1.1 162	SM1_9 1.1 162	SM1_17 1.1 162	SM1_25 1.1 162	SM1_33 1.1 162	SM1_41 1.1 162	SM1_49 1.1 162	SM1_57 1.1 162	SM1_65 1.1 162	SM1_73 1.1 162	SM1_81 1.1 162	SM1_89 1.1 162
B	SM1_10 1.1 2162	SM1_18 1.1 2162	SM1_26 1.1 2162	SM1_34 1.1 2162	SM1_42 1.1 2162	SM1_50 1.1 2162	SM1_58 1.1 2162	SM1_66 1.1 2162	SM1_74 1.1 2162	SM1_82 1.1 2162	SM1_90 1.1 2162	SM1_98 1.1 2162
C	SM1_2 1.1 1446	SM1_11 1.1 1446	SM1_19 1.1 1446	SM1_27 1.1 1446	SM1_35 1.1 1446	SM1_43 1.1 1446	SM1_51 1.1 1446	SM1_59 1.1 1446	SM1_67 1.1 1446	SM1_75 1.1 1446	SM1_83 1.1 1446	SM1_91 1.1 1446
D	SM1_7 1.1 1689	SM1_16 1.1 1689	SM1_24 1.1 1689	SM1_32 1.1 1689	SM1_40 1.1 1689	SM1_48 1.1 1689	SM1_56 1.1 1689	SM1_64 1.1 1689	SM1_72 1.1 1689	SM1_80 1.1 1689	SM1_88 1.1 1689	SM1_96 1.1 1689
E	SM1_15 1.1 116	SM1_23 1.1 116	SM1_31 1.1 116	SM1_39 1.1 116	SM1_47 1.1 116	SM1_55 1.1 116	SM1_63 1.1 116	SM1_71 1.1 116	SM1_79 1.1 116	SM1_87 1.1 116	SM1_95 1.1 116	SM1_103 1.1 116
F	SM1_6 1.1 420	SM1_14 1.1 420	SM1_22 1.1 420	SM1_30 1.1 420	SM1_38 1.1 420	SM1_46 1.1 420	SM1_54 1.1 420	SM1_62 1.1 420	SM1_70 1.1 420	SM1_78 1.1 420	SM1_86 1.1 420	SM1_94 1.1 420
G	SM1_13 1.1 581	SM1_21 1.1 581	SM1_29 1.1 581	SM1_37 1.1 581	SM1_45 1.1 581	SM1_53 1.1 581	SM1_61 1.1 581	SM1_69 1.1 581	SM1_77 1.1 581	SM1_85 1.1 581	SM1_93 1.1 581	SM1_101 1.1 581
H	SM1_4 1.1 144	SM1_12 1.1 144	SM1_20 1.1 144	SM1_28 1.1 144	SM1_36 1.1 144	SM1_44 1.1 144	SM1_52 1.1 144	SM1_60 1.1 144	SM1_68 1.1 144	SM1_76 1.1 144	SM1_84 1.1 144	SM1_92 1.1 144
I	SM1_8 1.1 5502	SM1_17 1.1 5502	SM1_25 1.1 5502	SM1_33 1.1 5502	SM1_41 1.1 5502	SM1_49 1.1 5502	SM1_57 1.1 5502	SM1_65 1.1 5502	SM1_73 1.1 5502	SM1_81 1.1 5502	SM1_89 1.1 5502	SM1_97 1.1 5502

Obrázek č. 11. Příklad výsledků, které nám poskytne přístroj Tecan Infinite (Autor Kateřina Suchardová).

#### 4.6 Statické analýzy

Výsledky byly zadány do tabulek a následně zpracovány především v programu MS Excel 365. Statistické analýzy byly zpracovány v programu Statistica 12. Výsledky byly zpracovány pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) a byl zvolen Kruskal-Wallisův neparametrický test.

## 5 Výsledky

### 5.1 Výsledky agrochemických analýz

#### 5.1.1 Vstupní suroviny

Tabulka č. 6 – Fyzikálně – chemické parametry vstupních surovin.

<b>Materiál</b>	<b>Sušina (%)</b>	<b>Vlhkost (%)</b>	<b>pH</b>	<b>EC (<math>\mu\text{S/cm}</math>)</b>	<b>C: N</b>
<b>Kal 1</b>	26,4 $\pm$ 0,0	73,6 $\pm$ 0,0	8,7 $\pm$ 0,1	1159 $\pm$ 19,3	7,6 $\pm$ 0,1
<b>Kal 2</b>	23 $\pm$ 0,2	77 $\pm$ 0,2	8,3 $\pm$ 0,1	962 $\pm$ 17,6	7 $\pm$ 0,1
<b>Kartonáž</b>	88 $\pm$ 1,0	12 $\pm$ 1,0	7,4 $\pm$ 0,0	844 $\pm$ 12,2	128 $\pm$ 13,1

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů,  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3).

Z Tabulky č. 6 bylo možné porovnat fyzikálně-chemické parametry vstupních surovin. Průměrné hodnoty sušiny u obou čistírenských kalů nebyly výrazně odlišné. Kal 1 obsahoval 26,4 % sušiny a Kal 2 měl 23 % sušiny. Nasávaná kartonáž dosahovala téměř ve všech měřených parametrech rozdílné hodnoty oproti čistírenským kalům, a nebylo tomu jinak ani u obsahu sušiny, které obsahovala 88 %, což byl skoro čtyřnásobek oproti kalům. Co se týče vlhkosti obsahovala kartonáž pouze zbylých 12 % celkového složení, což se nedá srovnávat s kaly jejichž průměrné hodnoty byly 73,6 a 77 %. Hodnoty pH byly u čistírenských kalů téměř totožné, u Kalu 1 bylo naměřeno 8 a u Kalu 2 hodnota dosahovala 8,3. Nasávaná kartonáž měla pH o něco více v kyslejších hodnotách, což bylo 7,4. Oba čistírenské kaly vykazovaly poměrně vyšší elektrickou vodivost, než tomu bylo u nasávané kartonáže s 844  $\mu\text{S/cm}$ . U Kalu 1 byla naměřena průměrná elektrická vodivost 1159  $\mu\text{S/cm}$  a u Kalu 2 dosahovala el. vodivost 962  $\mu\text{S/cm}$ . V čem nasávaná kartonáž rozhodně vyčnívala před čistírenskými kaly, byl poměr C: N s průměrnou hodnotou 128:1, což je téměř osmnácti násobek oproti kalům.



### 5.1.2 Směsi

Tabulka č. 7 – Fyzikálně – chemické parametry vzniklých směsí.

Materiál	Sušina (%)	Vlhkost (%)	pH	EC ( $\mu\text{S/cm}$ )	C: N
Směs z Kalu 1	26,2	73,8	7,4 $\pm$ 0,0	1179 $\pm$ 64,3	17,1 $\pm$ 3,9
Směs z Kalu 2	25,8	74,2	7,5 $\pm$ 0,0	1021 $\pm$ 32,3	13,2 $\pm$ 0,9

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů,  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3).

Pro pokus byly vytvořeny dvě směsi nasávané kartonáže s každým kalem zvlášť. Zjišťované parametry, zapsané do Tabulky č. 7 se u obou směsí téměř nelišily. Sušina ve směsi z Kalu 1 dosahovala 26,2 % a tudíž vlhkost byla naměřena jako 73,8 %. Směs s Kalem 2 obsahovala 25,8 % sušiny a 74,2 % vlhkosti. Byla tedy zjištěna velká podobnost těchto směsí. Hodnoty pH u směsí byly téměř totožné. U směsi z Kalu 1 bylo naměřeno 1179  $\mu\text{S/cm}$  elektrické vodivosti, což bylo více než u směsi z Kalu 2, která měla hodnoty 1021  $\mu\text{S/cm}$ . Odchylky byly zaznamenány u poměru C: N, kde byl rozdíl mezi směsmi 3,9. U směsi z Kalu 1 byl poměr 17,1 a u druhé směsi 13,2.

### 5.1.3 Kontrolní zakládka se směsí z Kalu 1

Tabulka č. 8 – Fyzikálně – chemické parametry kontrolní zakládky se směsí z Kalu 1

Vrstva	Sušina (%)	Vlhkost (%)	pH	EC ( $\mu\text{S/cm}$ )	C: N
VI	32,2 $\pm$ 0,4	67,8 $\pm$ 0,4	7,2 $\pm$ 0,1	1444 $\pm$ 100,5	14,1 $\pm$ 0,3
V	33,9 $\pm$ 0,6	66,1 $\pm$ 0,6	7,2 $\pm$ 0,0	1504 $\pm$ 152,8	13,5 $\pm$ 0,6
IV	34,3 $\pm$ 0,1	65,7 $\pm$ 0,1	7,2 $\pm$ 0,0	1361 $\pm$ 23,3	13,6 $\pm$ 0,3
III	34,9 $\pm$ 0,5	65,1 $\pm$ 0,5	7,4 $\pm$ 0,1	1048 $\pm$ 115,4	13,8 $\pm$ 0,2
II	35,3 $\pm$ 0,6	64,7 $\pm$ 0,6	7,5 $\pm$ 0,1	895 $\pm$ 69,2	14,1 $\pm$ 0,1
I	35,8 $\pm$ 0,5	64,2 $\pm$ 0,5	7,5 $\pm$ 0,0	804 $\pm$ 53,7	16,2 $\pm$ 1,3

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů,  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3).

V kontrolní zakládce se směsí z Kalu 1 byl pozorován drobný pokles obsahu sušiny, tedy v nejstarší vrstvě (I) bylo procento vyšší než v nejmladší (VI). V nejstarší vrstvě dosahovala sušina 35,8 %, kdežto u vrstvy nejmladší jen 32,2 %, v každé vrstvě mezi tím, docházelo k průměrnému poklesu o 0,6 %. Vlhkost tedy naopak byla vyšší u nejmladší vrstvy (67,8 %) a nejnižší u nejstarší spodní vrstvy (64,2 %). Průměrná hodnota pH všech vrstev byla neutrálních 7,3. Nejstarší vrstva měla nejvyšší hodnotu pH, a to 7,5, která byla téměř totožná i v II a III vrstvě. Ve IV až VI vrstvě se hodnoty pH pohybovaly kolem 7,2. Nejmladší, a tudíž nejčerstvější, vrstva I a následující vrstva II vykazují nejvyšší elektrickou vodivost. Nejvyšší hodnota 1504  $\mu\text{S/cm}$  patřila vrstvě V, což bylo téměř 2 x více než v nejstarší (I) vrstvě, s hodnotou 804  $\mu\text{S/cm}$ . Poměr C: N byl nejvyšší ve vrstvě I (16,2) a v ostatních vrstvách byl průměrný poměr C: N 13,8 a ve vrstvě VI a II byla naměřena stejná hodnota 14,1 (viz Tabulka č. 8).

#### 5.1.4 Kontrolní zakládka se směsí z Kalu 2

Tabulka č. 9 – Fyzikálně – chemické parametry kontrolní zakládky se směsí z Kalu 2

Vrstva	Sušina (%)	Vlhkost (%)	pH	EC ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	C: N
VI	32,9 $\pm$ 0,6	67,1 $\pm$ 0,6	7,3 $\pm$ 0,0	1535 $\pm$ 105,5	13,6 $\pm$ 0,4
V	34,6 $\pm$ 0,6	65,4 $\pm$ 0,6	7,3 $\pm$ 0,0	1635 $\pm$ 139,7	13,3 $\pm$ 0,2
IV	35,2 $\pm$ 0,2	64,8 $\pm$ 0,2	7,2 $\pm$ 0,0	1739 $\pm$ 165,9	12,2 $\pm$ 0,5
III	35,7 $\pm$ 0,5	64,3 $\pm$ 0,5	7,5 $\pm$ 0,1	1194 $\pm$ 28,6	12,7 $\pm$ 0,2
II	35,9 $\pm$ 0,6	64,1 $\pm$ 0,6	7,5 $\pm$ 0,0	968 $\pm$ 52,4	13,5 $\pm$ 0,3
I	36,6 $\pm$ 0,2	63,3 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,0	1000 $\pm$ 21,3	13,2 $\pm$ 0,7

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů,  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3).

Tabulka č. 9 umožnila porovnat fyzikálně-chemické parametry v jednotlivých vrstvách kontrolní zakládky se směsí z Kalu. Ve spodních vrstvách bylo zjištěno větší procento sušiny než ve vrstvách novějších. Vrstva I obsahovala 36,6 % sušiny a vrstva VI měla sušiny jen 32,9 %. Pokles mezi vrstvami byl postupný, pouze mezi vrstvami V a VI bylo sušiny méně o 1,7 %. Obsah vlhkosti byl tedy opět naopak vyšší u vrstvy VI (67,1 %) než u vrstvy I (63,3 %). Průměrná hodnota pH u této zakládky byla o něco málo vyšší než u předchozí zakládky, s hodnotou pH 7,4. Nejmenší hodnota elektrické vodivosti byla zaznamenána u vrstvy II (968  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), naopak nejvyšší hodnota byla u vrstvy IV (1739  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Hodnoty elektrické vodivosti byly v jednotlivých vrstvách velmi variabilní. Co se týče poměru C: N, byl zaznamenán drobný rozptyl v datech. Hodnoty ve svrchních dvou a spodních dvou vrstvách se pohybovaly kolem hodnoty 13,4 a hodnoty z III a IV vrstvy dosahovaly hodnot kolem 12,5. Nejvyšší poměr byl 13,6 ve vrstvě VI a nejnižší poměr byl ve vrstvě IV.

### 5.1.5 Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 1

Tabulka č. 10 – Fyzikálně – chemické parametry vermikompostovací zakládky se směsí z Kalu 1

Vrstva	Sušina (%)	Vlhkost (%)	pH	EC ( $\mu\text{S/cm}$ )	C: N
VI	27,2 $\pm$ 0,3	72,8 $\pm$ 0,3	7,1 $\pm$ 0,0	2122 $\pm$ 162,3	13,7 $\pm$ 0,1
V	30,8 $\pm$ 0,4	69,2 $\pm$ 0,4	7,0 $\pm$ 0,0	2182 $\pm$ 129,1	13,9 $\pm$ 0,3
IV	31,5 $\pm$ 0,2	68,5 $\pm$ 0,2	7,1 $\pm$ 0	2147 $\pm$ 24,9	13,7 $\pm$ 0,0
III	32,2 $\pm$ 0,3	67,8 $\pm$ 0,3	7,4 $\pm$ 0,1	1648 $\pm$ 85,1	14,3 $\pm$ 0,2
II	33,2 $\pm$ 0,5	66,8 $\pm$ 0,5	7,4 $\pm$ 0,0	1126 $\pm$ 49,4	15,6 $\pm$ 0,2
I	33,3 $\pm$ 0,5	66,7 $\pm$ 0,5	7,5 $\pm$ 0,1	798 $\pm$ 112,8	14,2 $\pm$ 0,5

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů,  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3).

Na základě Tabulky č. 10 byly porovnány parametry vermikompostovací zakládky se směsí z Kalu 1. V této směsi bylo naměřeno nejnížší procento sušiny (27,2 %) v nejmladší vrstvě, a tedy zároveň nejvyšší vlhkost (72,8 %) v porovnání s ostatními vrstvami. První vrstva obsahovala 33,3 % sušiny a 66,7 % vlhkosti. Nejnížší hodnota pH 7,0 byla naměřena u vrstvy V. Všechny ostatní vrstvy měly hodnoty pH vyšší, především vrstvy spodní, kde první vrstva měla pH téměř o 0,5 hodnoty vyšší. Poměrně velká variabilita byla naměřena u elektrické vodivosti, kdy nejnížší hodnota 798  $\mu\text{S/cm}$  v nejstarší vrstvě a nejvyšší hodnota 2182  $\mu\text{S/cm}$  v V vrstvě, byly rozdílné o 1384  $\mu\text{S/cm}$ . Poměr C: N se nejvíce lišil mezi druhou a šestou (či čtvrtou) vrstvou, a to o 1,9. Druhá vrstva dosahovala hodnot C: N 15,6, kdežto vrstvy VI a IV jen 13,7.

### 5.1.6 Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 2

Tabulka č. 11 – Fyzikálně – chemické parametry

Vrstva	Sušina (%)	Vlhkost (%)	pH	EC ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	C: N
VI	24 $\pm$ 0,6	76 $\pm$ 0,6	7,1 $\pm$ 0,0	2240 $\pm$ 37,4	13,8 $\pm$ 0,2
V	24,8 $\pm$ 0,4	75,2 $\pm$ 0,4	7,2 $\pm$ 0,0	2110 $\pm$ 29,4	14,2 $\pm$ 0,2
IV	26,1 $\pm$ 0,5	73,9 $\pm$ 0,5	7,6 $\pm$ 0,1	1422 $\pm$ 86,5	15,3 $\pm$ 0,2
III	27,8 $\pm$ 0,6	72,2 $\pm$ 0,6	7,6 $\pm$ 0,0	1225 $\pm$ 127,2	14,4 $\pm$ 0,1
II	30,6 $\pm$ 1,0	69,4 $\pm$ 1	7,5 $\pm$ 0,0	1068 $\pm$ 29,9	17,1 $\pm$ 1,8
I	30,5 $\pm$ 0,6	69,5 $\pm$ 0,6	7,5 $\pm$ 0,0	963 $\pm$ 39,2	18 $\pm$ 0,6

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů,  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3).

Fyzikálně – chemické parametry poslední zakládky byly porovnávány napříč vrstvami z hodnot zaznamenaných v Tabulce č. 11. Celkový obsah sušiny ve vermiokompostovací zakládce se směsí z Kalu 2 byl nižší než v předchozí zakládce. Největší rozdíl 6,6 % byl mezi VI (24 %) a II (30,6 %) vrstvou. A průměrný obsah sušiny v zakládce byl 27,3 %. Nejvíce vlhkosti obsahovala nejmladší vrstva (76 %), naopak nejméně vrstva druhá s 69,4 %. Čím mladší vrstva v zakládce byla, tím pH dosahovalo nižších hodnot. Průměrná hodnota pH v zakládce byla 7,4, s tím, že nejméně měla nejmladší vrstva (7,1) a největší hodnotu pH měla třetí vrstva (7,6). I u této vermiokompostovací zakládky se data elektrické vodivosti výrazně lišily. Rozdíl mezi nejmladší a nejstarší vrstvou byl 1277  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , kde vyšší hodnota byla v nejmladší vrstvě. Poměr C: N se v jednotlivých vrstvách poměrně lišil. Nejnižší poměr C: N měla nejmladší vrstva s C: N 13,8 a naopak nejvyšší poměr byl naměřen v první vrstvě (18).

## 5.2 Výsledky biologických analýz

### 5.2.1 Počet a biomasa žížal

#### 5.2.1.1 Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 1

Tabulka č. 12 – Počet žížal a biomasa ve verмикompostovací zakládce se směsí z Kalu 1

Vrstva	Počet žížal (g/kg)	Biomasa (g/kg)
VI	391±70,2	81,7±21,1
V	387±63,2	79,8±24,9
IV	304±22,9	56,8±10,1
III	291±22,3	41,2±3,3
II	153±31,3	16,1±2,7
I	61±9,0	4,3±0,7

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů, ± směrodatná odchylka (n=3).

