ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Výskyt patogenních organismů v kalech městských čistíren odpadních vod

Presence of pathogenic microorganisms in sludge from selected municipal waste water treatment plants

Bakalářská práce

Studijní program:	Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor:	Zdravotní laborant

Autor bakalářské práce:	Nikola Lisá
Vedoucí bakalářské práce:	MUDr. Emil Pavlík, CSc.

Kladno 2020

ČVUT
ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení:	**Lisá**	Jméno:	**Nikola**	Osobní číslo:	**478138**
Fakulta:	**Fakulta biomedicínského inženýrství**				
Garantující katedra:	**Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**				
Studijní program:	**Specializace ve zdravotnictví**				
Studijní obor:	**Zdravotní laborant**				

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Výskyt patogenních organismů v kalech městských čistíren odpadních vod

Název bakalářské práce anglicky:

Presence of pathogenic microorganisms in sludge from selected municipal waste water treatment plants

Pokyny pro vypracování:

Předmětem bakalářské práce bude odběr kalů na vybraných městských čistírnách odpadních vod (ČOV) a jejich následné mikrobiologické vyšetření na přítomnost patogenních mikrobů s ohledem na jejich možnou aplikaci na zemědělskou půdu. V teoretické části práce bude probrána běžná mikrobiální a patogenní flóra vyskytující se v kalech z městských ČOV. Dále budou probrány legislativní aspekty nakládání s kaly z ČOV, podmínky jejich aplikace na zemědělskou půdu a schopnost přítomných patogenních agens způsobit zdravotní obtíže pracovníkům nakládajícími s kaly. Praktická část práce se zaměří na odběry vzorků kalů z městských ČOV, jejich mikroskopické a kultivační vyšetření. Statisticky bude vyhodnoceno jejich zastoupení a budou zváženy technologické způsoby likvidace přítomných patogenů (např. biosušením, kompostováním).

Seznam doporučené literatury:

[1] TUHÁČEK, Miloš a Jitka JELÍNKOVÁ, Právo životního prostředí: praktický průvodce, ed. Právo pro každého, Praha: Grada, 2015, ISBN 978-80-247-5464-2
[2] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana, Dana VEJMELKOVÁ a Pavlína ČIHÁKOVÁ, Technická mikrobiologie a hydrobiologie, Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2017, ISBN 978-80-7080-986-0
[3] SCHINDLER, Jiří, Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů, ed. Sestra, 2. dopl. a přeprac. vyd., Praha: Grada, 2014, ISBN 978-80-247-4771-2
[4] MADSEN, Eugene L. , Environmental Microbiology: from Genomes to Biogeochemistry, ed. 2nd edition, New Jersey: J. Wiley, 2015, ISBN 978-111-8439-630

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

MUDr. Emil Pavlík, CSc.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

MUDr. Daniela Obitková, Ing. Lenka Wimmerová, MSc. PhD.

Datum zadání bakalářské práce: **23.09.2019**
Platnost zadání bakalářské práce: **20.09.2020**

prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc., MBA, dr.h.c.
podpis vedoucí(ho) katedry

prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.
podpis děkana(ky)

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Výskyt patogenních organismů v kalech městských čistíren odpadních vod vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 28.05.2020

…….

Nikola Lisá

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych ráda poděkovala vedoucímu bakalářské práce MUDr. Emilu Pavlíkovi, CSc. za jeho odborné vedení. Především za jeho cenné rady, připomínky, ochotu a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lence Wimmerové, MSc., Ph.D. za umožnění realizace praktické části na České zemědělské univerzitě a MUDr. Daniele Obitkové za pomoc při komunikaci mezi jednotlivými institucemi. V neposlední řadě děkuji Ing. Tereze Kodešové a celé katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky České zemědělské univerzity za jejich postřehy a zkušenosti při práci v laboratoři.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou nakládání s kaly z městských čistíren odpadních vod. V teoretické části je probrána běžná mikrobiální a patogenní flóra vyskytující se v kalech a schopnost přítomných patogenních mikroorganismů způsobit zdravotní obtíže. Součástí teoretické části jsou také legislativní aspekty nakládání s kaly z čistíren odpadních vod a podmínky jejich aplikace na zemědělskou půdu.

Praktická část je zaměřena na zkoumání patogenní flóry ve vzorcích čistírenských kalů a možnosti jejich znehodnocení.

Klíčová slova

Kal; čistírna odpadních vod; hygienizace; kompostování; biologické sušení.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with sludge management from municipal waste water treatment plants. In the theoretical part is discussed usual microbial and pathogenic flora from the sludge and the ability of the present pathogenic microorganisms to cause health problems. Legislative aspects of sludge management from waste water treatment plants and conditions of their application to agricultural land are in the theoretical part as well.

The practical part is focused on research of pathogenic flora in sewage sludge samples and the possibility of their degradation.

Keywords

Sludge; waste water treatment plant; hygienization; composting; biodrying.