Počet žížal a jejich biomasa byly uvedeny v Tabulce č. 12. Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 1 obsahovala v téměř všech vrstvách mnohem větší počet žížal, než tomu bylo u druhé verмикompostovací zakládky. Celkově ve všech vrstvách bylo naváženo přibližně 1590 g žížal na kilogram verмикompostu. Nejvíce žížal bylo nalezeno v nejmladší vrstvě a v V vrstvě. Oproti nejstarší vrstvě bylo v těchto vrstvách 6 x více žížal. Největší biomasa žížal byla tedy ve vrstvě VI, což bylo 81,7 g/kg. Biomasa žížal se postupně se stářím vrstev snižovala, stejně tak jako počet žížal. V první, nejstarší, vrstvě dosahovala biomasa jen 4,3 g/kg.

### 5.2.1.2 Vermikompostovací zakládka se směsí z Kalu 2

Tabulka č. 13 – Počet žížal a biomasa ve verмикompostovací zakládce se směsí z Kalu 2

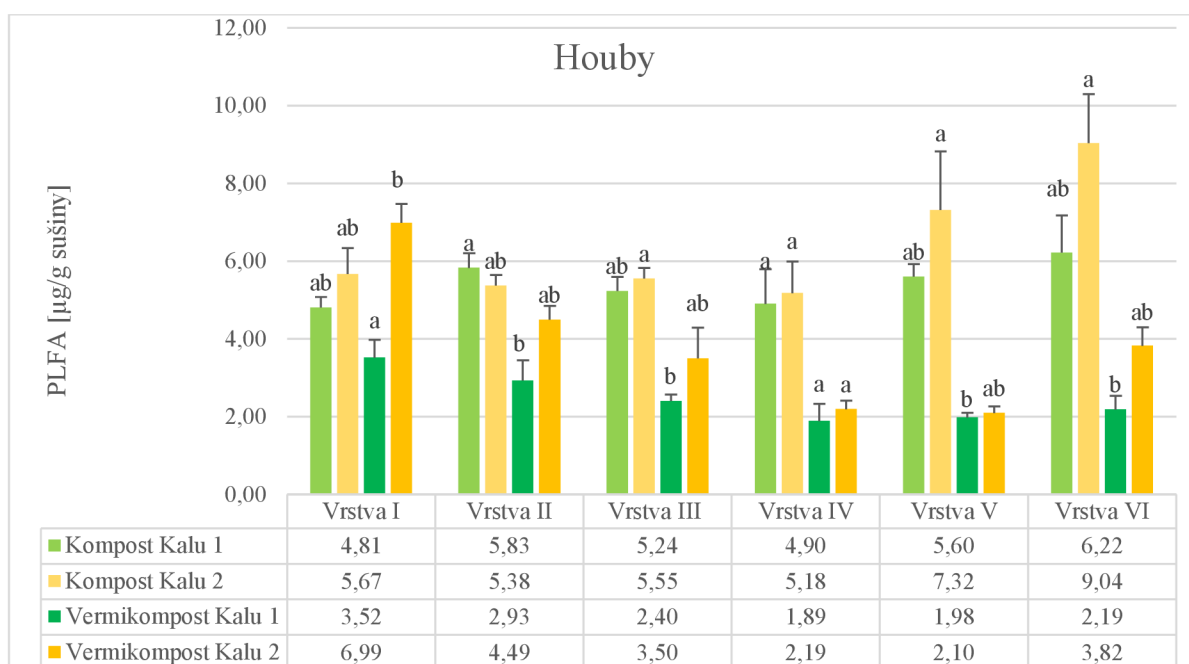
<b>Vrstva</b>	<b>Počet žížal (g/kg)</b>	<b>Biomasa (g/kg)</b>
<b>VI</b>	319±25,3	51±5,1
<b>V</b>	239±14,6	50,9±3,6
<b>IV</b>	165±25,3	25,6±4,3
<b>III</b>	77±12,3	10,6±0,9
<b>II</b>	77±6,6	8,9±1,4
<b>I</b>	63±9,6	4,7±1,1

Hodnoty byly zjištěny pomocí průměrů, ± směrodatná odchylka (n=3).

Druhá verмикompostovací zakládka se směsí z Kalu 2 byla podstatně chudší na počet žížal, jelikož obsahovala pouze cca 940 g žížal na kilogram verмикompostu v celé zakládce. Nejvíce žížal bylo nalezeno na nejčerstvější vrstvě (319 g/kg), což je téměř 5 x více než bylo vypočteno na vrstvě nejstarší. Ve vrstvě II a III byl naměřen totožný počet žížal 77 g/kg. Biomasa v této zakládce dosahovala nižších čísel než v předchozí zakládce s Kalem 1. Nejvíce biomasy bylo pozorováno v nejnovější vrstvě (51 g/kg) a nejméně ve vrstvě nejnižší s hodnotou 4,7 g/kg (viz Tabulka č. 13).

## 5.2.2 Výsledky stanovení mikrobiální aktivity

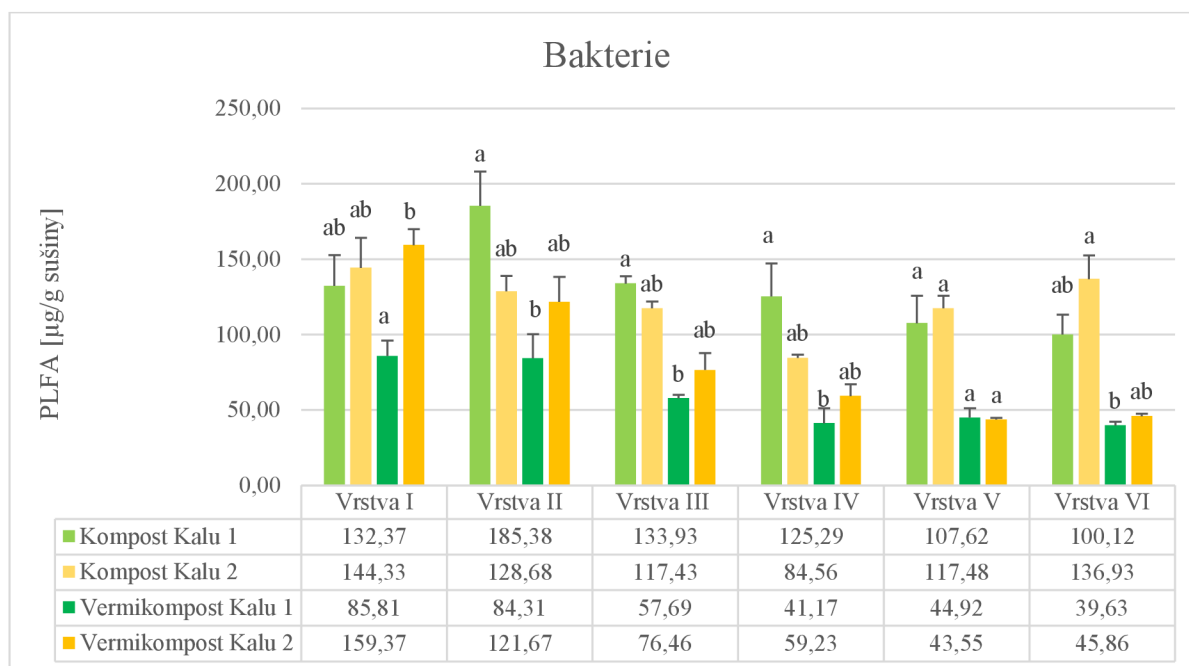
### 5.2.2.1 Houby



Graf č. 1 – Obsah hub vyjádřených pomocí PLFA v jednotlivých vrstvách zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Na základě Grafu č. 1 bylo zjištěno, že téměř ve všech vrstvách zakládek byl vyšší počet hub v kompostovacích zakládkách, což může být způsobeno tím, že houby slouží jako potrava pro žížaly. Ovšem v nejstarších vrstvách, kde bylo žízal již málo, dosahovala koncentrace hub poměrně vysokých hodnot, a to především v Kalu 2. Mezi nejstaršími vrstvami ve vermikompostovacích zakládkách byl zjištěn statisticky významný rozdíl. Ve druhých vrstvách nebyl pozorován nějak zvlášť velký rozdíl mezi zakládkami v obsahu hub. I mezi těmito vrstvami však byl zjištěn statisticky významný rozdíl, přesně mezi kompostem a vermikompostem Kalu 1. U třetích vrstev byl nalezen statisticky významný rozdíl v kompostu Kalu 2 a vermikompostu Kalu 1. Vrstvy IV krásně znázornily rozdíly v obsazích hub mezi kompostovacími a vermikompostovacími zakládkami. Nebyl zde zjištěn žádný statisticky významný rozdíl. Čtvrtá vrstva vermikompostu Kalu 1 měla nejmenší množství hub (1,89  $\mu\text{g/g}$  sušiny) ze všech pozorování. Mezi vrstvami V byl prokázán významný rozdíl v kompostu Kalu 2 a vermikompostu Kalu 1, stejně tak jako ve vrstvách nejmladších, kde byl rozdíl největší. Obsahy hub byly nejvyšší právě v nejmladších kompostovacích vrstvách, kde v Kalu 2 houby dosahovaly 9,04  $\mu\text{g/g}$  sušiny.

## 5.2.2.2 Bakterie

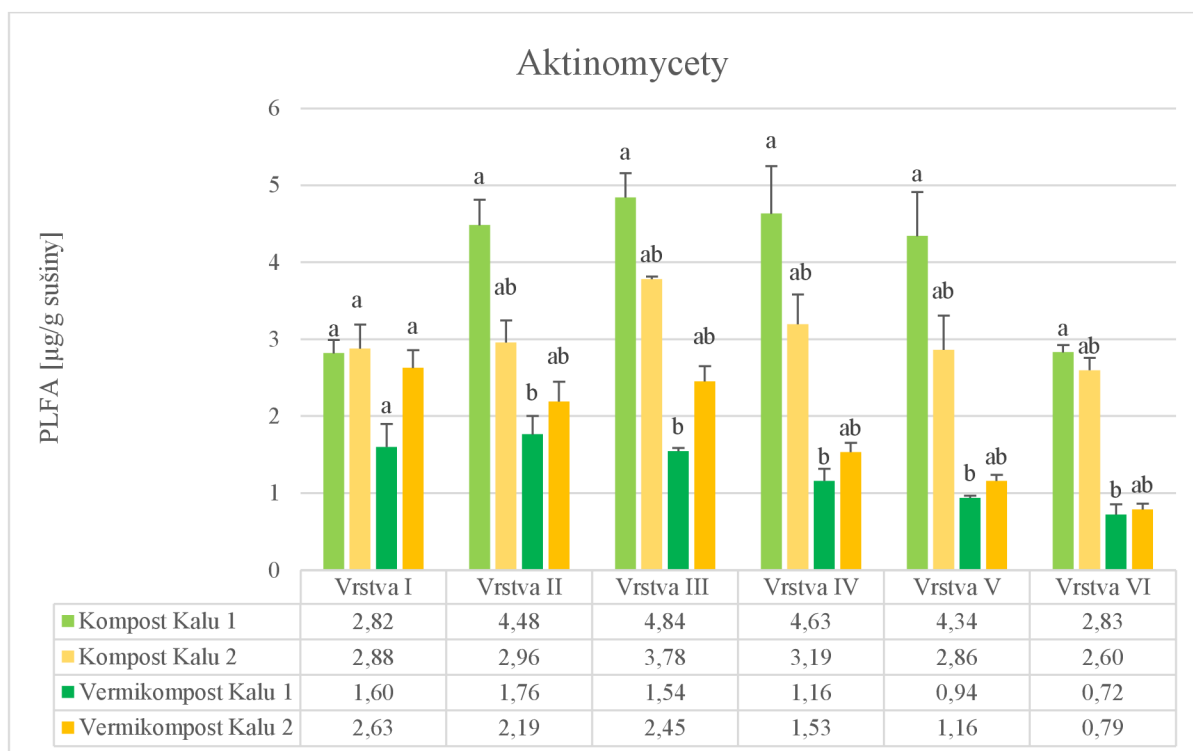


Graf č. 2 – Obsah bakterií vyjádřených pomocí PLFA v jednotlivých vrstvách zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Zatímco houby se vyskytovaly ve všech vrstvách do 10 µg/g sušiny, bakterie dosahovaly v kompostovacích zakládkách průměrně 98,91 µg/g sušiny. Stejně jako u hub, i u bakterií bylo možno pozorovat rozdíl v hodnotách mezi kompostovacími a vermikompostovacími zakládkami. Rozdíly jsou vidět především v novějších vrstvách, kde je vždy větší množství žíhal, které tyto obsahy zřejmě ovlivňují. Nejnižší koncentrace bakterií byly pozorovány vždy u vermikompostovací zakládky s Kalem 1, můžeme tedy říci, že původ čistírenského kalu má v tomto případě vliv. Nejstarší vrstvy obsahovaly v podstatě nejvíce bakterií bez ohledu na to, o jaký typ zakládky se jedná. V první vrstvě dokonce nejvíce bakterií obsahovala vermikompostovací zakládky s Kalem 2 (159,37 µg/g sušiny). V první vrstvě byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi vermikompostovacími zakládkami. V druhé vrstvě kompostovací zakládky Kalu 1 jsme naměřili vůbec nejvyšší koncentraci bakterií (185,38 µg/g sušiny) a byl zde zjištěn statisticky významný rozdíl s vermikompostovací zakládkou stejného kalu. Obsah bakterií již v dalších vrstvách postupně klesal. Ve třetí a čtvrté vrstvě byl také zpozorován statisticky významný rozdíl mezi kompostovací a vermikompostovací zakládkou Kalu 1. Od třetí vrstvy bylo možné z Grafu č. 2 vyčíst již zmíněný rozdíl mezi kompostováním a vermikompostováním, kde žíhaly snižují obsah bakterií. Mezi pátými vrstvami nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl. V šesté vrstvě vermikompostovací zakládky Kalu 1 byl naměřen vůbec nejmenší obsah bakterií (39,63 µg/g sušiny), který měl zároveň zjištěný statisticky významný rozdíl s kompostovací zakládkou Kalu 2.



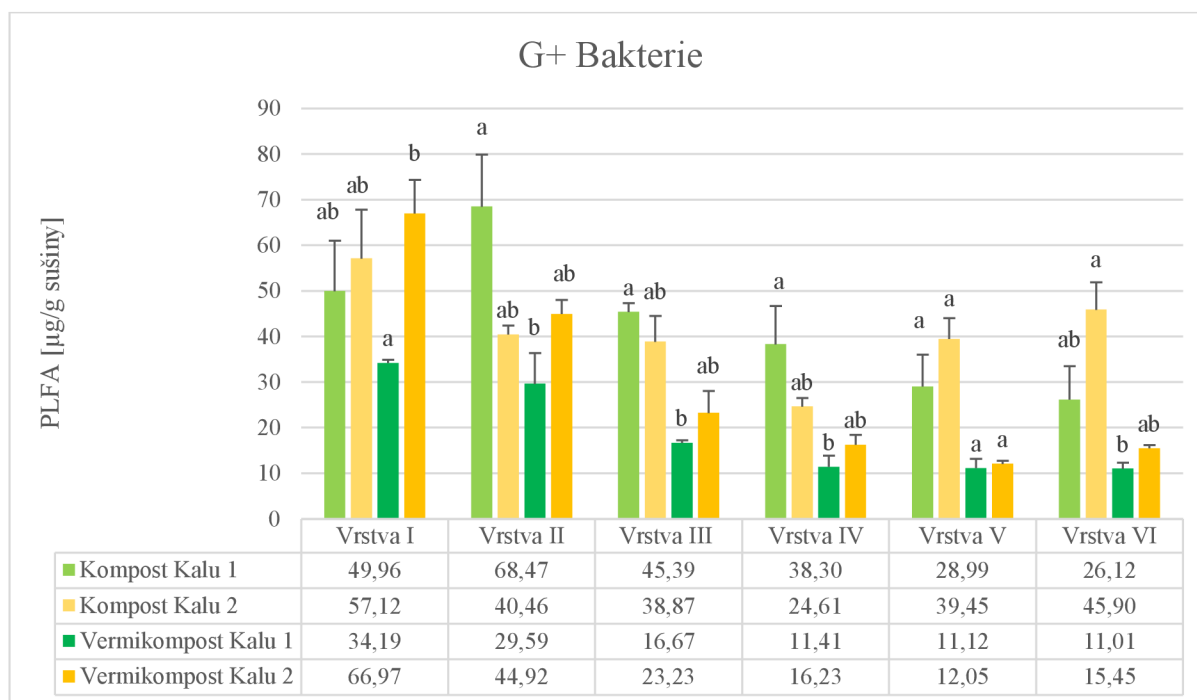
### 5.2.2.3 Aktinomycety



Graf č. 3 – Obsah aktinomycet vyjádřených pomocí PLFA v jednotlivých vrstvách zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Obsahy aktinomycet byly ve všech zakládkách napříč všemi vrstvami nižší než obsahy hub. Opět se zde opakuje skutečnost, že ve vermikompostovacích zakládkách byly ve všech vrstvách, nižší koncentrace zkoumaných mikroorganismů, oproti kompostovacím zakládkám. Pokud se zaměříme na Kal 1 ve všech kompostovacích vrstvách, kromě nejstarší byl obsah aktinomycet vždy nejvyšší. Naproti tomu vermikompostovací vrstvy Kalu 1 měly obsahy vždy nejnižší. V nejstarší vrstvě komposty z obou kalů nabývaly téměř totožných hodnot. V nejstarší vrstvě nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl. Nejvíce aktinomycet bylo v prostředních vrstvách kompostovacích zakládek, například ve třetí vrstvě 4,84  $\mu\text{g/g}$  sušiny. Nejméně aktinomycet bylo v nejmladších vrstvách zakládek, především ve vermikompostovací zakládce Kalu 1 (0,72  $\mu\text{g/g}$  sušiny). Ve všech vrstvách kromě té nejstarší byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi kompostem a vermikompostem Kalu 1 (viz Graf č. 3).

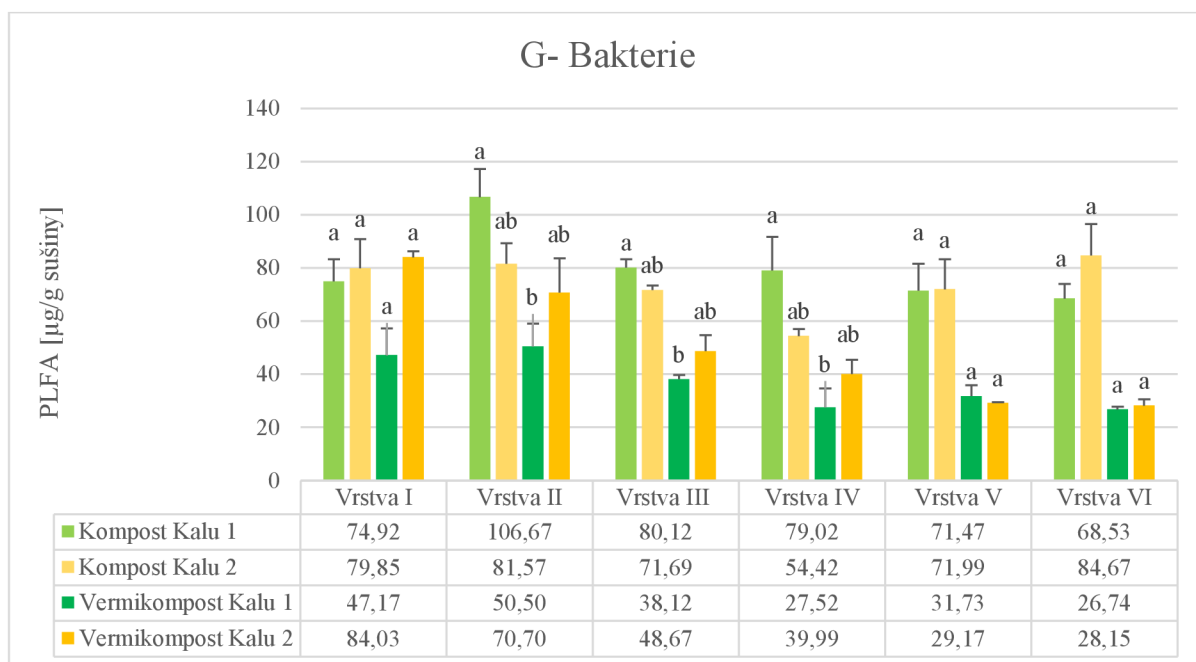
#### 5.2.2.4 Grampozitivní bakterie



Graf č. 4 – Obsah grampozitivních bakterií vyjádřených pomocí PLFA v jednotlivých vrstvách zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Grampozitivní bakterie dle Grafu č. 4, v téměř všech vrstvách zakládek dosahovaly průměrně třetiny celkového obsahu bakterií. I když v nejmladších vrstvách byly opět menší obsahy zaznamenány u vermikompostů, v nejstarší vrstvě vermikompostu Kalu 2 měly grampozitivní bakterie největší populaci (66,97 µg/g sušiny), což byl druhý největší údaj v celém pozorování těchto bakterií. U vermikompostů Kalu 1 a Kalu 2 v nejstarší vrstvě byl také zaznamenán statisticky významný rozdíl. Kompost Kalu 1 v druhé vrstvě nabýval největšího počtu G+ bakterií (68,4 µg/g sušiny) v celém pozorování. Ostatní zakládky v této vrstvě vykazovaly podobný počet těchto bakterií. V této vrstvě byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi kompostem a vermikompostem Kalu 1, stejně tak tomu bylo u vrstev III a IV. Nejmenší obsahy grampozitivních bakterií byly celkově naměřeny ve čtvrtých a pátých vrstvách zakládek. Pátá vrstva nevykazovala žádné statisticky významné rozdíly. Nejmeně grampozitivních bakterií bylo opět naměřeno ve vrstvách vermikompostu Kalu 1, kde se obsah postupně snižoval, až v řadě nejmladší dosahoval hodnot 11,01 µg/g sušiny. Nejmladší vrstva ukazovala statisticky významný rozdíl právě mezi vermikompostem Kalu 1 a kompostem Kalu 2.

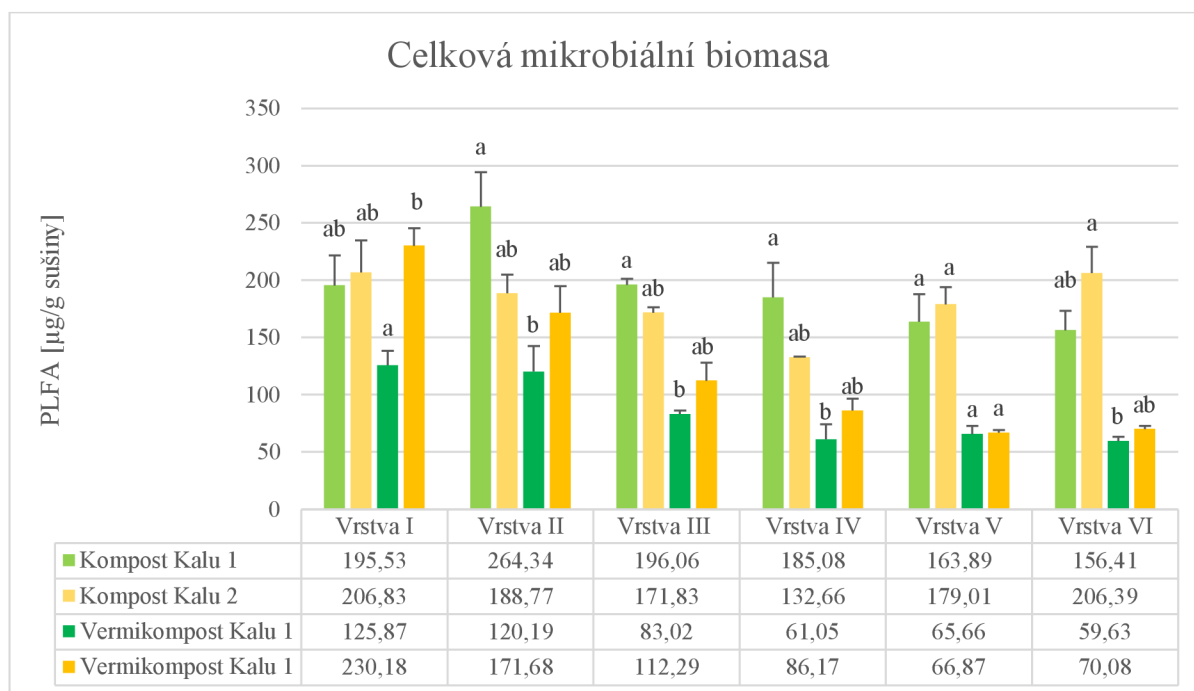
### 5.2.2.5 Gramnegativní bakterie



Graf č. 5 - Obsah gramnegativních bakterií vyjádřených pomocí PLFA v jednotlivých vrstvách zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Na základě Grafu č. 5 bylo zjištěno, že gramnegativní bakterie byly v zakládkách zastoupeny ve větší míře než ostatní mikroorganismy. Mezi kompostovacími zakládkami lze podle naměřených hodnot zjistit, že původ kalu zde neměl nijak zvlášť velký vliv, což platí i u pozorování vermikompostovacích zakládek. Kal 1 měl ve vermikompostu téměř ve všech vrstvách nejméně gramnegativních bakterií a koncentrace těchto bakterií postupně vrstvami klesala i u vermikompostování Kalu 2. V první vrstvě nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl mezi zakládkami, hodnoty zde byly ve všech zakládkách velmi podobné. V druhé vrstvě byla zaznamenán u kompostu Kalu 1 největší hodnota gramnegativních bakterií (106,67  $\mu\text{g/g}$  sušiny) v celém statistickém měření. Při zkoumání Kalu 1, můžeme poznamenat, že v druhé až čtvrté vrstvě vznikl statisticky významný rozdíl mezi kompostem a vermikompostem tohoto kalu. Nejméně gramnegativních bakterií (26,74  $\mu\text{g/g}$  sušiny) bylo naměřeno v nejčerstvější vrstvě. V posledních dvou vrstvách nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl.

### 5.2.2.6 Celková mikrobiální biomasa

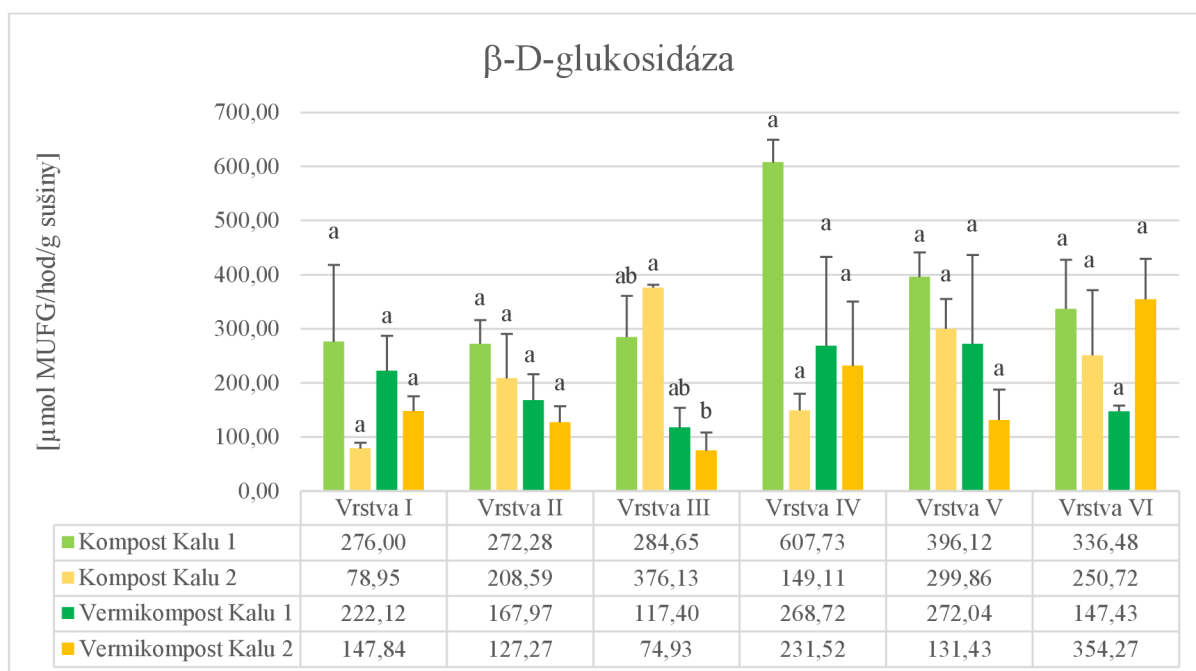


Graf č. 6 – Celková mikrobiální biomasa vyjádřena pomocí PLFA v jednotlivých vrstvách zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Celková mikrobiální biomasa představuje všechny již zmíněné mikroorganismy. Na Grafu č. 6 lze vidět a tím pádem i potvrdit to, co bylo zmíněno již u předchozích mikroorganismů. Byl zásadní rozdíl v tom, zda se čistírenské kaly kompostovaly či vermikompostovaly. Čistírenský kal 1 zřejmě obsahoval složku, která žížalám a popřípadě následně mikroorganismům příliš nesvědčila, a proto jejich koncentrace nedosahovaly takových hodnot. Nejstarší vrstvy vermikompostů na tom nebyly s obsahy tak špatně, což bylo podmíněno nejspíše nižším počtem žížal ve spodních vrstvách. V prvních vrstvách byl naměřen statisticky významný rozdíl mezi vermikompostovacími zakládkami. V druhé vrstvě kompostu z Kalu 1 byla naměřena největší mikrobiální biomasa (264,34  $\mu\text{g/g}$  sušiny) a tato vrstva měla statisticky významný rozdíl s vermikompostem stejného kalu, stejně tak tomu bylo i mezi třetími a čtvrtými vrstvami. V páté vrstvě nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Nejmenší mikrobiální biomasa byla naměřena v šesté vrstvě vermikompostu Kalu 1, která vykazovala ve stejné vrstvě statisticky významný rozdíl s kompostem Kalu 2.

## 5.2.3 Výsledky stanovení enzymatické aktivity

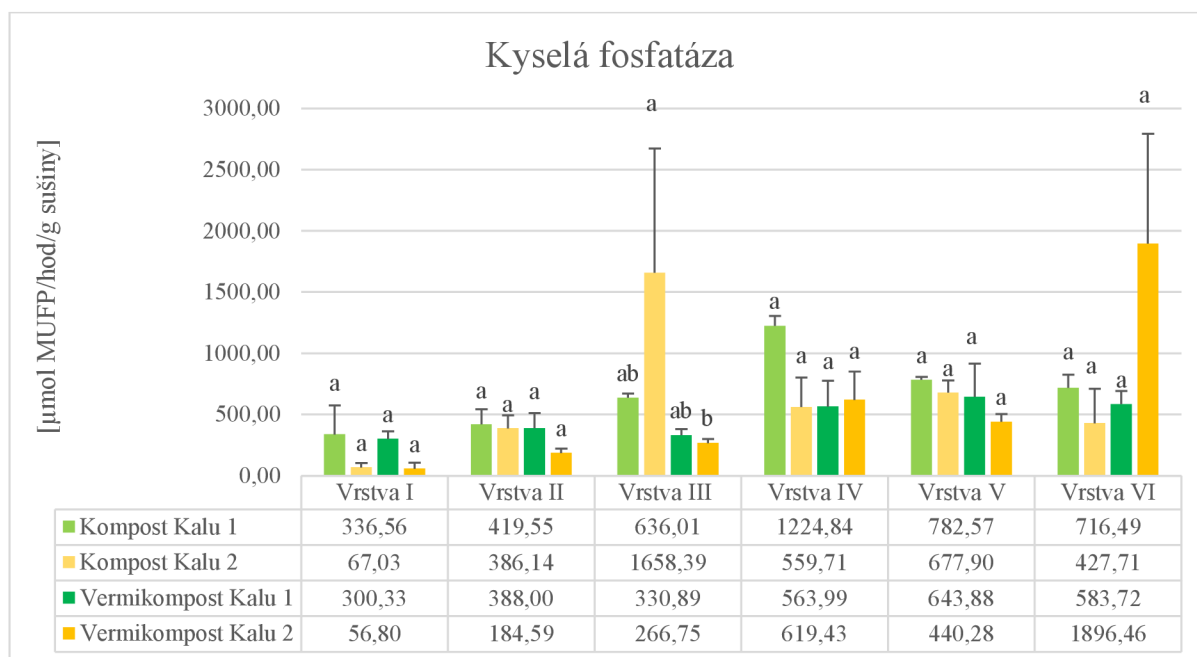
### 5.2.3.1 $\beta$ -D-glukosidáza



Graf č. 7 –  $\beta$ -D-glukosidáza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Za pomoci Grafu č. 7, bylo možné porovnat aktivitu  $\beta$ -D-glukosidázy v jednotlivých vrstvách zakládek. Aktivita  $\beta$ -D-glukosidázy se výrazně nelišila mezi kompostováním a vermikompostováním čistírenských kalů, avšak vermikompostovací zakládky obsahovaly enzymu o něco méně. Ovšem byl vidět drobný rozdíl mezi původem kalu, kdy Kal 2 dosahoval ve vrstvách téměř vždy menších hodnot než Kal 1, čemuž bylo jinak u vrstev III a VI. Například u první vrstvy byla pozorována snížená aktivita tohoto enzymu u kompostu Kalu 2, která dosahovala jen 78,95  $\mu\text{mol MUFG/hod/g sušiny}$ , což byla druhá nejmenší naměřená hodnota. Ve druhé vrstvě byl na Grafu č. 7 zjištěn rozdíl právě vermikompost vs. kompost a také Kal 1 vs. Kal 2. Průměrná aktivita  $\beta$ -D-glukosidázy v celém měření byla určena jako 225,73  $\mu\text{mol MUFG/hod/g sušiny}$ , což výrazně překročila čtvrtá vrstva kompostu Kalu 1 s 607,73  $\mu\text{mol MUFG/hod/g sušiny}$ , jakožto nejvyšší naměřená hodnota. Ve všech vrstvách, kromě třetí nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl. Třetí vrstva vykazovala významný rozdíl mezi kompostem a vermikompostem Kalu 2.

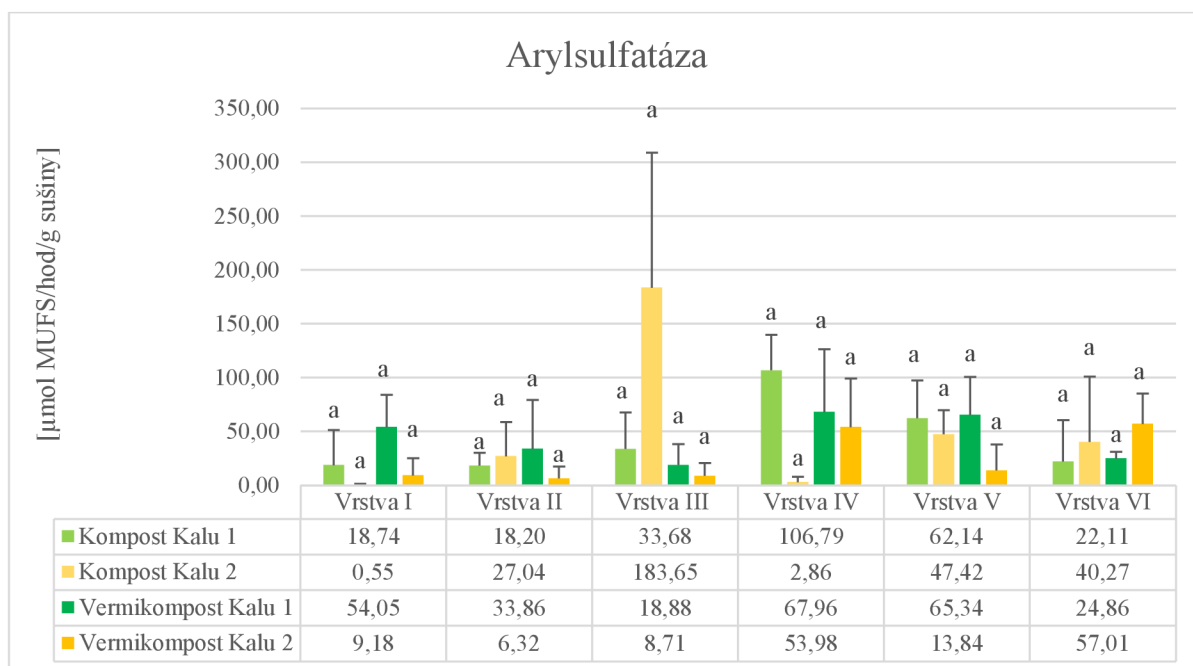
### 5.2.3.2 Kyselá fosfatáza



Graf č. 8 – Kyselá fosfatáza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Kyselá fosfatáza byla v zakládkách obsažena průměrně 2x méně než  $\beta$ -D-glukosidáza (590,33  $\mu\text{mol MUFP/hod/g sušiny}$ ). U kyselé fosfatázy byl pozorován postupný pokles aktivity se stářím vrstev. Zjištěnému průměru se výrazně vymykala vrstva III kompostu Kalu 2 (1658,39  $\mu\text{mol MUFP/hod/g sušiny}$ ), nejmladší vrstva vermikompostu kalu 2 (1896,46  $\mu\text{mol MUFP/hod/g sušiny}$ ) a také čtvrtá vrstva kompostovací zakládky Kalu 1 (1224,84  $\mu\text{mol MUFP/hod/g sušiny}$ ). Rozdíl v aktivitě kyselé fosfatázy byl znát mezi prvními vrstvami mezi jednotlivými čistírenskými kaly, kdy Kal 2 v kompostu i vermikompostu dosahoval nejnižších zjištěných hodnot (67,03  $\mu\text{mol MUFP/hod/g sušiny}$  a 56,8  $\mu\text{mol MUFP/hod/g sušiny}$ ). Kromě zmíněných odchylek již jiná nebyla pozorována, a nebylo tedy výrazné odlišení od kompostování a vermikompostování či od původu čistírenských kalů. Jediný statisticky významný rozdíl byl zjištěn ve vrstvách III, a to opět mezi kompostem a vermikompostem Kalu 2 (viz Graf č. 8).