Obsah

1 Úvod 9

2 Cíle práce 10

3 Přehled současného stavu 11

3.1 Městská čistírna odpadních vod 11

3.2 Kaly z čistíren odpadních vod 13

3.3 Běžná mikrobiální flóra v kalech z ČOV 14

3.3.1 Aerobní bakterie 14

3.3.2 Anaerobní bakterie 17

3.4 Patogenní flóra v kalech z ČOV 18

3.4.1 Termotolerantní koliformní bakterie 18

3.4.2 Salmonely 19

3.4.3 Enterokoky 21

3.5 Legislativní aspekty nakládání s kaly z ČOV 21

3.6 Podmínky aplikace kalů na zemědělskou půdu 22

3.6.1 Mikrobiologická kritéria 23

3.6.2 Další kritéria 25

3.6.3 Kritéria pro kontrolu účinnosti hygienizace 25

3.7 Hygienizace kalu 27

3.7.1 Vápno 28

3.7.2 Biologické sušení (biosušení) 29

3.7.3 Kompostování 30

4 Metodika 33

4.1 Hygienizace 33

4.2 Stanovení termotolerantních koliformních bakterií a *Escherichia coli* .34
4.3 Detekce salmonel 36
4.4 Stanovení intestinálních enterokoků 38
4.5 Další průkazy k určení patogenu 40
4.5.1 MALDI-TOF 40
4.5.2 mCOLItest 42
4.5.3 Salmonella test 43
4.6 Kultivační média 44
5 Výsledky 46
6 Diskuze 54
7 Závěr 57
8 Seznam použitých zkratek 58
9 Seznam použité literatury 59
10 Seznam použitých obrázků 66
11 Seznam použitých tabulek 67
12 Seznam příloh 68

1 ÚVOD

V dnešní době se produkuje stále více odpadu. Odpady mají vliv na životní prostředí, zejména na znečištění vody, půdy a ovzduší. To je způsobeno především špatným nakládáním s nimi, proto je důležité zaměřit se na minimalizaci odpadů a jejich možnou recyklaci. V souvislosti s tímto problémem se stále více řeší nakládání s kaly z čistíren odpadních vod. Tato bakalářská práce se zabývá výskytem patogenních mikroorganismů v kalech z čistíren odpadních vod, zkoumáním způsobů hygienizace kalů a jejich možného využití jako hnojiva na zemědělskou půdu.

Z hlediska ekologického a ekonomického je nejvýhodnější použití čistírenských kalů v zemědělství. Byla proto stanovena hypotéza, zda hygienizované kaly splňují podmínky pro využití kalů jako hnojiva na zemědělské půdě.

2 CÍLE PRÁCE

Využití kalů je limitováno přítomností patogenních mikroorganismů, které způsobují jejich hygienickou závadnost. Cílem této práce je zjistit zastoupení patogenních mikroorganismů v kalech z vybraných městských čistíren odpadních vod. V případě nálezu bude provedeno statistické vyhodnocení. Poté budou zkoumány technologické způsoby hygienizace čistírenského kalu.

Byla stanovena pracovní hypotéza:

Upravený kal splňuje podmínky pro využití kalu jako hnojiva na zemědělskou půdu.

3 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

Při čištění odpadních vod se odstraňují z vody nežádoucí látky, které jsou poté koncentrovány do kalu. Kal obsahuje též biomasu z biologického čištění, která může mít vliv na lidské zdraví a životní prostředí. [1]

Odpadová politika EU omezuje tvorbu odpadů a jejich skládkování, naopak podporuje jejich recyklaci. Ukládání kalů na skládky je nezvladatelné. Produkci kalů nelze zastavit, pouze omezit volbou správné technologie. Zvyšující se nároky na kvalitu vypouštěné vody ale neustále navyšují množství odpadních produktů a v budoucnu bude tak nutné zajistit nové postupy pro jejich snížení. [1]

3.1 Městská čistírna odpadních vod

Městská čistírna odpadních vod (ČOV) je zařízení k čištění odpadní vody z obcí a sídlišť. Nejběžnějším typem používaným v ČR je mechanicko-biologická čistírna odpadních vod. [2]

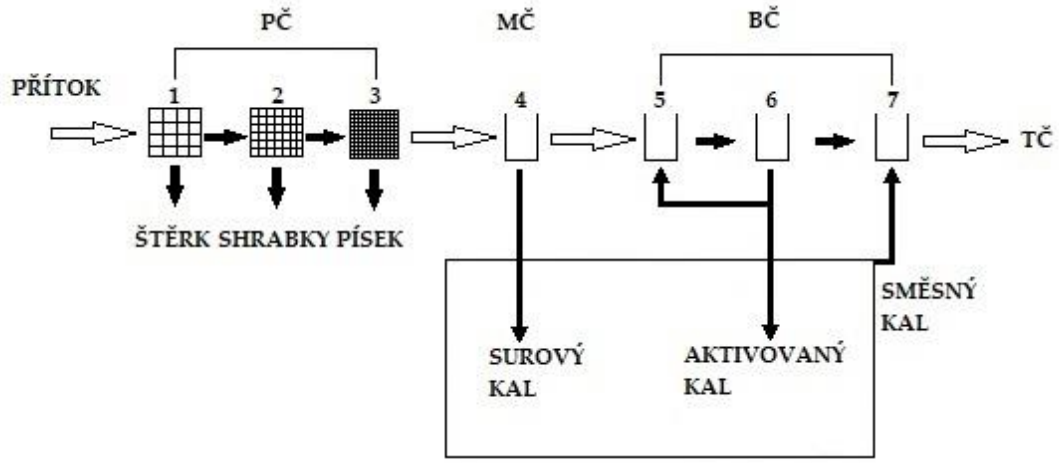
První etapou čištění je tzv. předčištění (PČ), kdy jsou ze surové vody odstraněny hrubé plovoucí nečistoty, které by mohly bránit v dalších procesech čištění. Tento úsek je také někdy nazýván ochrannou částí čistírny, jelikož zamezuje poškození mechanismů působících v dalších fázích čištění. Součástí předčištění je lapák štěrku (1), česle (2) a lapák písku (3), někdy v kombinaci s lapákem tuků. Po předčištění následuje tzv. mechanické čištění (MČ). Zde dochází k sedimentaci většiny sedimentujících látek v usazovacích nádržích (4). Usazený materiál se nazývá surový kal nebo také primární kal. [2]