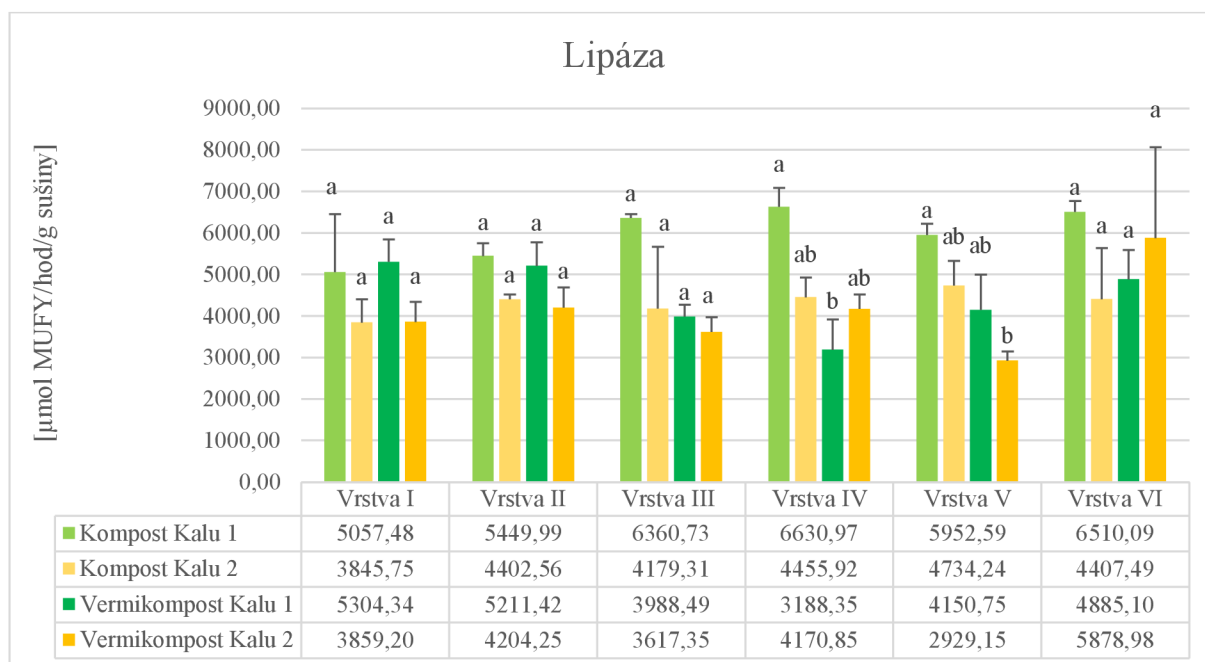
### 5.2.3.3 Arylsulfatáza



Graf č. 9 – Arylsulfatáza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Enzym arylsulfatáza dosahoval vůbec nejmenší aktivity z měřených enzymů, jehož průměr dosahoval pouze 40,73  $\mu\text{mol MUFS/hod/g sušiny}$ . Tento průměr byl překročen více než 4x ve vrstvě III kompostu Kalu 2, kde byla naměřena vůbec nejvyšší aktivita arylsulfatázy (183,65  $\mu\text{mol MUFS/hod/g sušiny}$ ). Arylsulfatázy obsahoval více kompost a vermikompost Kalu 1 ve všech vrstvách, kromě té třetí. Nejmenší obsahy tohoto enzymu byly prokazatelně nejmenší ve vermikompostu Kalu 2. V nejstarší vrstvě bylo celkově arylsulfatázy úplně nejméně, především v kompostu Kalu 2, kde bylo naměřeno pouze 0,55  $\mu\text{mol MUFS/hod/g sušiny}$  arylsulfatázy. Statisticky významný rozdíl nebyl pozorován mezi žádnými vrstvami zakládek.

### 5.2.3.4 Lipáza

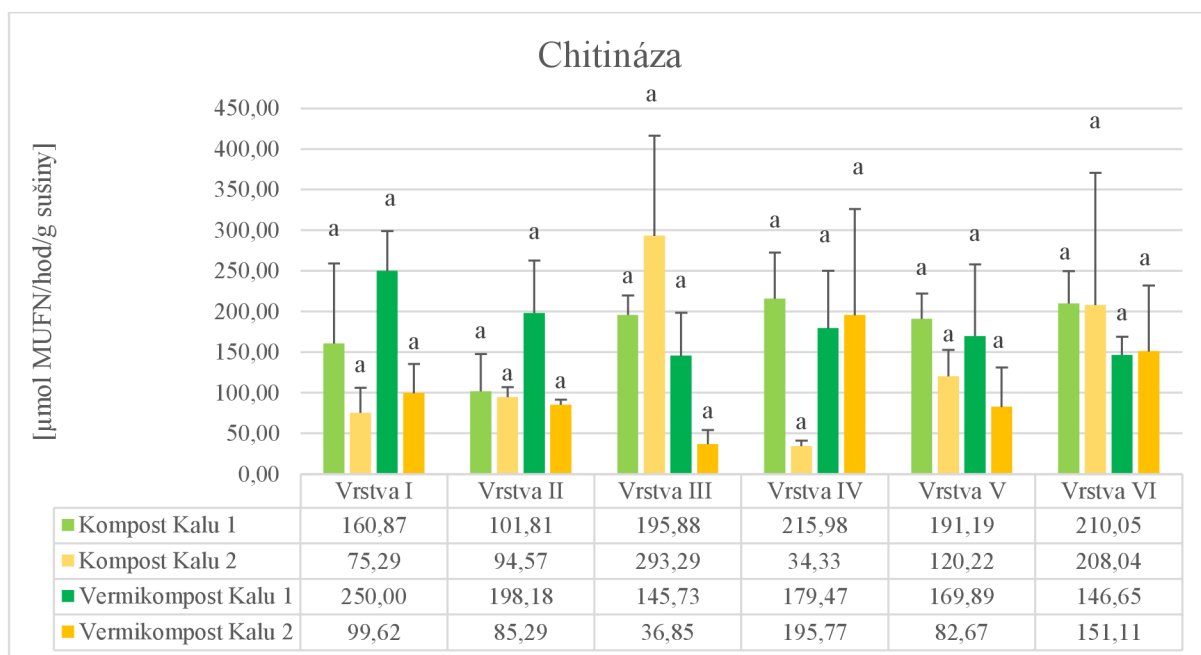


Graf č. 10 – Lipáza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Na základě Grafu č. 10, bylo možné potvrdit tvrzení z literární rešerše, že aktivita lipázy vykazuje při kompostování a vermikompostování největší aktivitu z měřených enzymů. Průměrně aktivita lipázy dosahovala 4723,97  $\mu\text{mol MUFY/hod/g sušiny}$  ve všech vrstvách zakládek, což oproti nejméně zastoupenému enzymu (arylsulfatázy) je skoro 116 x větší aktivita. Nejvíce tohoto enzymu bylo naměřeno v kompostu Kalu 1, jehož hodnoty téměř ve všech vrstvách překonaly ostatní zakládky. Naměřené hodnoty se od sebe jinak významně nelišily v ohledu na kompost vs. vermikompost či Kal 1 vs Kal 2. Drobná změna nastává ve vrstvách IV, kde vermikompost Kalu 1 výjimečně vykazoval nižší aktivitu než zakládky s Kalem 2. Nejmenší aktivita lipázy byla naměřena v nejstarších vrstvách a postupně aktivita rostla až do nejmladší vrstvy, kde kompost Kalu 1 vykazoval aktivitu dokonce 6510,09  $\mu\text{mol MUFY/hod/g sušiny}$ . Nejmenší aktivita (2929,15  $\mu\text{mol MUFY/hod/g sušiny}$ ) tohoto enzymu byla naměřena v páté vrstvě vermikompostu Kalu 2. V tomto pozorování byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi vrstvami IV v zakládkách s Kalem 1. Též byl nalezen statisticky významný rozdíl při pozorování pátých vrstev, a to mezi kompostem Kalu 1 a vermikompostem Kalu 2.



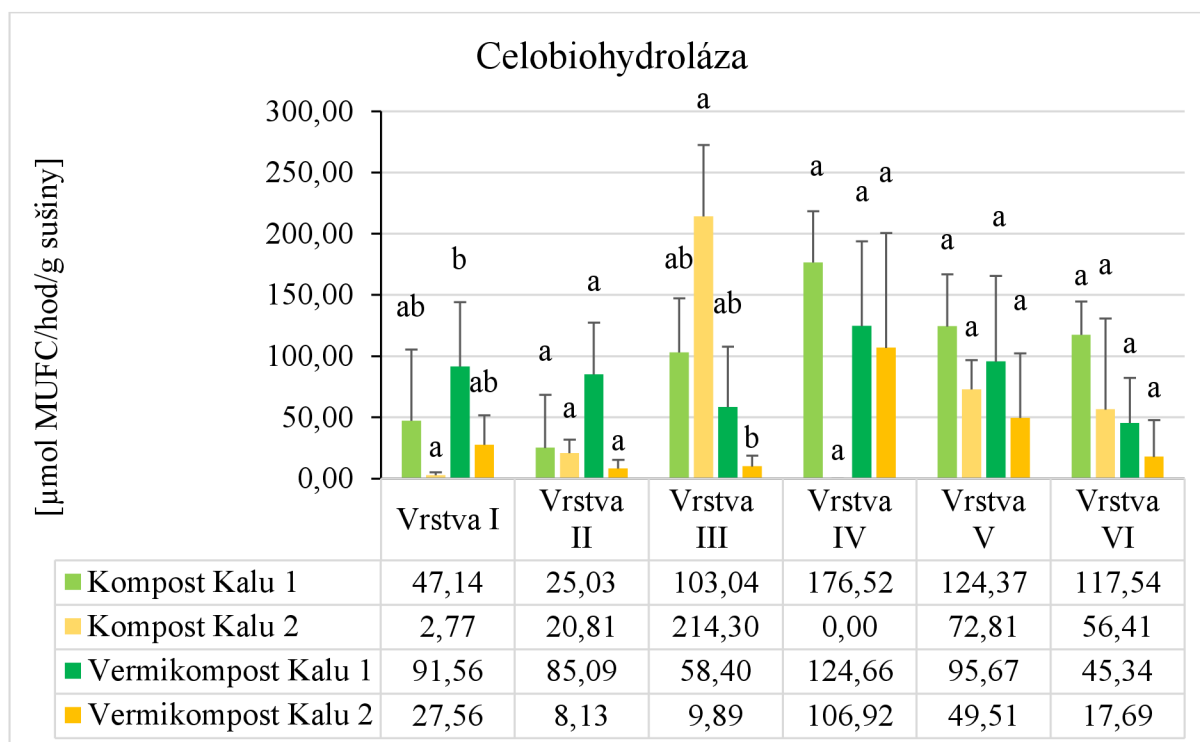
### 5.2.3.5 Chitináza



Graf č. 11 – Chitináza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

V Grafu č. 11 byly znázorněny aktivity chitinázy v jednotlivých vrstvách zakládek. Obsahy chitinázy v jednotlivých vrstvách a zakládkách byly velmi rozdílné. Menší obsahy měl prokazatelně Kal 2, především ve vermikompostovací zakládce, i když občas byly zpozorovány značné výkyvy. V některých vrstvách (I, II a V) bylo vidět rozlišení mezi Kalem 1 a Kalem 2, kde Kal 1 vykazoval ve svých zakládkách vyšší aktivitu chitinázy. Ve vrstvách III a VI byl naopak vidět rozdíl mezi zakládkami, které byly kompostovány a těmi které byly vermikompostovány, kdy kompostovací zakládky obou kalů doprovázela vyšší aktivita chitinázy. Ve čtvrté vrstvě se od ostatních zakládek výrazně lišil kompost Kalu 2, který obsahoval pouze 34,33  $\mu\text{mol MUFN/hod/g sušiny}$ , což se ukázalo jako nejmenší naměřená aktivita mezi vrstvami vůbec. Druhá nejmenší hodnota (36,85  $\mu\text{mol MUFN/hod/g sušiny}$ ) byla naměřena hned ve třetí vrstvě vermikompostu Kalu 2, kde mezi těmito vrstvami byla zároveň naměřena nejvyšší aktivita chitinázy (293,29  $\mu\text{mol MUFN/hod/g sušiny}$ ) v kompostu Kalu 2. Toto zjištění nám tedy krásně znázornilo, jak jsou aktivity chitinázy různorodé napříč zakládkami i vrstvami. U aktivit chitinázy nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl.

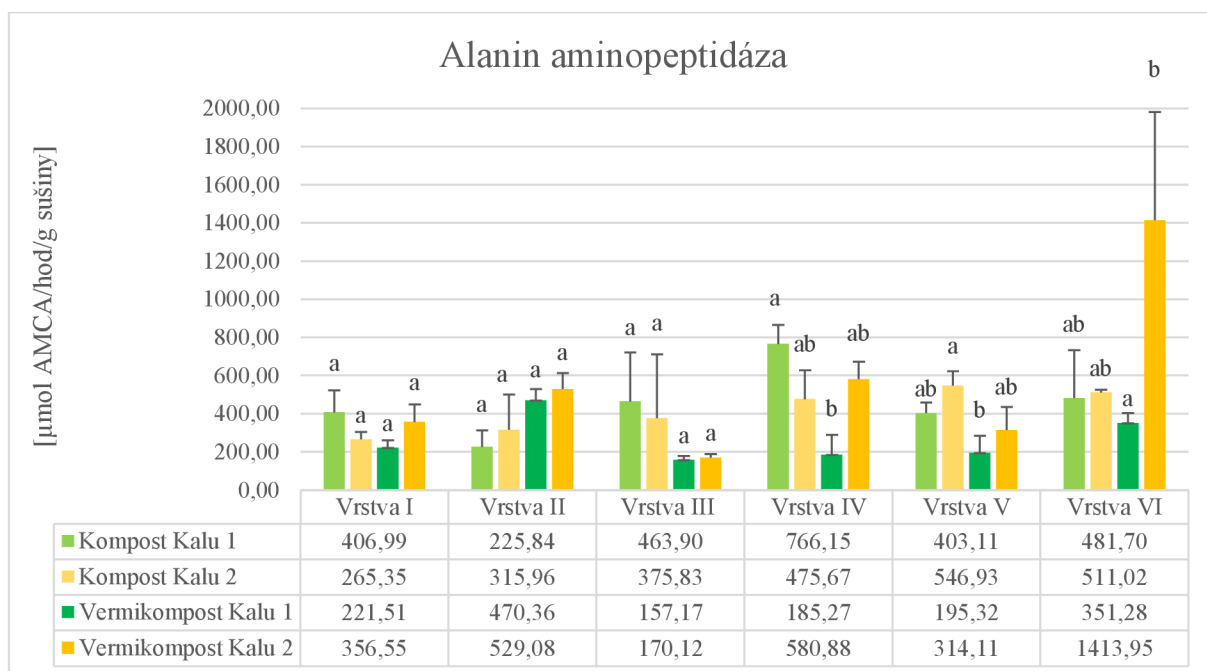
### 5.2.3.6 Celobiohydroláza



Graf č. 12 – Celobiohydroláza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Aktivita celobiohydrolázy byla druhá nejmenší ze zkoumaných enzymů, jelikož její průměrná hodnota napříč zakládkami a vrstvami dosahovala pouze 70,05  $\mu\text{mol MUFC/hod/g sušiny}$ . Vyšší koncentrace enzymů byla zjištěna u zakládek s Kalem 1, jinak tomu bylo jen u vrstvy III, kde zakládka kompostu s Kalem 2, vykazovala vůbec největší aktivitu (214,30  $\mu\text{mol MUFC/hod/g sušiny}$ ) v celém měření. Mezi kompostem Kalu 1 ve III a IV byl zpozorován značný nepoměr, kde již zmíněná III vrstva obsahovala nejvyšší aktivitu, kdežto ve čtvrté vrstvě byla aktivita nulová. Celkově nejmenší aktivity dosahoval Kal 2 ve vermikompostu. V nejstarších dvou vrstvách dosahoval vermikompost Kalu 1 výjimečně vyšších hodnot, než bylo naměřeno u kompostování stejného kalu. Ve dvou nejmladších vrstvách bylo krásně znázorněno, že v kompostových zakládkách bylo více celobiohydrolázy než ve vermikompostu a zároveň bylo vidět, že menších hodnot dosahovaly zakládky s Kalem 2. Statisticky významný rozdíl byl zpozorován v prvních vrstvách mezi kompostem Kalu 2 (2,77  $\mu\text{mol MUFC/hod/g sušiny}$ ) a vermikompostem Kalu 1 (91,56  $\mu\text{mol MUFC/hod/g sušiny}$ ). Také byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi zakládkami s Kalem 2 ve třetích vrstvách (viz Graf č. 12).

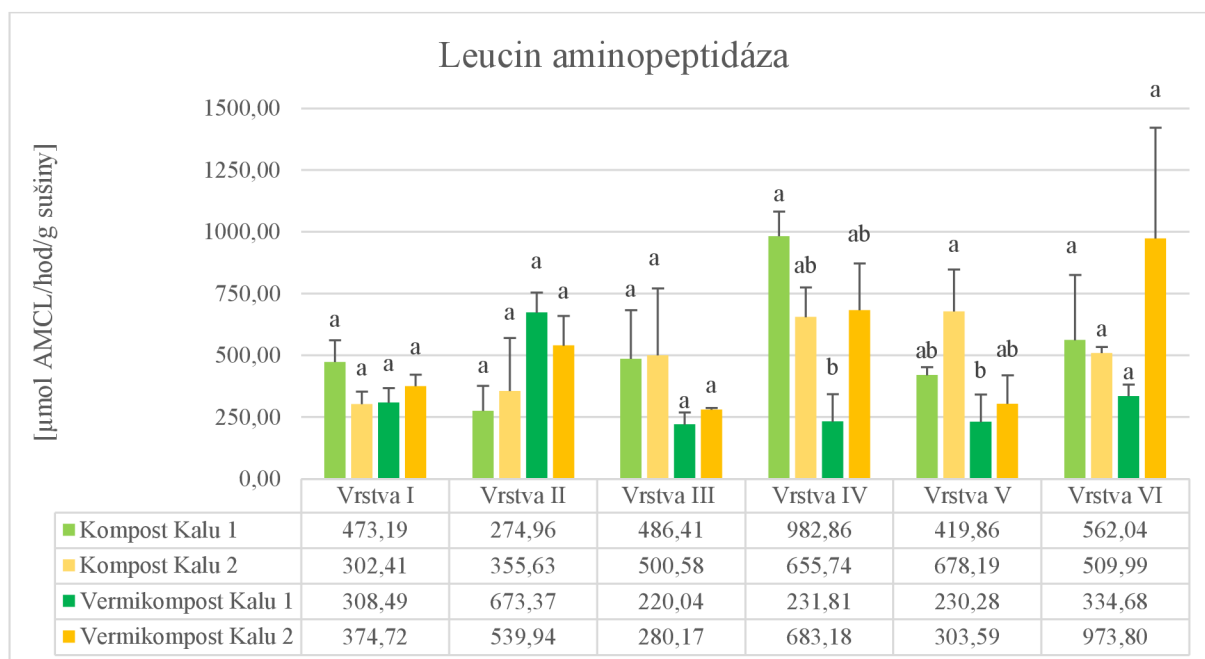
### 5.2.3.7 Alanin aminopeptidáza



Graf č. 13 – Alanin aminopeptidáza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Aktivita alanin aminopeptidázy, zaznamenaná v Grafu č. 13, byla naměřena vyšší ve třech nejmladších vrstvách. U tohoto enzymu však nešlo přesně určit, zda byla větší aktivita v zakládkách s žížalami či bez nich, či v zakládkách s Kalem 1 či s Kalem 2. Průměrná aktivita alanin aminopeptidázy byla vypočtena jako 424,34  $\mu\text{mol AMCA/hod/g sušiny}$ , což nejmladší vrstva vermikompostu Kalu 2 překračovala více než třináásobně. Například v druhých vrstvách byla zaznamenána vyšší aktivita u vermikompostovacích zakládek obou kalů, kdežto ve vrstvách III byly aktivity u vermikompostovacích zakládek nižší, než tomu bylo u zakládek kompostů. Vermikompostovací zakládky ve třetích vrstvách dosahovaly nejmenších aktivit vůbec, u Kalu 1 bylo naměřeno 157,17  $\mu\text{mol AMCA/hod/g sušiny}$  a u Kalu 2 170,12  $\mu\text{mol AMCA/hod/g sušiny}$ . Nejmenší aktivity alanin aminopeptidázy, byly pozorovány ve vermikompostu Kalu 1 v téměř všech vrstvách. Čtvrté vrstvy kompostu a vermikompostu Kalu 1 vykazovaly statisticky významné rozdíly. V páté vrstvě měla zakládka s Kalem 2 vyšší aktivitu pozorovaného enzymu, oproti zakládce stejného typu s Kalem 1. V této vrstvě byl také zjištěn statisticky významný rozdíl mezi zakládkou kompostu Kalu 2 a vermikompostu Kalu 1. V nejmladších vrstvách, byl naměřen statisticky významný rozdíl s nejvyšší naměřenou hodnotou vermikompostu Kalu 2 s druhou zakládkou vermikompostu.

### 5.2.3.8 Leucin aminopeptidáza



Graf č. 14 – Leucin aminopeptidáza ve vrstvách zkoumaných zakládek. Hodnoty představují průměry se směrodatnou odchylkou (n=3), indexy udávají, zda byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi naměřenými daty pomocí Kruskal-Wallisova testu ( $p < 0,05$ ).

Dle Grafu č. 14 aktivita leucin aminopeptidázy byla průměrně o cca 50  $\mu\text{mol AMCL/hod/g sušiny}$  vyšší, než tomu bylo u enzymu alanin aminopeptidáza. S předchozím hodnoceným enzymem byly nalezeny i podobnosti, co se týče výsledků. V nejstarší vrstvě nebyly pozorovány výrazné rozdíly mezi typy zakládek. V druhých vrstvách byla opět vyšší aktivita enzymu zjištěna u vermikompostovacích zakládek, kdežto u vrstev III, tomu bylo naopak. Ve vrstvě IV, byla naměřena nejvyšší aktivita leucin aminopeptidázy (982,86  $\mu\text{mol AMCL/hod/g sušiny}$ ) u kompostu Kalu 1, která byla téměř totožná s aktivitou tohoto enzymu ve vrstvě VI vermikompostu Kalu 2. Ve čtvrté vrstvě byl zároveň zpozorován statisticky významný rozdíl mezi kompostem a vermikompostem Kalu 1. V páté vrstvě byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi kompostem Kalu 2 a vermikompostem Kalu 1. Celkově ve všech vrstvách (kromě druhé) dosahovala aktivita leucin aminopeptidázy vždy nejmenších hodnot.

## 6 Diskuse

### 6.1 Aktivita mikroorganismů

Po porovnání kompostovacích a vermikompostovacích zakládek směsí jednotlivých kalů bylo zřejmé, že všechny zastoupené mikroorganismy měly u Kalu 1 daleko větší zastoupení v kompostu než ve vermikompostu, a to ve všech vrstvách. Při hodnocení Kalu 2 bylo zjištění velmi podobné jako u předchozího čistírenského kalu. Ve dvou nejstarších vrstvách však bylo zjištěno, že vermikompost měl obsahy mikroorganismů větší či vyrovnané s kompostem.

Při porovnávání vermikompostů a kompostů zvláště byl mezi těmito typy zakládek vidět drobný rozdíl. Vermikompostovací zakládka s Kalem 1 měla v téměř všech vrstvách větší koncentraci posuzovaných mikroorganismů než Kal 2. Ovšem v mladších vrstvách bylo zastoupení mikroorganismů mezi kaly téměř vyrovnané. U porovnávání kompostovacích zakládek byl zpozorován výkyv naměřených hodnot. Kal 2 měl téměř vždy větší množství mikroorganismů v nejstarších a nejmladších vrstvách.

Zastoupení mikroorganismů v tomto pokusu bylo zjišťováno pomocí obsahu fosfolipidových mastných kyselin, což je jedna z nejčastěji využívaných metod pro stanovení. Villar et al. (2016) takto stanovili mikrobiální zastoupení v průběhu času u vermikompostování čerstvých a částečně zkompostovaných čistírenských kalů. Ti však naměřili opačné hodnoty, tedy, že ve starším materiálu zaznamenali menší koncentraci mikroorganismů, ne v čerstvějším materiálu. I oni však uvedli, že v kompostovacích zakládkách bylo větší zastoupení mikroorganismů než v zakládkách s žížalami. Také Hanč et al. (2022) využili tuto metodu pro zjištění diverzity mikroorganismů během kompostování a vermikompostování čistírenských kalů se slaměnými peletami a naměřili v podstatě srovnatelné výsledky s našim pokusem.

To, jaký vstupní materiál využijeme u kompostování a vermikompostování výrazně ovlivní průběžné a také výsledné zastoupení mikroorganismů, což bylo zpozorováno i při tomto pokusu, kdy každý kal vykazoval jiné obsahy zkoumaných skupin mikroorganismů. S tímto tvrzením souhlasí například Vukovic et al. (2021). Při tomto pokusu bylo zjištěno, že vždy vyšší aktivita mikroorganismů byla v nejstarších vrstvách vermikompostů a postupně se s vyššími vrstvami výrazně snižovala. Hřebečková et al. (2019) ovšem při svém pokusu, kdy vermikompostovali domácí bioodpad, odpad ze sladoven se zemědělským odpadem a také matolinu, naměřili hodnoty opačné, tedy zjistili vyšší aktivitu mikroorganismů v nejmladších vrstvách. Tento rozdíl byl nejspíše způsoben odlišnými vstupními materiály.

Houby byly ve všech zakládkách ve výrazně menším zastoupení, nežli tomu bylo u bakterií, a v tomto případě bylo bakterií průměrně 20 x více než hub. To, že bylo hub během procesu i ve výsledném produktu méně, zjistili mimo jiné také Schoenhöfer et al. (1999), kteří to vysvětlují tím, že houby slouží částečně jako potrava pro žížaly. Dalo by se tím vysvětlit, že ve starších vrstvách, kde bylo žížal již minimum, docházelo k větší aktivitě hub než v čerstvých zakládkách s několikanásobně vyšším počtem žížal. Nízká aktivita hub byla také nejspíše zapříčiněna hodnotou pH pokusných směsí, jelikož vykazují nejčastěji neutrální hodnoty, kdežto houby ke svému životu vyhledávají prostředí spíše kyselá. To ve své studii naznačili také Rousk et al. (2010) a také Gock et al. (2003). Více hub obsahovaly kompostovací zakládky, bez ohledu na využitý kal a tato vyšší aktivita byla pozorována především v nejmladších vrstvách.

Aktinomycety se v zakládkách vyskytovaly spíše sporadicky, jelikož jejich průměrný výskyt napříč vrstvami a zakládkami činil 2,53  $\mu\text{g/g}$  sušiny, což byla oproti houbám pouze polovina jejich množství. Gómez-Brandón et al. (2020) uvedli, že ve výsledném produktu by mělo být vyšší množství aktinomycet, než ve vstupním materiálu či v nehotovém vermikompostu. Pokud bychom brali spodní vrstvy v našem experimentu jako hotový kompost, mohli bychom s tímto tvrzením souhlasit, jelikož množství aktinomycet se postupně s čerstvostí vrstev snižovalo. Při kompostování a vermikompostování zeleného odpadu zjistili Cai et al. (2018) vyšší množství aktinomycet ve vermikompostovacích zakládkách, což náš pokus vyvrátil u obou použitých kalů.

Při porovnávání grampozitivních (G+) a gramnegativních (G-) bakterií bylo zjištěno, že G- bakterie byly zastoupeny ve větší míře. Villar et al. (2016) porovnávali několik studií a konstatovali, že žížaly daleko více ovlivňují svými činnostmi G+ bakterie. S tímto tvrzením souhlasí také Gómez-Brandón et al. (2020). Proto je možné, že v nejstarších vrstvách, téměř bez žížal, byly grampozitivní bakterie téměř ve stejném množství jako gramnegativní a postupně v dalších vrstvách jejich množství klesalo. Také Domíniquez et al. (2021) ve své studii potvrdili, že gramnegativních bakterií bylo během vermikompostování více než těch grampozitivních. U zakládek bez žížal byly obsahy G+ a G- téměř ve všech vrstvách vyrovnané. V tomto případě tedy nezáleželo tolik na původu čistírenského kalu jako na typu zakládky, tedy především zda v ní byly přítomny žížaly.

Domíniquez et al. (2021) zkoumali vermikompostování kalů z čistíren odpadních vod a zjistili, že žížaly významně mění zastoupení hub a bakterií během procesu. Toto zjištění bylo zřejmé také u tohoto pokusu, kdy obsahovaly kompostovací zakládky větší množství mikroorganismů. Největší změny v zastoupení mikroorganismů probíhaly právě na začátku a konci procesu. Celkové mikrobiální složení ve vermikompostech bylo velmi závislé na vstupním materiálu a také na druhu použitých žížal (Chitrapriya et al. 2013).

## 6.2 Aktivita enzymů

Mezi vermikomposty jednotlivých směsí byl opět pozorován rozdíl, ovšem opačný než při pozorování mikroorganismů. Zatímco mikroorganismů bylo při vermikompostování více u Kalu 2, vyšší enzymatickou aktivitu vykazovala vermikompostovací zakládka s Kalem 1. V mladších vrstvách byla aktivita mezi vermikomposty často vyrovnaná či někde drobně převažovala aktivita u Kalu 2. Výjimku tvořila alanin aminopeptidáza a také leucin aminopeptidáza, které ve všech vrstvách vykazovaly vyšší aktivitu ve vermikompostu Kalu 2, kde v nejmladších vrstvách často několikanásobně překračovala aktivita těchto enzymů průměr.

U porovnání kompostovacích zakládek byla vyšší aktivita enzymů naměřena také u Kalu 1, ovšem třetí vrstva kompostu Kalu 2, často vykazovala mnohem vyšší hodnoty, které se hned v následující vrstvě razantně snížily. Změna byla opět zjištěna u alanin aminopeptidázy a leucin aminopeptidázy, u kterých vypadá, že byly více závislé na zastoupení mikroorganismů v zakládkách, tedy kde bylo více mikroorganismů byla i vyšší aktivita těchto enzymů.

Co se týče Kalu 1, byla téměř ve všech případech zjištěna vyšší aktivita u kompostovací zakládky. V nejstarších vrstvách byla aktivita enzymů dosti vyrovnaná, či výjimečně vermikompost vykazoval vyšší aktivitu. Po zaměření se na arylsulfatázu bylo zjištěno, že aktivita tohoto enzymu byla vyšší u Kalu 1 pouze ve třetí a čtvrté vrstvě.

U Kalu 2 nebyla vyšší aktivita enzymů u kompostu tak průkazná. V nejstarší a nejmladší vrstvě byla téměř vždy vyšší aktivita u vermikompostovací zakládky, kdežto v prostředních vrstvách byla vyšší aktivita většiny enzymů vyšší u kompostu.

Enebe a Erasmus (2023) zdůraznili důležitost enzymů během rozkladných procesů a jejich nezastupitelné funkce v těchto procesech. Hydrolyzní enzymy zapřičiňují rozklad vstupních látek a tvoří tak, cenný materiál, vermikompost. V tomto pokusu bylo měřeno pouze osm hydrolytických enzymů, stejně tak jako to provedli Hanč et al. (2022), při vermikompostování čistírenského kalu a slámených pelet. Aktivita enzymů v našem pokusu byla ovlivněna vstupním materiálem, tedy původem kalu, s občasnými výkyvy ve vrstvách.

Přítomnost enzymů ukazuje, zda je výsledný produkt dostatečně stabilizován a zda rozkladné procesy probíhají správně (Aira et al. 2007), dá se to zjistit například tak, že postupná aktivita enzymů ve starších vrstvách klesá. Hanč et al. (2022) doplňují, že častěji je vyšší aktivita enzymů v čerstvějším materiálu a s časem tedy klesá, což bylo potvrzeno u většiny enzymů i v našem pokusu.

Pokud se zaměříme na enzym  $\beta$ -D-glukosidázu, její aktivita postupně se starším materiálu klesala, tento jev lze pozorovat mnohem lépe u vermikompostovacích zakládek nežli u kompostovacích. Acosta-Martínez a Tabatabai (2000) zjistili, že pH hodnota ovlivňuje aktivitu tohoto enzymu, tedy čím blíže je hodnota pH 8,5, tím je aktivita nižší. S tímto tvrzením lze souhlasit, jelikož starší zakládky měly mírně vyšší pH než mladší vrstvy a  $\beta$ -D-glukosidáza dosahovala o něco nižší aktivity. Benitez et al. (2005) také svým výzkumem potvrdili vyšší aktivitu  $\beta$ -D-glukosidázy v čerstvějším materiálu při vermikompostování olivového odpadu. Při vermikompostování rajčat Fernández-Gómez et al. (2010) stanovili vyšší aktivitu ve vstupním materiálu, která postupem času klesala. I oni tedy toto tvrzení potvrdili.

U pozorování kyselé fosfatázy byly výrazně nejnižší hodnoty v nestarších vrstvách, a především v zakládkách s Kalem 2. Nesrovnalost byla pozorována u abnormálně zvýšené aktivity tohoto enzymu v Kalu 2, a to nejprve v kompostovací zakládce tohoto kalu ve vrstvě III a také ve vermikompostovací zakládce v nejmladší vrstvě. U vermikompostování Kalu 2 byl mezi nejstarší a nejmladší vrstvou rozdíl 1839,66  $\mu\text{mol MUFP/hod/g}$  sušiny. Výrazně vyšší aktivita v nejmladší vrstvě se dá opodstatnit mírným poklesem pH než v ostatních vrstvách. Hřebečková et al. (2019) provedli vermikompostování matoliny, domácího bioodpadu a také kalu ze sladoven a ani u jednoho druhu odpadu nezaznamenali tak výrazný pokles kyselé fosfatázy mezi nejstaršími a nejmladšími vrstvami. Například také zaznamenali, že kyselá fosfatáza ve všech vrstvách zakládky s kaly ze sladoven téměř za celou dobu nezměnila intenzitu své aktivity.

Enzym arylsulfatáza vykazoval průměrně vůbec nejnižší aktivitu ze všech měřených enzymů. U tohoto enzymu nelze přesně říci, v jaké vrstvě byla jeho aktivita nejvyšší, a dokonce nelze ani přesně říci, zda byl enzym aktivnější při kompostování či vermikompostování. Například u Kalu 1 byla nejvyšší aktivita pozorována v obou typech zakládek v prostředních vrstvách a vyšší byla také v nejstarších vrstvách oproti těm nejčerstvějším. Kdežto Hanč et al. (2022) ve svých různě namíchaných směsích pozorovali téměř ve všech zakládkách postupný

pokles aktivity arylsulfatázy postupem času. Naproti tomu Santana et al. (2020) zaregistrovali, po 30 dnech vermikompostování matoliny zvýšenou aktivitu arylsulfatázy oproti vstupnímu materiálu. Úplně nejmenší aktivita arylsulfatázy byla naměřena v nejstarší vrstvě kompostovací zakládky s Kalem 2, kde dosahovala pouze 0,55  $\mu\text{mol MUFS/hod/g}$  sušiny, naproti tomu ve třetí vrstvě stejné zakládky byla naměřena vůbec nejvyšší aktivita a to 183,65  $\mu\text{mol MUFS/hod/g}$  sušiny.

Dalším měřeným enzymem byla lipáza, která oproti jiným enzymům vykazovala i několikanásobně vyšší aktivitu. Ve všech vrstvách byla naměřena poměrně vysoká aktivita tohoto enzymu, bez ohledu na to, zda byly kaly kompostovány či vermikompostovány, ovšem byl pozorován drobný rozdíl mezi použitými kaly. Zatímco Hanč et al. (2022) při kompostování a vermikompostování různých směsí čistírenských kalů pozorovali výrazný pokles v aktivitě lipázy i o několik tisíc jednotek se stářím zakládky, při tomto pokusu nebyl pokles aktivity nijak zvlášť veliký. Hřebečková et al. (2019) také naměřili ve všech vermikompostovacích zakládkách napříč vrstvami vysokou aktivitu tohoto enzymu. Také doplnili, že u vermikompostování matoliny byl zaznamenán opačný jev než u ostatních enzymů, tedy že ve starších vrstvách byla enzymatická aktivita nejnižší. Aktivita lipázy dosahovala v našem pokusu hodnot od 2929,15  $\mu\text{mol MUFY/hod/g}$  sušiny do 6630,97  $\mu\text{mol MUFY/hod/g}$  sušiny.