Další fází je tzv. biologické čištění (BČ). To zahrnuje aerobní biologické čištění, které probíhá za přístupu kyslíku a je uskutečňováno v aktivačních nádržích (5). Při tomto stupni se využívá aerobních bakterií, které odstraňují většinu

organického znečištění přeměnou na oxid uhličitý a vodu. Voda společně s biomasou vstupuje do další sedimentační nádrže (6), kde dochází k oddělení vyčištěné vody od biomasy usazováním. Biomasou na dně nádrže je aktivovaný nebo též sekundární kal. Aktivovaný kal se buď vrací zpět do aktivační nádrže, kde je opětovně využit k aerobnímu čištění (tzv. vratný aktivovaný kal), nebo je přebytečná biomasa vedena do usazovací nádrže, kde se míchá se surovým kalem. Vzniklá směs, směsný kal, je zejména ve velkých čistírnách dále zpracováván anaerobně v tzv. vyhnívacích nádržích (7). [2]

Anaerobní biologické čištěné je soubor několika, na sebe navazujících dějů, které probíhají za nepřítomnosti kyslíku. Těchto procesů se účastní několik skupin anaerobních mikroorganismů, které jsou na sobě závislé. Produkt jedné skupiny je substrátem pro skupinu druhou. K rozkladu organických látek je zapotřebí všech skupin. Zdrojem živin je jim směsný kal. Mikroorganismy produkují různé plyny, které jsou dále přečištěny. Vzniklý bioplyn je využit pro ohřev vyhnívacích nádrží nebo na výrobu energie. Zbylý kal, vyhnilý, či anaerobně stabilizovaný, je buď zužitkován jako hnojivo, nebo je skládkován, případně spalován. [2]

Mechanicko-biologicky vyčištěná odpadní voda se podrobuje dalšímu, tzv. terciárnímu čištění (TČ). Terciární čištění je jakékoliv zpracování odtoků z čistírny, při kterém dochází ke snížení zbylého chemického a mikrobiologického znečištění. [2]



Obrázek 1: Schéma čistírny odpadních vod [autor]

3.2 Kaly z čistíren odpadních vod

Čistírenské kaly jsou směsí pevných a koloidních látek, které pocházejí z odpadních vod nebo se do kalů dostávají při jejich čištění. K čištění odpadních vod se využívají fyzikální, chemické, fyzikálně-chemické a biologické procesy. Nečistoty jsou redukovány nebo se kumulují v kalech. Kaly zastupují přibližně 1–2 % objemu čištěných vod s 50–80 % původního znečištění. Koncentrace kalů se vyjadřuje jako obsah sušiny kalu (v g/l nebo v %). Složení sušiny kalu je závislé hlavně na druhu odpadní vody a na metodách čištění. [1] V kalech jsou nejvíce přítomny těžké kovy, patogenní mikroorganismy a těžko rozložitelné organické sloučeniny. [3]

Kaly je možné díky značnému obsahu živin, zejména dusíku a fosforu, ale i organické hmoty, využít pro vyčerpanou půdu. Proto je především vhodné použití kalů jako hnojiva. [3] Kvůli obsahu patogenů, je však zapotřebí kaly upravit. [1]

3.3 Běžná mikrobiální flóra v kalech z ČOV

V aktivovaném kalu jsou přítomny bakterie jako tzv. zooglea (shluk bakterií spojených slizovitou hmotou). Z bakterií jsou nejvíce zastoupeny rody *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Azotobacter*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium* aj. Vedle různých druhů bakterií se vyskytují v aktivovaném kalu rovněž houby, plísně a kvasinky. Obvykle bývají přítomny i nitrifikační bakterie rodu *Nitrosomonas* a *Nitrobacter*. Kal také obsahuje různorodé vláknité mikroorganismy. Pokud tyto organismy z jakýchkoliv příčin v aktivovaném kalu převládají, způsobují významné technologické potíže jako jsou nedostatečné sedimentační a zahušťovací vlastnosti kalu. [4]

Z vyšších organismů jsou pravidelnou součástí aktivovaného kalu různá protozoa, vířníci, hlístice a další. Z prvoků se nejčastěji vyskytují *Peritricha*. Prvoci se mnohdy využívají jako indikátorové organismy pro posouzení stavu aktivovaného kalu. Výskyt prvoků v aktivovaném kalu je důsledkem obsahu pro ně bohaté potravy. [4]

3.3.1 Aerobní bakterie

Rod *Pseudomonas*

Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou striktně aerobní, nefermentující, nesporulující gramnegativní tyčinky, pohyblivé pomocí polárních bičíků. Jsou kultivačně nenáročné a dobře rostou na běžných půdách, pro některé druhy je charakteristická produkce barevných pigmentů a páchnoucích (vonících) těkavých metabolitů. Pseudomonády se běžně vyskytují v přírodě, ve vodách, v půdě, na rostlinách, často též na lidské kůži, ve stolici i v horních cestách dýchacích. Dobře přežívají též ve výlevkách, v úklidových pomůckách,

na nábytku, ale i v respirátorech a dalších zařízeních. Patří mezi důležité původce nozokomiálních nákaz. [5]

Rod *Flavobacterium*

Do rodu *Flavobacterium* patří gramnegativní aerobní nepohyblivé tyčinky, které jsou velmi rozšířené v přírodě, na syrovém mase, v mléce a jiných potravinách, i v klinickém materiálu. Běžně se vyskytují ve vzduchu. Kolonie jsou světle žlutohnědé až jasně žluté, některé druhy barvivo neprodukují. [6]

Rod *Azotobacter*

Rod *Azotobacter* tvoří gramnegativní aerobní bakterie tyčinkovitého, někdy až kulovitého, trojúhelníkovitého nebo nepravidelného tvaru, které jsou často obaleny slizovitými pouzdry. Vyskytují se v půdě, ve vodě, na listí apod. Mají velký význam pro úrodnost půdy, jelikož jsou schopné využívat vzdušný dusík. Fixace dusíku není ale tak aktivní jako u hlízkových bakterií. [6]

Rod *Micrococcus*

Mikrokoky jsou grampozitivní koky uspořádané často v tetrádách nebo paketech. Vyskytují se na kůži, v dutině ústní, v potravinách, ve vodě či v prachu. Obvykle jsou nepatogenní. [7]

Rod *Bacillus*

Do rodu *Bacillus* se řadí grampozitivní, aerobní, případně fakultativně anaerobní tyčinky. Díky bičíkům umístěných po celém povrchu (peritrichálně), je většina z nich pohyblivá. Charakteristickým znakem tohoto rodu je schopnost tvořit jednu endospóru. Sporulace probíhá jedině za přítomnosti kyslíku. Většina druhů vytváří proteolytické enzymy, které štěpí peptidové vazby v želatině a

kaseinu (bílkovina obsažená v mléce) a amylolytické enzymy štěpící škrob a pektiny (podílí se na stavbě některých rostlinných pletiv). [7]

Rod *Acinetobacter*

Jedná se o gramnegativní, striktně aerobní, nefermentující nepohyblivé bakterie bez pevného zařazení. Jednotlivé druhy se od sebe obtížně odlišují. [7, 8] Jediným klasifikačním kritériem pro členění celého rodu je analýza nukleových kyselin. [7] Jsou běžně přítomné v přírodě a v nemocničním prostředí. Snadno přežívají vyschnutí a rychle nabývají rezistence vůči antibiotikům. Důležitým rezervoárem acinetobacterů je trávicí trakt pacientů dlouhodobě hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče. [8]

Rod *Mycobacterium*

Mykobakteria jsou nepohyblivé nesporulující, většinou štíhlé aerobní tyčinky, které nelze běžným způsobem obarvit dle Grama kvůli vysokému obsahu lipidů a kyseliny mykolové ve stěně. Vyznačují se velmi dlouhou generační dobou, proto spousta z nich roste pomalu. Většina mykobakterií žije v půdě a vodě, kde využívají k výživě odumřelou organickou hmotu. [7, 8]

Nitrifikační bakterie

Nitrifikační bakterie patří do skupiny chemolitotrofních bakterií, které získávají energii oxidací anorganických látek. Bakterie rodu *Nitrosomonas* oxidují amoniak na dusitany, dusitany na dusičnany bakterie rodu *Nitrobacter*. [9]

3.3.2 Anaerobní bakterie

Fermentační a hydrolytické bakterie

Fermentační a hydrolytické bakterie se účastní první fáze anaerobního čištění, tzv. hydrolýzy. Pomocí produkovaných hydrolytických enzymů rozkládají makromolekulární rozpuštěné a nerozpuštěné látky (polysacharidy, lipidy, proteiny) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě. [2, 10] Vznikající nízkomolekulární látky jsou na rozdíl od vysokomolekulárních schopny transportu dovnitř buňky. [2]

Acetogenní bakterie

Acetogenní bakterie rozkládají uvnitř buňky, během druhé fáze, tzv. acidogeneze, produkty hydrolýzy, tedy nízkomolekulární látky, na jednodušší organické látky (kyseliny, alkoholy, oxid uhličitý, vodík). [2]