Při měření aktivity chitinázy byla pozorována vysoká variabilita mezi jednotlivými vrstvami a zakládkami. U Kalu 1 byla u obou zakládek naměřena vyšší aktivita chitinázy u starších či prostředních vrstev, kdežto u Kalu 2 byly vyšší aktivity v prostředních či mladších vrstvách. Er et al. (2021) kompostovali a vermikompostovali směsi listů zederachu indického a palmy olejné a naměřili vyšší aktivitu chitinázy u vermikompostů nežli u kompostů, což se shoduje s našimi výsledky, jelikož v některých vrstvách vermikomposty významně převyšovaly komposty, především v těch nejstarších. V nejmladších vrstvách byly naměřené hodnoty poměrně vyrovnané buďto mezi jednotlivými kaly nebo mezi typy zakládek. Hanč et al. (2022) při kompostování směsí kalů a slaměných pelet naměřili variabilní hodnoty v jednotlivých směsích napříč stářím, avšak ve výsledku u většiny směsí došlo k poklesu aktivity. K poklesu aktivity se stářím vrstvy došlo i v našem pokusu, avšak pokles nebyl tak zřejmý a hodnoty byly také velmi variabilní.

Celobiohydroláza měla napříč vrstvami jednotlivých zakládek velmi odlišné aktivity. Zatímco Hanč et al. (2022) naměřili aktivitu celobiohydrolázy u všech kompostovacích i vermikompostovacích směsí jako postupně klesající až úplně na minimální hodnoty, u našeho pokusu byla vyšší aktivita spíše v nejstarších vrstvách, avšak jen u vermikompostů. Nejvyšší, ale zároveň také nejmenší hodnoty tohoto enzymu byly naměřeny v prostředních hodnotách, kdy ve IV vrstvě kompostu Kalu 2 bylo naměřeno 214,3  $\mu\text{mol MUFC/hod/g}$  sušiny a hned ve vrstvě nad byly hodnoty pod mezí detekce. Hřebečková et al. (2019) ve svém výzkumu s vermikompostováním také naměřili menší aktivitu celobiohydrolázy v nejmladších vrstvách, ale jejich výsledky se od sebe tolik neodlišovaly.

Při měření alanin aminopeptidázy byla naměřena vyšší aktivita v nejmladších vrstvách. Největší hodnota byla naměřena ve vermikompostu Kalu 2 v nejmladší vrstvě, a to 1413,95  $\mu\text{mol AMCA/hod/g}$  sušiny, což bylo o 1057,4  $\mu\text{mol AMCA/hod/g}$  sušiny více než v nejstarší vrstvě. Také Hanč et al. (2021) zaznamenali při vermikompostování kávové sedliny a slaměných pelet nejnižší aktivitu v nejmladších vrstvách. Jak velký rozdíl to byl, záleželo na



složení směsi, avšak největší naměřená aktivita byla pouze cca 580 AMCA/hod/g sušiny, což je téměř poloviční hodnota, než jaká byla naměřena v našem pokusu s čistírenskými kaly.

Poslední měřená aktivita byla u leucin aminopeptidázy, která měla též vyšší aktivitu v nejmladších vrstvách. Zajímavý zde byl rozdíl v aktivitě mezi vrstvami kompostu a vermikompostu Kalu 1, kdy převážně větší aktivita je ve vrstvách kompostu, ale v druhé vrstvě razantně převládala aktivita ve vermikompostu. Komposty a vermikomposty druhého kalu vykazovaly ve všech vrstvách podobné aktivity, ovšem v nejmladší vrstvě převládala aktivita u vermikompostů. Hřebečková et al. (2019) zaznamenali tuto tendenci pouze u vermikompostování kalu ze sladoven, a to ne tak výraznou. Kdežto při vermikompostování matoliny a domácího bioodpadu naměřili vyšší aktivitu ve starších vrstvách, u domácího bioodpadu dokonce několikanásobně vyšší.

Hanč et al. (2022) uvedli pro každý enzym hranici, pod kterou když aktivita daného enzymu klesne, lze o materiálu tvrdit, že je stabilní a zralý. Pro porovnání byly vybrány pouze nejstarší vrstvy všech zakládek. Při porovnání  $\beta$ -D-glukosidázy nebyla žádná zakládka stabilizována, jelikož hranice byla 50  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>G</sub>/h/g sušiny, nejbližší tomu byl kompost Kalu 1 se 79  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>G</sub>/h/g sušiny. U kyselí fosfatázy byla tato hranice určena jako 200  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>P</sub>/h/g sušiny, kterou se svou aktivitou 67  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>P</sub>/h/g sušiny dosáhl kompost Kalu 2 a také vermikompost Kalu 2 s 57  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>P</sub>/h/g sušiny. Také pomocí arylsulfatázy byly opět stejné vrstvy ve stejných zakládkách určeny jako stabilní. Hranice pro aktivitu arylsulfatázy byla dle Hanče et al. (2022) 10  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>S</sub>/h/g sušiny, kterou vermikompost Kalu 2 přesně dodržel a kompost téhož kalu dosahoval aktivity pouhých 0,55  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>S</sub>/h/g sušiny. Za stabilní by se dle aktivity arylsulfatázy daly považovat také vermikompostovací zakládky s Kalem 2 ve vrstvě II a III a také kompostovací zakládka téhož kalu ve vrstvě IV s naměřenou aktivitou 2,86  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>S</sub>/h/g sušiny. Hranice aktivity lipázy (1000  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>Y</sub>/h/g sušiny), která by u směsi s kaly dokazovala stabilitu, nebyla v žádné z vrstev ze základek naměřena. Pokud je produkt zralý, aktivita chitinázy by měla být menší než 50  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>N</sub>/h/g sušiny, což bylo naměřeno opět u Kalu 2, nejprve ve třetí vrstvě vermikompostu a následně ve čtvrté vrstvě kompostu. Celobiohydroláza by měla mít konečnou aktivitu poměrně nízkou, a to 20  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>C</sub>/h/g sušiny. Toto či nižší číslo bylo opět naměřeno pouze u Kalu 2. Za stabilní a zralý produkt lze tedy považovat kompost kalu 2 ve vrstvě I (2,77  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>C</sub>/h/g sušiny), II (20,81  $\mu\text{mol}$  MUF<sub>C</sub>/h/g sušiny) či vrstvu IV, kde ovšem byly hodnoty pod mezí detekce. Stabilní byla také druhá a třetí vrstva vermikompostu Kalu 2. Alanin aminopeptidáza a také leucin aminopeptidáza mají dle Hanče et al. (2022) určenou hranici pod 50  $\mu\text{mol}$  AMCA/h/g sušiny popřípadě 50  $\mu\text{mol}$  AMCL/h/g sušiny, což ani v jednom případě nesplňovala žádná vrstva. Z celkového hlediska lze říci, že Kal 2 se zdá pro kompostování a vermikompostování jako výhodnější materiál, jelikož rychleji a lépe dosahuje stabilizace a zralosti.

Pokud se na výsledky podíváme komplexněji, zjistíme, že téměř u všech enzymů, kromě alanin aminopeptidázy a leucin aminopeptidázy, byla naměřena abnormálně zvýšená aktivita v kompostu Kalu 2 ve třetí vrstvě. Alanin a leucin aminopeptidázy měli tuto zvýšenou aktivitu v nejmladší vrstvě vermikompostu téhož kalu, což jsme mohli také pozorovat u lipázy či kyselí fosfatázy. Naopak nejmenší aktivita enzymů byla nalezena téměř vždy u vermikompostu Kalu 2 také ve třetí vrstvě.

## 7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit enzymatickou aktivitu a zastoupení hlavních skupin mikroorganismů při vermikompostování směsi čistírenských kalů a nasávané kartonáže, čemuž se práce věnuje a lze říci, že byl cíl splněn. Cílem bylo také potvrdit či vyvrátit zadané hypotézy.

**Hypotéza č. 1: „Vyšší enzymatická aktivita je ve vrstvách vermikompostované směsi než v kontrolní variantě“.**

Co se týče Kalu 1, bylo nutné tuto hypotézu zamítnout, především u  $\beta$ -D-glukosidázy a kyselých fosfatázy, kdy ve všech vrstvách měly kompostovací zakládky vyšší aktivitu těchto enzymů, u  $\beta$ -D-glukosidázy dokonce výrazně vyšší. Ostatní enzymy měly také převážně vyšší aktivitu v kompostovací základce, ovšem nejčastěji vykazoval v nejstarších vrstvách vyšší aktivitu vermikompost.

U porovnání zakládek s Kalem 2 nebyl výsledek tak jednoznačný a nelze ji tedy jednoznačně vyvrátit či potvrdit. Žádný enzym nebyl ve všech vrstvách vyšší jen v některé ze zakládek. Všechny enzymy měly vyšší enzymatickou aktivitu ve vrstvách IV u vermikompostu. Dále vermikompost dosahoval vyšší aktivity v prvních vrstvách, kromě kyselých fosfatázy, ta naopak měla vyšší aktivitu ve vermikompostu ve vrstvě nejmladší ostatně jako  $\beta$ -D-glukosidáza, lipáza, arylsulfatáza a alanin a leucin aminopeptidázy. Alanin a leucin aminopeptidázy dosahovaly vyšší aktivity ve vermikompostu také ve druhé vrstvě.

**Hypotéza č. 2: „Žížaly mají vliv na zastoupení skupin mikroorganismů“.**

Tuto hypotézu bylo nutné u Kalu 1 potvrdit. Ve všech případech bylo pozorováno menší množství mikroorganismů ve vermikompostu než v kompostu. Žížaly tedy mají vliv na zastoupení mikroorganismů.

U Kalu 2 lze hypotézu potvrdit pouze u aktinomycet, které měly ve všech vrstvách vyšší hodnoty v kompostu. Ostatní mikroorganismy měli v prvních vrstvách vždy převahu ve vermikompostech a gram pozitivní bakterie měli tuto převahu také v druhé vrstvě. V prostředních vrstvách byl kompost a vermikompost často vyrovnán a postupně se s novějšími vrstvami rozdíl zvětšoval. V novějších vrstvách byl tedy vliv žížal znát a lze tedy hypotézu potvrdit.

**Hypotéza č. 3: „Původ kalu má vliv na výši enzymatické aktivity a mikroorganismů“.**

Tato hypotéza byla potvrzena i když například mezi mikroorganismy nebyl rozdíl na první pohled tolik zřejmý. Nešlo přesně určit který kal má na jaké mikroorganismy větší vliv, jelikož výsledky jsou velmi variabilní, a tedy jednou převažují mikroorganismy ve vrstvě jednoho kalu a následně zase převažují v kalu druhém. Často jsou obsahy mikroorganismů také dosti vyrovnané.

Především v enzymatické aktivitě byl vidět rozdíl mezi jednotlivými kaly. Tento rozdíl byl zřejmý jak při porovnání kompostovacích, tak i vermikompostovacích zakládek. Samozřejmě i u enzymů nalezneme případy, kdy byly hodnoty v některých vrstvách vyrovnané.

Zastoupení mikroorganismů a také enzymatická aktivita jsou vysoce ovlivnitelné faktory. Jde především o to, jaký vstupní materiál je použit a zda jsou dodrženy doporučené parametry pro správnou stabilizaci a zrání materiálu. Pokud se rozhodneme pro vermikompostování, výsledný produkt můžeme ovlivnit také předkompostováním, což se zdá jako vhodný způsob pro zlepšení podmínek v odpadu pro žížaly a následně právě pro mikroorganismy a enzymy. Námi použité čistírenské kaly žížalám nijak neuškodily, a naopak v nich zvětšily svou populaci.

Lze tedy konstatovat, že mikrobiální zastoupení a enzymatická aktivita jsou výrazně ovlivněny vstupním materiálem a také technologií, jelikož pokud se zvolí metoda vermikompostování, jsou mikroorganismy a enzymy výrazně ovlivněny činností žížal. Kompostování a vermikompostování lze tedy určit jako vhodnou metodu pro zároveň zbavení se přerůstajícího množství čistírenských kalů, ale také jako zisk kvalitního materiálu. Lze také alespoň redukovat nasávanou kartonáž, která nemá žádné další využití. Ačkoliv jsou metody jako kompostování a vermikompostování známy již od nepaměti, měly by být nadále zdokonalovány a čím dál více využívány. Nejen, že se výrazně sníží objem biologicky rozložitelného odpadu, což je v dnešní době, zahlcené odpady, nevyčísitelná výhoda, ale navíc získáme kvalitní výsledný produkt, kterým můžeme obohacovat naši přírodu.

Základní parametry jako obsah sušiny a vlhkosti, hodnotu pH a elektrické vodivosti či poměr C: N byly získány z již dříve provedeného pokusu. Lancinger (2023) kromě fyzikálně-chemických parametrů ve své diplomové práci zkoumal také celkové a přístupné obsahy některých prvků, konkrétně vápníku, draslíku, hořčíku a fosforu. Výsledky byly zjištěny ze vzorků odebraných ze stejných zakládek jako pro tento pokus. Byl také zjišťován počet žížal a jejich biomasa v jednotlivých vrstvách zakládek, což jistě vedlo k lepšímu pochopení rozložení enzymů a mikroorganismů v jednotlivých vrstvách.

## 8 Literatura

Acosta-Martínez V, Tabatabai MA. 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and Fertility of Soil* **31**: 85-91.

Adetunji AT, Lewu FB, Mulidzi R, Ncube B. 2017. The biological activities of  $\beta$ -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **17** (3): 794-807.

Adhikary S. 2012. Vermicompost, the story of organic gold: a review. *Agricultural Sciences* **3** (7): 905-917.

Aggie Horticulture. 2009. Chapter 1, The decomposition process. Texas Agrilife Extension Service. Available from <https://aggie-horticulture.tamu.edu/earthkind/landscape/dont-bag-it/chapter-1-the-decomposition-process/> (accessed March 2024).

Agnew JM, Leonard JJ. 2003. The physical properties of compost. *Compost Science and Utilization* **11** (3): 238-264.

Aira M, Bybee S, Pérez-Losada M, Domínguez J. 2015. Feeding on microbiomes: effects of detritivory on the taxonomic and phylogenetic bacterial composition of animal manures. *FEMS Microbiology Ecology* **91** (11): fiv117

Aira M, Monroy F, Domínguez J. 2007. Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry. *Science of The Total Environment* **385** (1-3):252-261.

Albani JR, Demuyneck S, Grumiaux F, Lepretre A. 2003. Fluorescence fingerprints of *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*. *Photochemistry and Photobiology* **78** (6): 599-602.

Ali U, Sajid N, Khalid A, Riaz L, Rabbani MM, Syed JH, Malik RN. 2015. A review on vermicomposting of organic wastes. *Environmental Progress & Sustainable Energy* **34** (4):1050-1062.

Almeida RF, Naves ER, Mota RP. 2015. Soil quality: enzymatic activity of soil  $\beta$ -glucosidase. *Global Journal of Agricultural Research and Reviews* **3** (2): 146-150.

Amaravathi G, Reddy Mallikarjuna R. 2015. Environmental factors affecting vermicomposting of municipal solid waste. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* **5** (3): 81-93.

Amuah EYY, Fei-Baffoe B, Sackey LNA, Douth NB, Kazapoe RW. 2022. A review of the principles of composting: understanding the processes, methods, merits, and demerits. *Organic Agriculture* **12** (4): 547-562.

Ananthanarayanan Y, Thangaraj R, Ravindran B, Chang SW, Karmegam N. 2021. Centrality of cattle solid wastes in vermicomposting technology-A cleaner resource recovery and biowaste recycling option for agricultural and environmental sustainability. *Environmental Pollution* **268**: 115688.

Angst Š, Mueller CW, Cajthaml T, Angst G, Lhotáková Z, Bartuška M, Špaldoňová A, Frouz J. 2017. Stabilization of soil organic matter by earthworms is connected with physical protection rather than with chemical changes of organic matter. *Geoderma* **289**: 29-35.

Ansari AA, Ismail SA. 2012. Chapter 5 – Earthworms and vermiculture biotechnology. Pages 87–96 in Kumar S, Bharti A, editors. *Management of Organic Waste*. InTech, Rijeka.

Arancon N, van Cleave J, Hamasaki R, Nagata K, Felts J. 2020. The influence of vermicompost water extracts on growth of plants propagated by cutting. *Journal of Plant Nutrition* **43** (2): 176-185.

Arancon NQ, Edwards CA, Dick R, Dick L. 2007. Vermicompost tea production and plant growth impacts. *Biocycle* **48** (11): 51-52.

Ashekuzzman SM, Forrestal P, Richards K, Fenton O. 2019. Dairy industry derived wastewater treatment sludge: Generation, type and characterization of nutrients and metals for agricultural reuse. *Journal of Cleaner Production* **230**: 1266-1275.

Awasthi SK, Kumar M, Sarsaiya S, Ahluwalia V, Chen H, Kaur G, Sirohi R, Sindhu R, Binod P, Pandey A, Rathour R, Kumar S, Singh L, Zhang Z, Taherzadeh MJ, Awasthi MK. 2022. Multi-criteria research lines on livestock manure biorefinery development towards a circular economy: From the perspective of a life cycle assessment and business models strategies. *Journal of Cleaner Production* **341**: 130862.

Baldrian P. 2009. Microbial enzyme-catalyzed processes in soils and their analysis. *Plant, Soil and Environmental* **55** (9): 370-378.

Benitez E, Sainz H, Nogales R. 2005. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresource Technology* **96** (7): 785-790.

Bhatia A, Madan S, Sahoo J, Ali M, Pathania R, Kazmi AA. 2013. Diversity of bacterial isolates during full scale rotary drum composting. *Waste Management* **33** (7): 1595-1601.

Bidabadi SS. 2018. Waste management using vermicompost derived liquids in sustainable horticulture. *Trends in Horticulture* **1**: 175.

Blouin M, Hodson ME, Delgado EA, Baker G, Brussaard L, Butt KR, Dai J, Dendooven L, Peres G, Tondoh JE, Cluzeau D, Brun JJ. 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science* **64** (2): 161-182.

Bossuyt H, Six J, Hendrix PF. 2005. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts. *Soil Biology & Biochemistry* **37**: 251-258.

Brown GG, Doube BM. 2004. Chapter 12: Functional Interactions between Earthworms, Microorganisms, Organic Matter, and Plants. Pages 213-240 in Edwards CA, editor. CRC Press, Boca Raton.

Brown GG, Feller CH, Blanchart E, Deleporte P, Chernyanskii SS. 2003. With Darwin, earthworms turn intelligent and become human friends. *Pedobiologia* **47** (5-6): 924-933.

Cabaces DC, Landicho JA, Mauro AP, Medrano MAC. 2015. Development of a vermi tea brewing machine. *Asia Pacific Journal of Multidisciplinary Research* **3** (4): 52-56.

Cai L, Gong X, Sun X, Li S, Yu X. 2018. Comparison of chemical and microbiological changes during the aerobic composting and vermicomposting of green waste. *PLoS ONE* **13** (11): e0207494.

Canellas LP, Olivares FL, Aquiar NO, Jones DL, Nebbioso A, Mazzei P, Piccolo A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae* **196**: 15-27.

Carlos GG, Dendooven L, Antonio GMF. 2008. Vermicomposting leachate (worm tea) as liquid fertilizer for maize (*Zea mays* L.) forage production. *Asian Journal of Plant Sciences* **7** (4): 360-367.

Conlivignarelli MC, Canato M, Abba A, Miino MC. 2019. Biosolids: What are the different types of reuse? *Journal of Cleaner Production* **238**: 117844.