Homoacetogenní bakterie

V další fázi, tzv. acetogenezi, se uplatňují homoacetogenní bakterie, které zajišťují oxidaci organických látek jako jsou organické kyseliny vyšší než octová, alkoholy nebo některé aromatické sloučeniny na vodík, oxid uhličitý a kyselinu octovou. [2]

Metanogenní bakterie

Matanogenní bakterie v poslední fázi, tzv. metanogenezi, rozkládají některé monokarbonové látky za vzniku metanu [2]. Jsou producenty tzv. bioplynu při anaerobním čištění městských odpadních vod a při vyhnívání exkrementů zvířat nebo kalů v řekách a rybnících. [6]

3.4 Patogenní flóra v kalech z ČOV

3.4.1 Termotolerantní koliformní bakterie

Termotoleratní koliformní bakterie jsou gramnegativní aerobní nebo fakultativně anaerobní tyčky netvořící spóry. Mají negativní reakci na cytochromoxidázu. [11] Stanovení se striktně provádí na selektivním kultivačním médiu m-FC agaru. [12] Nalézají se ve střevním traktu obratlovců a ve vlhkém prostředí. Mimo organismus tyto bakterie vydrží jeden až dva roky. Jejich zástupcem je *Escherichia coli*, která se používá jako indikátor fekálního znečištění. [13]

Escherichia coli

Escherichia coli je gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinkovitá pohyblivá bakterie netvořící spóry, patřící do čeledi *Enterobacteriacae*. [5, 7] Je kultivačně nenáročná, roste na široké škále půd. Je součástí normální střevní mikroflóry. Jednak produkcí tzv. kolicinů, které jsou pro některé bakterie toxické, zabraňuje uplatnění některých patogenů, jednak se účastní tvorby některých vitamínů, zejména vitamínu K. Jedná se však i o podmíněně patogenní mikroorganismus, který může způsobit závažné infekce. Pokud je kmen vybaven specifickými faktory virulence, dochází k onemocněním i ve střevě. Mimo střevo je *E. coli* takřka vždy patogenní. [14, 15, 7] Za některých okolností přijímá plazmidy, které nesou geny metabolické, geny rezistence či geny pro produkci toxinů. Kmeny vybavené dalšími faktory virulence jsou obvykle zodpovědné za průjmová onemocnění. [14, 7]

- ETEC – enterotoxická *E. coli* je původcem průjmových onemocnění cestovatelů zejména do rozvojových zemí. [7] Produkuje dva toxiny,

termolabilní (LT) a termostabilní (ST). [14] Působením toxinu dochází k nadměrnému vylučování vody. [7] Infekce probíhá bez horečky. [14]

- EPEC – enteropatogenní *E. coli* způsobuje průjmy novorozenců, často s krví. Onemocnění probíhá bez horečky. Neprodukuje toxiny. [14]
- EIEC – enteroinvazivní *E. coli* přilne na sliznici, pronikne do ní a zde se pomnoží. Onemocnění je podobné úplavici, vedoucí ke krvavým průjmům. [14, 7]
- EHEC – enterohemoragická *E. coli* vyvolává hemoragický zánět tlustého střeva, ze kterého se může vyvinout smrtelný hemoragicko-uremický syndrom (HUS). Ten je charakterizován hemolytickou anémií, sníženým počtem trombocytů v krvi a akutním selháním ledvin. Onemocnění způsobuje tzv. shiga-like toxin neboli verotoxin. [14]
- EAEC – enteroadherentní *E. coli* (enteroagregující) adheruje ke sliznici střeva. Průběh infekce je obvykle mírný. [14]
- DAEC – difuzně agregující *E. coli* [7]

3.4.2 Salmonely

Salmonella enterica je gram negativní pohyblivá tyčka s peritrichálními bičíky (umístěnými po celém povrchu buňky), nesporulující, převážně neopouzdřená patřící do čeledi *Enterobacteriacae*. [7, 16, 14] Má bezmála 2500 rozdílných sérotypů, které se rozlišují pomocí tělového O antigenu, bičíkového H antigenu, eventuelně pouzderného K antigenu. [15] Salmonely jsou kultivačně nenáročné. Jsou schopné množit se i mimo organismus živočichů, zvláště v organických látkách a v potravinách živočišného původu. [13] Rezervoárem bakterií je nejčastěji špatně tepelně upravené drůbeží maso. [16] Salmonely se mohou nalézat v trávicím traktu člověka i zvířat, zejména hlodavců a ptáků, [13] ale neřadí se mezi běžnou flóru střeva. [15] Jsou to střevní, rozdílně patogenní mikroorganismy. [15, 13] Přenáší se fekálně-orální cestou nebo kontaminovanou

potravou. Proto je v EU přísný zákaz využívat fekálie jako hnojivo pro produkci tržních potravin. [15]

Salmonella enterica subspecies enterica, sérovar Typhi

Jedním z lékařsky významných sérovarů *S. enterica* je *Salmonella* Typhi. Velké písmeno na začátku druhového označení a nepřítomnost kurzívy určuje, že se podle současné klasifikace již nejedná o samostatný druh. [7]

Salmonella Typhi je výhradně lidským patogenem. [15] Je původcem, velice nebezpečného a častokrát i smrtelného střevního onemocnění, břišního tyfu. [13] Od ostatních průjmových onemocnění způsobených salmonelami se odlišuje tím, že začíná zácpou. [15] Dalšími příznaky je silná bolest břicha, malátnost, vysoké teploty s blouzněním. Inkubační doba trvá jeden až tři týdny. [13] K hospitalizaci dochází většinou až ve druhém týdnu onemocnění kvůli zdlouhavému nástupu obtíží. Prvním impulzem pro umístění pacienta v nemocnici je schodovitě se stupňující horečka, která je charakteristická právě pro druhý týden onemocnění. Ve třetím týdnu je nahrazena horečkou kontinuální. Jedná se o septickou formu onemocnění, pro kterou je charakteristická periodicky kolísavá teplota s vysokými horečkami, bolest hlavy, spavost, tyfový jazyk, řídká zelenavá stolice, pokles teploty, a pokud nedojde k úmrtí, nakonec vyjasnění vědomí. [15] K přenosu dochází orálně-fekální cestou kontaminovanou pitnou vodou nebo jídlem. Bakterie jsou vylučovány výkaly nemocného, tudíž při nedostačujících hygienických návycích může docházet k epidemiím. [13] Kvůli těmto hrozbám se preventivně kontrolují vodní zdroje, vyšetřují se pracovníci přicházející do styku s potravinami a provádí se vakcinace živou orální vakcínou cestujících do endemických oblastí. [15]

Salmonella paratyphi

Dalším z hlediska medicíny důležitým sérovarem je *Salmonella paratyphi* vyvolávající paratyfus. Má nízkou virulenci, ale dlouhodobě přečkává v lymfatických uzlinách. Při snížené imunitě se neočekávaně projeví septickou horečkou. Nejvíce způsobuje bronchopneumonie. Jedná se podobnou, ale mírnější formu břišního tyfu. [15]

Ostatní sérotypy způsobují převážně gastroenteritidy, zřídka metastatické hnisavé formy. [15]

3.4.3 Enterokoky

Enterokoky jsou grampozitivní fakultativně anaerobní oválné až lehce protáhlé koky uspořádané ve dvojicích, drobných shlucích nebo krátkých řetízcích. Kromě *Enterococcus faecium* jsou nepohyblivé, [14, 7] na kultivační podmínky nenáročné. [14] Hydrolyzují eskulin i v přítomnosti 40 % žluči, tolerují 6,5 % NaCl a rostou v rozpětí teplot 25–45 °C. Jsou odolné vůči působení řady fyzikálních vlivů. Snesou teplotu 60 °C po dobu 30 minut nebo dokážou růst do pH 11. [7, 14] Enterokoky jsou normální flórou tlustého střeva. [14] Patří také mezi závažné podmíněné patogeny. Přenos je endogenní i exogenní, často se jedná o nozokomiální nákazu (vznikají v souvislosti s hospitalizací v nemocnici). Způsobují lokální infekce močových a žlučových cest, gynekologické záněty a pooperační komplikace. Enterokokové infekce jsou zhruba v 90 % způsobeny *E. faecalis*, v 7 % *E. faecium*. [7]

3.5 Legislativní aspekty nakládání s kaly z ČOV

Nakládání s kaly z čistíren odpadních vod legislativně upravuje zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech a o změně některých dalších zákonů (dále jen „zákon o odpadech“) a vyhláška č. 437/2016 Sb. o podmínkách použití upravených kalů

na zemědělské půdě. Od roku 2021 by měl platit novelizovaný zákon o odpadech (dále jen „nový zákon o odpadech“), který do českého právního řádu zavádí odpadovou legislativu EU. Novelizace řeší snížení množství odpadu a zvýšení jeho recyklace. [17, 18, 19, 20, 21]

Kaly z ČOV patří, dle ustanovení § 25 zákona o odpadech mezi tzv. vybrané odpady, zároveň jsou kaly, dle ustanovení § 32 zákona o odpadech, tzv. biologicky rozložitelným odpadem (BRO). [20] Také patří kaly dle vyhlášky č. 341/2008 Sb. mezi využitelné bioodpady. [22]

Podle nového zákona o odpadech bude kal, který nebyl upraven, zařazený jako nebezpečný odpad s nebezpečnou vlastností HP9 Infekční. [20]

Podle § 10 odst. 1 zákona o odpadech: *„Každý má při své činnosti nebo v rozsahu své působnosti povinnost předcházet vzniku odpadů, omezovat jejich množství a nebezpečné vlastnosti; odpady, jejichž vzniku nelze zabránit, musí být využity, případně odstraněny způsobem, který neohrožuje lidské zdraví a životní prostředí a který je v souladu s tímto zákonem a se zvláštními právními předpisy.“* [18]

3.6 Podmínky aplikace kalů na zemědělskou půdu

Podle zákona o odpadech se použití kalu chápe jako zapracování kalu do půdy. Aplikován může být pouze upravený kal, což je podle § 32 písm. b) zákona o odpadech: *„kal, který byl podroben biologické, chemické nebo tepelné úpravě, dlouhodobému skladování nebo jakémukoliv jinému vhodnému procesu tak, že se významně sníží obsah patogenních organismů v kalech, a tím zdravotní riziko spojené s jeho aplikací na základě ověření účinnosti technologie úpravy kalů v souladu s požadavky stanovenými prováděcím právním předpisem.“* [18]