Cosín DJD, Novo M, Fernández R. 2010. Chapter 5: Reproduction of earthworms: sexual selection and parthenogenesis. Pages 69-86 in Karaca A, editor. *Biology of Earthworms*. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, Berlin.

Český statistický úřad. 2023. Česko v roce 2022 vyprodukovalo 39 mil. tun odpadů. Český statistický úřad. Praha. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/cesko-v-roce-2022-vyprodukovalo-39-mil-tun-odpadu> (accessed January 2024).

ČSN 46 5736. 2018. Vermikomposty. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, Praha.

- D'Hose T, Molendijk L, van Vooren L, van den Berg W, Hoek H, Runia W, van Evert F, Berge H, Spiegel H, Sandén T, Grignani C, Ruyschaert G. 2018. Responses of soil biota to non-inversion tillage and organic amendments: An analysis on European multiyear field experiments. *Pedobiologia* **66**: 18-28.
- Deepthi MP, Kathireswari P, Rini J, Saminathan K, Karmegam N. 2021. Vermitranformation of monogastric *Elephas maximus* and ruminant *Bos taurus* excrements into vermicompost using *Eudrilus eugeniae*. *Bioresource Technology* **320**: 124302.
- Demetrio WC, Dionísio JA, Maceda A. 2019. Negative effects of earthworms on soil nematodes are dependent on earthworm density, ecological category and experimental conditions. *Pedobiologia – Journal of Soil Ecology* **76**: 150568
- Demirbas A, Edris G, Alalayah WM. 2017. Sludge production from municipal wastewater treatment in sewage treatment plant. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* **39** (10): 999-1006.
- Dey A, Sengupta P, Pramanik NK, Alam T. 2020. Paper and other pulp based eco-friendly moulded materials for food packaging applications: a review. *Journal of Postharvest Technology* **8** (3): 1-21.
- Dick WA, Cheng L, Wang P. 2000. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biology and Biochemistry* **32** (13): 1915-1919.
- Didone M, Saxena P, Brillhuis-Meijer E, Tosello G, Bissacco G, Mcaloon TC, Pigosso DCA, Howard TJ. 2017. Moulded pulp manufacturing: Overview and prospects for the process technology. *Packing Technology and Science* **30**: 231-249.
- Ding S, Lin X, He S. 2019. Earthworms: a source of protein. *Journal of Food Science and Engineering* **9**: 159-170.
- Dislaire C, Grohens Y, Seantier B, Muzy M. 2021. The impact of molded pulp product process on the mechanical properties of molded Bleached Chemi-ThermoMechanical Pulp. *Functional Composite Materials* **2**: 7.
- Dobrovol'skaya TG, Zvyagintsev DG, Chernov IY, Golovchenko AV, Zenova GM, Lysak LV, Manucharova NA, Marfenina OE, Polyanskaya LM, Stepanov AL, Umarov MM. 2015. The role of microorganisms in the ecological functions of soils. *Eurasian Soil Science* **48** (9): 959-967.
- Dodor DE, Tabatabai MA. 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **166** (1): 7-13.

- Domínquez J, Aira M, Crandall KA, Pérez-Losada M. 2021. Earthworms drastically change fungal and bacterial communities during vermicomposting of sewage sludge. *Scientific Reports* **11**: 15556.
- Domínquez J, Aira M, Kolbe AR, Gómez-Brandón M, Pérez-Losada M. 2019. Changes in the composition and function of bacterial communities during vermicomposting may explain beneficial properties of vermicompost. *Scientific Reports* **9**: 9657.
- Domínquez J, Edwards CA, Dominguez J. 2001. The biology and population dynamics of *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) (Oligochaeta) in cattle waste solids. *Pedobiologia* **45** (4): 341-353.
- Dominquez J, Edwards CA, Subler S. 1997. A comparison of vermicomposting and composting. *Biocycle* **4**: 57-59.
- Domínquez J, Edwards CA, Webster M. 2000. Vermicomposting of sewage sludge: Effect of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*. *Pedobiologia* **44** (1): 24-32.
- Domínquez J, Velando A, Ferreiro A. 2005. Are *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouche' (1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species? *Pedobiologia* **49** (1): 81-87.
- Domínquez J. 2004. Chapter 20: State of the art and new perspective on vermicomposting research. Pages 401-424 in Edwards CA, editor. *Earthworm Ecology*. CRC Press, Boca Raton.
- Duan C, Li J, Ma X, Chen C, Liu Y, Stavik J, Ni Y. 2015. Comparison of acid sulfite (AS)- and prehydrolysis kraft (PHK)-based dissolving pulps. *Cellulose* **22**: 4017-4026.
- Dușa ME, Vrînceanu N, Negru P, Safta E, Stan V. 2020. Improving sewage sludge compost quality by vermicomposting. *Scientific Papers* **63** (2): 267-272.
- Edwards CA, Arancon NQ, Sherman RL. 2011. *Vermiculture technology: Earthworms, organic wastes, and environment management*. CRC Press, New York.
- Enebe MC, Erasmus M. 2023. Mediators of biomass transformation – A focus on the enzyme composition of the vermicomposting process. *Environmental Challenges* **12**: 100732.
- Enowashu E, Poll C, Lamersdorf N, Kandeler E. 2009. Microbial biomass and enzyme activities under reduced nitrogen deposition on a spruce forest soil. *Applied Soil Ecology* **43** (1): 11-21.
- Er LK, Aziz NAA, Mustafa M, Ismail IS. 2021. Biocontrol Potential of Neem Leaf-Based Vermicompost as Indicated by Chitinase, Protease and  $\beta$ -1,3 – Glucanase Activity. *Sains Malaysiana* **50** (5): 1267-1275.



Evropská Rada. 1986. Směrnice Rady ze dne 12. června 1986 o ochraně životního prostředí a zejména půdy při používání kalů z čistíren odpadních vod v zemědělství. 1986. Celex 31986L0278 in Úřední věstník Evropské unie.

Fernández-Gómez MJ, Nogales R, Insam H, Romero E, Goberna M. 2010. Continuous-feeding vermicomposting as a recycling management method to revalue tomato-fruit wastes from greenhouse crops. *Waste Management* **30** (12): 2461-2468.

Food and agriculture organization (FAO). 2021. Composting process and techniques. Available from <https://www.fao.org/3/y5104e/y5104e05.htm> (accessed March 2024).

Franke-Whittle IH, Confalonieri A, Insam H, Schlegelmilch M, Körner I. 2014. Changes in the microbial communities during co-composting of digestates. *Waste Management* **34** (3): 632-641.

Frederickson J. 2002. Part 1 - technical evaluation. Pages 3-65 in Frederickson J, Smith SR, editors. *Vermicomposting Trial at the Worm Research Centre. Integrated Waste Systems*, Open university.

Gajalakshmi S, Abbasi SA. 2004. Earthworms and vermicomposting. *Indian Journal of Biotechnology* **3**: 486-494.

Garg VK, Gupta R. 2011. Effect of temperature variations on vermicomposting of household solid waste and fecundity of *Eisenia fetida*. *Bioremediation Journal* **15** (3): 165-172.

Gavrilov MM, Pimenov AA, Krasnikov PE. 2017. Selection of the optimal and relevant method for the treatment of sewage sludge for agriculture. *Environmental Management* **5**: 63-58.

Ghahdarijani ARJ, Hoodaji M, Tahmourespour A. 2022. Vermicomposting of sewage sludge with organic bulking materials to improve its properties. *Environmental Monitoring and Assessment* **194** (8): 555.

Gil MV, Carballo MT, Calvo LF. 2008. Fertilization of maize with compost from cattle manure supplemented with additional mineral nutrients. *Waste Management* **28** (8): 1432-1440.

Gock MA, Hocking AD, Pitt JI, Polous PG. 2003. Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *International Journal of Food Microbiology* **81** (1): 11-19.

Gómez-Brandó M, Aira M, Santana N, Pérez-Losada M, Domínguez J. 2020. Temporal Dynamics of Bacterial Communities in a Pilot-Scale Vermireactor Fed with Distilled Grape Marc. *Microorganisms* **8** (5): 642.

Gómez-Brandó M, Domínguez J. 2014. Recycling of solid organic wastes through vermicomposting: microbial community changes throughout the process and use of vermicompost as a soil amendment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **44** (12): 1289-1312.

Gopal M, Gupta A. 2019. A simple push–pull strategy to harvest earthworms from coconut leaf vermicompost produced in tanks. *Current Science* **117** (1): 138-144.

Grdiša M, Grdiš K, Grdiša MD. 2013. Earthworms – role in soil fertility to the use in medicine and as a food. *Invertebrate Survival Journal* **10** (1): 38-45.

Gunadi B, Blount CH, Edwards A. 2002. The growth and fecundity of *Eisenia fetida* (Savigny) in cattle solids pre-composted for different periods. *Pedobiologia* **46**: 15-23.

Gunjal AB, Waghmode MS, Patil NN, Nawani NN. 2019. Chapter 9 – Significance of soil enzymes in agriculture. Pages 159-168 in Bhatt P, editor. *Smart Bioremediation Technologies: Microbial Enzymes*. Academic press, Dehradun.

Gupta R, Garg VK. 2008. Stabilization of primary sewage sludge during vermicomposting. *Journal of Hazardous Materials* **153** (3): 1023-1030.

Gutiérrez-Miceli FA, García-Gómez RC, Oliva-Llaven MA, Montes-Molina JA, Dendooven L. 2014. Vermicomposting leachate as liquid fertilizer for the cultivation of sugarcane (*Saccharum* sp.). *Journal of Plant Nutrition* **40** (1): 40-49.

Hanč A, Dume B, Hřebečková T. 2022. Differences of enzymatic activity during composting and vermicomposting of sewage sludge mixed with straw pellets. *Frontiers in Microbiology* **12**: 801107.

Hanč A, Hřebečková T, Grasserová A, Cajthaml T. 2021. Conversion of spent coffee grounds into vermicompost. *Bioresource Technology* **341**: 125925.

Hanč A, Plíva P. 2013. *Vermikompostování bioodpadů (Certifikovaná metodika)*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Haque MM, Biswas JC. 2021. Emission factors and global warming potential as influenced by fertilizer management for the cultivation of rice under varied growing seasons. *Environmental Research* **197**: 111156.

He Y, Inamori Y, Mizuochi M, Kong H, Iwami N, Sun T. 2000. Measurements of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> from the aerated composting of food waste. *Science of The Total Environment* **254** (1): 65-74.

Hlavatá M. 2004. *Odpadové hospodářství*. VŠB – Technická univerzita, Ostrava.

- Horáková D, Němec M. 2003. Laboratorní cvičení z fyziologie bakterií. Masarykova univerzita, Brno.
- Hosseinpour R, Fatehi P, Latibari AJ, Ni Y, Sepiddehdam SJ. 2010. Canola straw chemimechanical pulping for pulp and paper production. *Bioresource Technology* **101** (11): 4193-4197.
- Hřebečková T, Wiesnerová L, Hanč A. 2019. Changes of enzymatic activity during a large-scale vermicomposting process with continuous feeding. *Journal of Cleaner Production* **239**: 118157
- Huang K, Li F, Wei Y, Fu X, Chen X. 2014. Effects of earthworms on physicochemical properties and microbial profiles during vermicomposting of fresh fruit and vegetable wastes. *Bioresource Technology* **170**: 45-52.
- Huang K, Zhang Y, Xu J, Guan M, Xia H. 2022. Feasibility of vermicomposting combined with room drying for enhancing the stabilization efficiency of dewatered sludge. *Waste Management* **143**: 116-124.
- Hubbe MA, Venditti RA, Rojas OJ. 2007. What happens to cellulosic fibers during papermaking and recycling? A review. *BioResources* **2**(4): 739-788.
- Chen L, de Haro MM, Moore AD, Falen C. 2011. The composting process. *Dairy Compost Production and Use in Idaho* **2**: 512-532.
- Chitrapriya K, Asokan A, Nagarajan R. 2013. Estimating the Level of Phosphate Solubilising Bacteria and Azotobacter in the Vermicompost of *Eudrilus Eugeniae* and *Perionyx Excavatus* with Various Combinations of Cow – Dung and Saw-Dust. *International Journal of Scientific and Research Publications* **3** (10): 1-6.
- Cholenská M. 2021. Vermikompostér [BSc. Thesis]. Fakulta architektury – České vysoké učení technické, Praha.
- Chowdhury AKMMB, Konstantinou F, Damati A, Akratos CS, Vlastos D, Tekerlekopoulou AG, Vayenas DV. 2015. Is physicochemical evaluation enough to characterize olive mill waste compost as soil amendment? The case of genotoxicity and cytotoxicity evaluation. *Journal of Cleaner Production* **93**: 94-102.
- Chowdhury MdA, de Neergaard A, Jensen LS. 2014. Composting of solids separated from anaerobically digested animal manure: Effect of different bulking agents and mixing ratios on emissions of greenhouse gases and ammonia. *Biosystems Engineering* **124**: 63-77.

International union of biochemistry and molecular biology. 1992. Enzyme Nomenclature. Nomenclature Communittee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB). Available from <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/> (accessed March 2024).

Jayasinghe BATD, Parkison D. 2009. Earthworms as the vectors of actinomycetes antagonistic to litter decomposer fungi. *Applied Soil Ecology* **43**: 1-10.

Kai M, Takazumi K, Adachi H, Wasaki J, Shinano T, Osaki M. 2002. Cloning and characterization of four phosphate transporter cdnas in tobacco. *Plant Science* **163** (4): 837-846.

Kalina M. 2004. *Kompostování a péče o půdu*. Grada Publishing, Praha.

Karmegan N, Vijayan P, Prakash M, Paul JAJ. 2019. Vermicomposting of paper industry sludge with cowdung and green manure plants using *Eisenia fetida*: A viable option for cleaner and enriched vermicompost production. *Journal of Cleaner Production* **228**: 718-728.

Kaushal BR, Bora S, Kandpal B. 1999. Growth and cocoon production by the earthworm *Metaphire houletti* (Oligochaeta) in different food sources. *Biology and Fertily Soils* **29**: 394-400.

Kholostov G, Sazanova E, Popov A, Ryumin A, Yakkonen K, Vishnyakov A. 2022. Sewage sludge as an object of vermicomposting. *Bioresource Technology Reports* **20**: 101281.

Lancinger V. 2023. *Vermikompostování čistírenského kalu a odpadního papíru [MSc. Thesis]*. Česká zemědělská univerzita, Praha.

Latha A, Arivukarasi MC, Keerthana CM, Subashri R, Priya VV. 2018. Paper and pulp industry manufacturing and treatment processes-a review. *International Journal of Engineering Research & Technology* **6** (2): IJERTCON011.

Lemtiri A, Colinet G, Alabi T, Cluzeau D, Zirbes L, Haubruge É, Francis F. 2014. Impacts of earthworms on soil components and dynamics: A review. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* **18**(1): 121-133.

Li B, Li HM, Zha QQ, Bandekar R, Alasaggaf A, Ni YH. 2011. Review: effects of wood quality and refining process on TMP pulp and paper quality. *BioResources* **6** (3): 3569-3584.

Lin CH, Cheruiyot NK, Hoang HG, Le TH, Tran HT, Bui XT. 2021. Benzophenone biodegradation and characterization of malodorous gas emissions during co-composting of food waste with sawdust and mature compost. *Environmental Technology and Innovation* **21**: 101351.

Lin J, Wang Y, Wang W, Li X, Fang S, Chen C, Zheng H. 2018. Seismic remote sensing of super typhoon lupit (2009) with seismological array observation in NE China. *Remote Sensing* **10** (2): 235.

- Lin J, Zhao S, Yuan Q. 2021. A novel technology for separating live earthworm from vermicompost: Experiment, mechanism analysis and simulation. *Waste Management* **131**: 50-60.
- Lin L, Xu F, Ge X, Li Y. 2018. Improving the sustainability of organic waste management practices in the food-energy-water nexus: A comparative review of anaerobic digestion and composting. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **89**: 151-167.
- Liu C, Luan P, Li Q, Cheng Z, Sun X, Cao D, Zhu H. 2020. Biodegradable, Hygienic, and Compostable Tableware from Hybrid Sugarcane and Bamboo Fibers as Plastic Alternative. *Matter* **3** (6): 2066-2079.
- Lores M, Gómez-Brandón M, Pérez-Díaz D, Domínquet J. 2006. Using FAME profiles for the characterization of animal wastes and vermicomposts. *Soil Biology and Biochemistry* **38** (9): 2993-2996.
- Lowe CN, Butt KR, Sherman RL. 2023. Chapter 21 – Current and potential benefits of mass earthworm culture. Pages 581–597 in Morales-Ramos JA, Rojas MG, Shapiro-Ilan DI, editors. *Mass Production of Beneficial Organisms*. Academic Press, Kidlington.
- Luth P, Robin P, Germain P, Lecomte M, Landrain B, Li Y, Cluzeau D. 2011. Earthworm effects on gaseous emissions during vermifiltration of pig fresh slurry. *Bioresource Technology* **102** (4): 3679-3686.
- Ma Q, Li Y, Xue J, Cheng D, Li Z. 2022. Effects of Turning Frequency on Ammonia Emission during the Composting of Chicken Manure and Soybean Straw. *Molecules* **27** (2): 472.
- Manara P, Zabaniotou A. 2012. Towards sewage sludge based biofuels via thermochemical conversion – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **16** (5): 1566-2582
- Meena AL, Karwal M, Dutta D, Mishra RP. 2021. Composting: Phases and Factors Responsible for Efficient and Improved Composting. *Agriculture & Food e-Newsletter* **3** (1): 85-90.
- Mehta CM, Palni U, Franke-Whittle IH, Sharma AK. 2014. Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. *Waste Management* **34** (3): 607-622.
- Merino C, Godoy R, Matus F. 2016. Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **16** (1): 14-30.
- Mertz B, Hill AD, Mulakala C, Reilly PJ. 2007. Automated docking to explore subsite binding by glycoside hydrolase family 6 cellobiohydrolases and endoglucanases. *Biopolymers* **87** (4): 249-260.