Podle § 33 odst. 2 zákona o odpadech platí, že: *„Pokud provozovatel čistírny odpadních vod neprovádí úpravu kalů sám, je povinen předat kaly přímo nebo prostřednictvím dopravce odpadů provozovateli zařízení na úpravu kalů.“* [18]

Dále je v platnosti podle § 33 odst. 2 zákona o odpadech, že: *„Provozovatel čistírny odpadních vod nebo provozovatel zařízení na úpravu kalů, který provedl úpravu kalů, je povinen stanovit program použití kalů a v tomto programu doložit splnění podmínek použití kalů stanovených tímto zákonem a prováděcím právním předpisem.“* [18] Podle nového odpadového zákona bude povinnost předložit vypracovaný program použití kalů ke schválení Ústřednímu a kontrolnímu zkušebnímu ústavu zemědělskému. [20]

V § 33 odst. 1 zákona o odpadech je uvedeno: *„Právnická osoba a fyzická osoba, která užívá půdu, je povinna používat pouze upravené kaly s ohledem na nutriční potřeby rostlin a v souladu s programem použití kalů tak, aby použitím kalů nebyla zhoršena kvalita půdy a kvalita povrchových a podzemních vod.“* [18]

3.6.1 Mikrobiologická kritéria

Ve vyhlášce č. 437/2016 Sb. se hovoří o možnosti použití upravených kalů kategorie I a kategorie II na zemědělskou půdu do konce roku 2019. Od 1. 1. 2020 mělo dojít k zpřísnění mikrobiologických kritérií, kdy se měly začít používat pouze kaly kategorie I. To je posunuto vyhláškou č. 305/2019 Sb., která prodlužuje tzv. přechodné období o tři roky, tedy do roku 2022. V tomto období je stále možné používat na zemědělskou půdu kaly kategorie I a kaly kategorie II. [23, 24]

Tabulka 1: Kal kategorie I [23]

Indikátorový mikroorganismus	Jednotky	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole vstupu	Limitní hodnota (nález/KTJ)
Salmonella spp.	nález v 1 g sušiny	5	negativní
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ v 1 g sušiny	5	$<10^3$
Enterokoky	KTJ v 1 g sušiny	5	$<10^3$

Tabulka 2: Kal kategorie II [23]

Indikátorový mikroorganismus	Jednotky	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole vstupu	Limitní hodnota (nález/KTJ)
Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ v 1 g sušiny	5	10^3–10^6
Enterokoky	KTJ v 1 g sušiny	5	10^3–10^6

Mikrobiologické zkoušky jsou prováděny podle metodického návodu pro stanovení indikátorových organismů v bioodpadech, upravených bioodpadech, kalech z čistíren odpadních vod, digestátech, substrátech,

kompostech, pomocných růstových prostředcích a podobných matricích uveřejněného v Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica číslo 1/2008. [22]

3.6.2 Další kritéria

Kromě splnění požadavků na mikrobiologická kritéria lze upravené kaly na zemědělské půdě používat pouze při splnění technických podmínek a mezních hodnot koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech stanovených prováděcím právním předpisem. Při použití upravených kalů na půdě musí být dále splněny mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek v půdě a mezní hodnoty koncentrací těžkých kovů, které mohou být přidány do půdy za období 10 let. [18]

3.6.3 Kritéria pro kontrolu účinnosti hygienizace

Podle vyhlášky č. 341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady je prováděno ověření účinnosti technologie úpravy kalů na základě sledování indikátorových mikroorganismů. Limitní hodnoty jednotlivých mikroorganismů a počet zkoušených vzorků při každé kontrole jsou uvedeny v tabulce 3. [22]

Tabulka 3: Kritéria pro kontrolu účinnosti hygienizace [22]

Indikátorový mikroorganismus	Výstup	Jednotky	Počet zkoušených vzorků při každé kontrole		Limit (nález/KTJ)
Salmonella spp.	Rekultivační kompost/ rekultivační digestát	Nález v 50 g	5		negativní
Termotolerantní koliformní bakterie	Rekultivační kompost/ rekultivační digestát	KTJ v 1 gramu	5	2	$< 10^3$
				3	< 50
Enterokoky	Rekultivační kompost/ rekultivační digestát	KTJ v 1 gramu	5	2	$< 10^3$
				3	< 50

Zároveň se podle vyhlášky č. 437/2016 Sb. musí provádět ověření účinnosti technologie úpravy kalů odebráním 10 vzorků na vstupu i výstupu za období 30 dnů. Minimální doba mezi dílčími odběry vzorků na vstupu i výstupu musí být 48 hodin. Rozdíl mezi kontaminací kalu před úpravou a kontaminací kalu po úpravě musí být alespoň 10^5 KTJ na gram kalu pro mikroorganismus *Escherichia coli* nebo enterokoky. [23]

Pokud kal obsahuje před úpravou méně než 10^5 KTJ na gram kalu pro *Escherichia coli* nebo enterokoky, musí být vzorek po úpravě bez nálezu těchto mikroorganismů. [23]