- Ministerstvo zemědělství. 2000. Vyhláška č. 474 ze dne 29. 12. 2000, o stanovení požadavků na hnojiva. Pages 7494 in Sbíрка zákonů České republiky, 2000, částka 137. Česká republika.
- Ministerstvo životního prostředí. 2020. Zákon č. 541/2020 Sb., Zákon o odpadech. Pages 6082 in Sbíрка zákonů České republiky, 2020, částka 222. Česká republika.
- Ministerstvo životního prostředí. 2021. Vyhláška č. 273 ze dne 23. 07. 2021, o podrobnostech nakládání s odpady. Pages 2826 in Sbíрка zákonů České republiky, 2021, částka 119. Česká republika.
- Mohee R, Mudhoo A. 2005. Analysis of the physical properties of an in-vessel composting matrix. *Powder Technology* **155** (1): 92-99.
- Monroy F, Aira M, Domínguez J. 2008. Changes in density of nematodes, protozoa and total coliforms after transit through the gut of four epigeic earthworms (*Oligochaeta*). *Applied Soil Ecology* **39** (2): 127-132.
- 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** (20): 5411-5416.
- Mu J, Li X, Jiao J, Ji G, Wu J, Hu F, Li H. 2017. Biocontrol potential of vermicompost through antifungal volatiles produced by indigenous bacteria. *Biological Control* **112**: 49-54.
- Nabarlatz D, Stuber F, Font J, Fortuny A, Fabregat A, Bengoa C. 2012. Extraction and purification of hydrolytic enzymes from activated sludge. *Resources, Conservation and Recycling* **59**: 9-13.
- Nannipieri P, Giagnoni L, Landi L, Renella G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. Pages 215-243 in Bunemann E, Oberson A, Frossard E, editors. *Phosphorus in Action*. Springer, Berlin.
- Ndegwa PM, Thompson SA, Das KC. 2000. Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. *Bioresource Technology* **71** (1): 5-12.
- Ndegwa PM, Thompson SA. 2000. Effects of C-to-N ratio on vermicomposting of biosolids. *Bioresource Technology* **75** (1): 7-12.
- Ndegwa PM, Thompson SA. 2001. Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresources Technology* **76** (2): 107-112.
- Nemet F, Peric K, Lončarić Z. 2021. Microbiological activities in the composting process – a review. *Columella – Journal of Agricultural and Environmental Sciences* **8** (2): 41–53.

- Nikitin DA, Semenov MV, Chernov TI, Ksenofontova NA, Zhelezova AD, Ivanova EA, Khitrov NB, Stepanov AL. 2022. Microbiological indicators of soil ecological functions: a review. *Soil Biology* **55** (2): 221-234.
- Nguyen TP, Koyama M, Nakasaki K. 2023. Effect of oxygen deficiency on organic matter decomposition during the early stage of composting. *Waste Management* **160**: 43-50.
- Nzimba S. 2020. O vermikompostování čili žížalování. *Vesmír* **99**: 368.
- Oliaei E, Lindström T, Berglund LA. 2021. Sustainable Development of Hot-Pressed All-Lignocellulose Composites—Comparing Wood Fibers and Nanofibers. *Polymers* **13** (16): 2747.
- Onwosi CHO, Igbokwe VC, Odimba JN, Eke IE, Nwankwoala MO, Iroh IN, Ezeogu LI. 2017. Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects. *Journal of Environmental Management* **190**: 140-157.
- Oshins C, Michel F, Louis P, Richard TL, Rynk R. 2022. Chapter 3 – The composting process. *The Composting Handbook* **1**: 51-101.
- Parolini M, Ganzaroli A, Bacenetti J. 2020. Earthworm as an alternative protein source in poultry and fish farming: Current applications and future perspectives. *Science of The Total Environment* **734**: 19460.
- Paul S, Balakrishnan S, Arumugaperumal A, Lathakumari S, Syamala SS, Vijayan V, Durairaj SCJ, Arunmugaswami V, Sivasubramaniam S. 2022. Importance of clitellar tissue in the regeneration ability of earthworm *Eudrilus eugeniae*. *Functional & Integrative Genomics* **22**: 565-596.
- Payne CM, Knott BC, Mayes HB, Hansson H, Himmel ME, Sandgren M, Stahlberg J, Beckham GT. 2015. Fungal cellulases. *Chemical Reviews* **115** (3): 1308-1448.
- Pepe O, Ventrino V, Blaiotta G. 2013. Dynamic of functional microbial groups during mesophilic composting of agro-industrial wastes and free-living (N<sub>2</sub>) -fixing bacteria application. *Waste Management* **33** (7): 1616-1625.
- Pérez-Losada M, Eiroa J, Mato S, Domínguez J. 2005. Phylogenetic species delimitation of the earthworms *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouche', 1972 (Oligochaeta, Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Pedobiologia* **49** (4): 317-324.
- Pietronave S, Fracchia L, Rinaldi M, Martinotti MG. 2004. Influence of biotic and abiotic factors on human pathogens in a finished compost. *Water Research* **38** (8): 1963-1970.

Piotrowska-Dlugosz A, Charzynski P. 2015. The impact of the soil sealing degree on microbial biomass, enzymatic activity, and physicochemical properties in the Ekranic Technosols of Toruń (Poland). *Journal of Soil and Sediments* **15**: 47-59.

Plíva P, Altman V, Hanč A, Hejátková K, Roy A, Souček J, Valentová L. 2016. *Kompostování a kompostárny*. Profi Press, Praha.

Plytycz B, Bigaj J, Osikowski A, Hofman S, Falniowski A, Panz T, Grzmil P, Vandembulcke F. 2018. The existence of fertile hybrids of closely related model earthworm species, *Eisenia andrei* and *E. fetida*. *PLoS ONE* **13** (1): e0191711.

Przemieniecki SW, Zapalowska A, Skwiercz A, Damszel M, Telesinski A, Sierota Z, Gorczyca A. 2021. An evaluation of selected chemical, biochemical, and biological parameters of soil enriched with vermicompost. *Environmental Science and Pollution Research* **28**: 8117-8127.

Ravindran B, Contreras-Ramos SM, Sekaran G. 2015. Changes in earthworm gut associated enzymes and microbial diversity on the treatment of fermented tannery waste using epigeic earthworm *Eudrilus eugeniae*. *Ecological Engineering* **74**: 394-401.

Ravindran B, Wong JWC, Selvam A, Sekaram G. 2016. Influence of microbial diversity and plant growth hormones in compost and vermicompost from fermented tannery waste. *Bioresource Technology* **217**: 200-204.

Reddy GK, Nagender T, Yesari PKR, Reddy BN. 2013. Vermicompost and its benefits – a review. *Environment & Ecology* **31** (4a): 1984-1987.

Repková J. 2010. *Kompostování odpadů* [BSc. Thesis]. Vysoká škola báňská – Technická univerzita, Ostrava.

Rietz DN, Haynes RJ. 2003. Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry* **35** (6): 845-854.

Richard TL, Hamelers HVMB, Veeken A, Silva T. 2002. Moisture relationships in composting processes. *Compost Science & Utilization* **10** (4): 286-302.

Rousk J, Bååth E, Brookes PC, Lauber CL, Lozupone C, Caporaso JG, Knight R, Fierer N. 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arabe soil. *The ISME Journal* **4** (10): 1340-1351.

Samal K, Mohan AR, Chaudhary N, Moulick S. 2019. Application of vermitechnology in waste management: A review on mechanism and performance. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **7**: 103392.



- Samosebou.cz. 2022. Infografika: zajímavosti o biologicky rozložitelném odpadu v datech a číslech. Samosebou.cz. Available from <https://www.samosebou.cz/2022/08/31/infografika-zajímavosti-o-biologicky-rozlozitelnem-odpadu-v-datech-a-cislech/> (accessed January 2024).
- Sandy D. 2018. Final implementation report for directive 86/278/EEC on sewage sludge: 2013-2015. European Maritime Safety Agency, Portugal.
- Sánchez OS, Ospina DA, Montoya S. 2017. Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. *Waste Management* **69**: 136-153.
- Santana NA, Jacques RJS, Antonioli ZI, Martínez-Cordeiro H, Domínquez J. 2020. Changes in the chemical and biological characteristics of grape marc vermicompost during a two-year production period. *Applied Soil Ecology* **154**: 103587.
- Scott N. 2006. Kompostování pro všechny. ZERA, Náměšť nad Oslavou.
- Seple KE, Zhou C, Rojas OJ, Nkeuwa WN, Dai C. 2022. Moulded pulp fibers for disposable food packaging: A state-of-the-art review. *Food Packaging and Shelf Life* **33**: 100908.
- Sharma B, Vaish B, Monika, Singh UK, Singh P, Singh RP. 2019. Recycling of organic wastes in agriculture: an environmental perspective. *International Journal of Environmental Research* **13**: 409-429.
- Sharma S, Pradhan K, Satya S, Vasudevan P. 2005. Potentiality of earthworms for waste management and in other uses – a review. *The Journal of American Science* **1** (1): 4-16.
- Shilev S, Naydenov M, Vancheva V, Aladjadjian A. 2007. Composting of food and agricultural wastes. *Utilization of By – Products and Treatment of Waste in the Food Industry* **3**: 283-301.
- Shrimal S, Khwairakpam M. 2010. Effect of C/N ration on vermicomposting of vegetable waste. *Dynamic Soil, Dynamic Plant* **4**: 123-126.
- Shuster WD, Subler S, McCoy EL. 2000. Foraging by deep-burrowing earthworms degrades surface soil structure of a fluvial Hapludoll in Ohio. *Soil and Tillage Research* **54** (3-4): 179-189.
- Schönholzer F, Hahn D, Zeyer J. 1999. Origins and fate of fungi and bacteria in the gut of *Lumbricus terrestris* L. studied by image analysis. *FEMS Microbiology Ecology* **28**: 235-248.
- Singh A, Karmegam N, Singh GS, Bhadauria T, Chang SW, Awasthi MK, Sudhakar S, Arunachalam KD, Biruntha M, Ravindran B. 2020. Earthworms and vermicompost: an eco-friendly approach for repaying nature's debt. *Environmental Geochemistry and Health* **42**: 1617-1642.

Singh AK, Itkor P, Lee M, Shin J, Lee YS. 2023. Promoting sustainable packaging applications in the circular economy by exploring and advancing molded pulp materials for food products: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **63** (32): 11010-11025.

Singh MK, Singh P. 2014. Chapter 1: Introduction. Pages 1-13 in Singh MK, Singh P, editors. *Handbook on Vermicomposting: Requirements, Methods, Advantage and Applications*. Academic Publishing, Hamburg.

Singh MK, Singh P. 2014. Chapter 5: Factors affecting vermicomposting process. Pages 51-54 in Singh MK, Singh P, editors. *Handbook on Vermicomposting: Requirements, Methods, Advantage and Applications*. Academic Publishing, Hamburg.

Singh R, Bhunia P, Dash RR. 2018. Understanding intricacies of clogging and its alleviation by introducing earthworms in soil biofilters. *Science of The Total Environment* **633**: 145-156.

Sinha R, Nair J, Bharambe G, Patil S, Bapat P. 2008. Vermiculture revolution: a low-cost and sustainable technology for management of municipal and industrial organic wastes (solid and liquid) by earthworms with significantly low greenhouse gas emissions. Pages 159-227 in Daven JJ, Klein RN, editors. *Progress in Waste Management Research*. Nova Science Publishers, New York.

Sinha RK, Agarwal S, Chauhan K, Chandran V, Sonil BK. 2010. Vermiculture technology: Reviving the dreams of Sir Charles Darwin for scientific use of earthworms in sustainable development programs. *Technology and Investment* **1** (3): 155-172.

Sinha RK, Agarwal S, Chauhan K, Valani D. 2010. The wonders of earthworms & its vermicompost in farm production: Charles Darwin's 'friends of farmers', with potential to replace destructive chemical fertilizers. *Agricultural Sciences* **1** (2): 76-94.

Sinha RK, Herat S. 2012. Organic farming: Producing chemical-free, nutritive and protective food for the society while also protecting the farm soil by earthworms and vermicompost—reviving the dreams of Sir Charles Darwin. *Agricultural Science Research Journal* **2** (5): 217-239.

Sinha RK, Chandran V, Soni BK, Patel U, Ghosh A. 2012. Earthworms: nature's chemical managers and detoxifying agents in the environment: an innovative study on treatment of toxic wastewaters from the petroleum industry by vermifiltration technology. *Environmentalist* **32**: 445-452.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/850 ze dne 30. května 2018, kterou se mění směrnice 1999/31/ES o skládkách odpadů. 2018. Úřední věstník Evropské unie.

Směrnice Rady 1999/31/ES ze dne 26. dubna 1999 o skládkách odpadů. 1999. Úřední věstník Evropské unie.

- Smith S, Read D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, New York.
- Sole-Mauri F, Illa J, Magrí A, Prenafeta-Boldú FX, Flotats X. 2007. An integrated biochemical and physical model for the composting process. *Bioresource Technology* **98** (17): 3278–3293.
- Srivastava V, Squartini A, Masi A, Sarkar A, Singh RP. 2021. Metabarcoding analysis of the bacterial succession during vermicomposting of municipal solid waste employing the earthworm *Eisenia fetida*. *Science of The Total Environment* **766**: 144389.
- Stoffela P. J, Kahn B. A. 2001. Compost utilization in horticultural cropping systems. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Su Y, Yang B, Liu JG, Sun B, Cao CY, Zou XJ, Lutes R, He ZB. 2018. Prospects for replacement of some plastics in packaging with lignocellulose materials: a brief review. *BioResources* **13** (2): 4550-4576.
- Sundberg C, Yu D, Franke-Whittle I, Kauppi S, Smars S, Insam H, Romantschuk M, Jonsson H. 2013. Effects of pH and microbial composition on odour in food waste composting. *Waste Management* **33** (1): 204-211.
- Suthar S. 2010, Potential of domestic biogas digester slurry in vermitechnology. *Bioresource Technology* **101** (14): 5419-5425.
- Šarapatka B, Čáp L. 2013. Uplatněná certifikovaná metodika – Enzymy, jejich význam, funkce a metody stanovení aktivity v půdě. Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Olomouc.
- Šnajdr J, Valášková V, Merhautová V, Herinková J, Cajthaml T, Baldrian P. 2008. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* **40**: 2068-2075.
- Šrut M, Menke S, Höckner M, Sommer S. Earthworms and cadmium – Heavy metal resistant gut bacteria as indicators for heavy metal pollution in soils? *Ecotoxicology and Environmental Safety* **171**: 843-853.
- Thakur A, Kumar A, Kumar CV, Kiran BS, Kumar S, Athokpam V. 2021. A review on vermicomposting: by-products and its importance. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* **22** (11&12): 156-164.
- Tiquia SM. 2002. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. *Journal of Applied Microbiology* **92** (4): 764-775.
- Tognetti C, Laos F, Mazzarino MJ, Hernández MT. 2005. Composting vs. Vermicomposting: A comparison of end product quality. *Compost Science & Utilization* **13** (1): 6-13.

- Trémier A, Teglia C, Barrington S. 2009. Effect of initial physical characteristics on sludge compost performance. *Bioresource Technology* **100** (15): 3751-3758.
- Turovskiy IS, Mathai PK. 2006. *Wastewater sludge processing*. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Tzelepis G, Karisson M. 2021. Pages 23–31 in Zaragoza Ó, Casadevall A, editors. *Encyclopedia of Mycology*. Elsevier Science publishing Co Inc, Amsterdam.
- Ukwatta A, Mohajerani A, Setunge S, Eschtiaghi N. 2015. Possible use of biosolids in fired-clay bricks. *Construction and Building Materials* **91**: 86-93.
- Utobo EB, Tewari L. 2015. Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status. *Applied Ecology and Environmental Research* **13** (1): 147-169.
- Uzarowicz L, Wolinska A, Blonska E, Szafranek-Nakonieczna A, Kuzniar A, Slodczyk Z, Kwasowski W. 2020. Technogenic soils (Technosols) developed from mine spoils containing Fe sulphides: Microbiological activity as an indicator of soil development following land reclamation. *Applied Soil Ecology* **156**: 103699.
- Van der Wurff A.W.G, Fuchs J.G, Raviv M, Termorshuizen A.J. 2016. *Handbook for Composting and Compost use in organic horticulture*. BioGreenhouse, Wageningen.
- Váňa J. 2002. Kompostování odpadů. *Biom.cz*. Available from <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/kompostovani-odpadu> (accessed March 2024).
- Veena V, Poornima P, Parvatham R, Sivapriyadharsini Kalaiselvi K. 2011. Isolation and characterization of  $\beta$  – glucosidase producing bacteria from different sources. *African Journal of Biotechnology* **10**: 14907-14912.
- Villar I, Alves D, Pérez-Díaz D, Mato S. 2016. Changes in microbial dynamics during vermicomposting of fresh and composted sewage sludge. *Waste Management* **48**: 409-417.
- Villeneuve P, Muderhwa JM, Graille J, Haas MJ. 2000. Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **9** (4-6): 113-148.
- Vukovic A, Velki M, Ečimovic S, Vukovic R, Čamagajevac IŠ, Lončarić Z. 2021. Vermicomposting – Facts, benefits and knowledge gaps. *Agronomy* **11** (10): 1952.
- Wang XC, Lu Q. 2006. Beta-glucosidase activity in paddy soils of the taihu lake region, china. *Pedosphere*. *Pedosphere* **16** (1): 118-124.
- Wickström M, Larsson R, Nygren P, Gullbo J. 2011. Aminopeptidase N (CD13) as a target for cancer chemotherapy. *Cancer Science* **102** (3): 501-508.

- Yadav A, Garg VK. 2011. Industrial wastes and sludges management by vermicomposting. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **10**: 243-276.
- Yilmaz Cincin RG, Agdag ON. 2020. Co-vermicomposting of Wastewater Treatment Plant Sludge and Yard Waste: Investigation of Operation Parameters. *Waste and Biomass Valorization* **11**: 6211-6222.
- Yin J, Xie M, Yu X, Feng H, Wang M, Zhang Y, Chen T. 2024. A review of the definition, influencing factors, and mechanisms of rapid composting of organic waste. *Environmental Pollution* **342**: 123125.
- Yusnaini S, Niswati A, Arif MA, Komalasari Y, Kaneko N. 2018. Earthworm population under different soil tillage and herbicide application at integrated field laboratory agriculture fakulty, University of Lampung. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* **215** (1): 012015.
- Zajonc I. 1992. *Chov žížal a výroba vermikompostu*. Animapress, Dunajská Streda.
- Zhang H, Li J, Zhang Y, Huang K. 2020. Quality of Vermicompost and Microbial Community Diversity Affected by the Contrasting Temperature during Vermicomposting of Dewatered Sludge. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **17** (5): 1748
- Zhang Q, Hu J, Lee DJ, Chang Y, Lee YJ. 2017. Sludge treatment: Current research trends. *Bioresource Technology* **243**: 1159-1172.
- Zhang Y, Duan C, Bokka SK, He Z, Ni Y. 2022. Molded fiber and pulp products as green and sustainable alternatives to plastics: A mini review. *Journal of Bioresources and Bioproducts* **7** (1): 14-25.
- Zhang Y, Chen L, Wu Z, Sun C. 2011. Kinetic parameters of soil  $\beta$ -glucosidase response to environmental temperature and moisture regimes. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* **35**: 1285-1291.
- Zheng MM, Wang C, Li WX, Guo L, Cai ZJ, Wang BR, Chen J, Shen RF. 2021. Changes of acid and alkaline phosphatase activities in long-term chemical fertilization are driven by the similar soil properties and associated microbial community composition in acidic soil. *European Journal of Soil Biology* **104**: 103312.
- Zoglowek M, Lubeck PS, Ahring BK, Lubeck M. 2015. Heterologous expression of cellobiohydrolases in filamentous fungi – an update on the current challenges, achievements and perspectives. *Process Biochemistry* **50** (2): 211-220.