Ověření účinnosti technologie se také provádí po každé změně v zařízení, která ho může ovlivnit, a po každé havárii či změně technologie. [23]

Vyhláškou č. 305/2019 Sb. došlo k odsunu termínu ověření zařízení zpracovávající kaly. Do roku 2022 je možné modernizovat stávající hygienizační zařízení na ČOV. Od 1. 1. 2023 musí mít všechny ČOV zajištěné technologie na úpravu kalů. [23, 24]

3.7 Hygienizace kalu

Použití čistírenských kalů v zemědělství se jeví z ekologické i ekonomické stránky jako nejrozumnější varianta. Aplikace kalů do půdy je ale limitována výskytem látek, které negativně působí na růst rostlin a jejich bezpečné využití. Těmito látkami jsou zejména toxické látky a patogenní mikroorganismy. Zatímco vnos toxických látek do odpadní vody lze eliminovat již v místě vzniku, vstup patogenních mikroorganismů nikoliv. Při čištění odpadních vod se koncentrují v kalech a způsobují jejich hygienickou závadnost. [25]

Před využitím kalu na zemědělské půdě, je nezbytnou součástí jejich hygienizace. Hygienizací se rozumí odstraňování či snižování množství patogenních mikroorganismů na přijatelnou hodnotu. [26] Pojem hygienizace je použit v publikacích ing. Matějů nebo prof. Dohányose. Termín je také součástí vyhlášky č. 437/2016 Sb. [23, 27, 28]

Pokud kal neobsahuje žádné další nežádoucí látky, jedná se o jediné limitující kritérium pro jeho využitelnost v zemědělství. [26]

Obecně lze k hygienizaci kalů použít všech metod, při kterých dochází k usmrcování mikroorganismů. Základní hygienizační metody lze rozdělit do tří hlavních skupin:

- chemické metody – zahrnují reakci většinou s chemickými činidly (vápno, minerální kyseliny aj.);
- fyzikální metody – zahrnují působení teploty, radiace, ultrazvuku apod.;
- biotechnologické metody – zahrnují souběžný proces stabilizace a hygienizace kalů. [25]

3.7.1 Vápno

Vápnění je dosud nejjednodušší a nejvíce vyzkoušenou metodou hygienizace kalu. [25] Záměrem stabilizace a hygienizace kalu vápnem je jeho úprava tak, aby nedošlo k překročení povolené koncentrace nežádoucích látek, především mikroorganismů. [23]

Podle formy použitého vápna se používají různá technologická řešení, s práškovým vápnem páleným nebo hašeným a s vápenným mlékem. Při úpravě kalu páleným vápnem dochází k hygienizaci kalu v důsledku spolupůsobení zvýšené teploty a hodnoty pH. Při úpravě kalu hašeným vápnem dochází k hygienizaci kalu pouze v důsledku zvýšené hodnoty pH. [25] Nejdůležitější při hygienizaci kalu vápnem je důkladné promísení kalu a vápna tak, aby byla v celém objemu koncentrace vápna stejná. [29] Pro dosažení hygienizace kalu je nutné dosáhnout pH 12 a teploty nad 55 °C u hygienizace páleným vápnem nebo dosažení pH 12 u použití hašeného vápna a udržení těchto hodnot po dobu alespoň 2 hodin. [23]

Výhodou této metody je snadné doplnění stávající linky o hygienizační zařízení, relativně nízké investiční náklady na vlastní zařízení a dochází také

ke zlepšení struktury kalu. [30, 17] Jde též o ekonomicky výhodnou metodu na menších čistírnách odpadních vod. [30]

Značnou nevýhodou tohoto procesu je však uvolňování amoniaku, jehož eliminace zvyšuje provozní náklady, které jsou využity. [30] Vzniklý kal nadto není z hlediska pH a přístupnosti organických složek pro všechny půdy přijatelný. [17]

3.7.2 Biologické sušení (biosušení)

Biosušení je proces, při kterém je využito teplo vzniklé aerobním rozkladem organické hmoty obsažené v kalu. [31, 32] Tento proces sníží množství kalu a zajistí jeho hygienizaci. Zásluhou minimálního obsahu vody, zamezí též druhotnému mikrobiologickému růstu. [17, 33]

Hlavním činidlem celého procesu je vzduch, který je vháněn do vysušovaného substrátu. Vzduch slouží jako zdroj kyslíku pro proces aerobního rozkladu, a navíc zprostředkovává transport vlhkosti. V závislosti na nastavení tohoto procesu, by měla být teplota vyšší než 70 °C. Nicméně, jestliže je teplota udržována na nižších hodnotách a provzdušňuje se více, výsledná hmotnost sušiny je větší. [31] Biosušení je vysoce dynamický proces, ve kterém hrají zásadní roli mikroorganismy. Před začátkem termofilní fáze je substrát bakteriálně rozmanitý. Během termofilní fáze je rozmanitost menší, některé mikroorganismy se stávají dominantními. Na konci procesu dochází k mírnému oživení. Pokud dochází ke správnému provzdušňování, mikroorganismy se během celého procesu pravidelně mění. [33]

Nespornou výhodou ve srovnání s tepelným sušením je, že biosušení vyžaduje obecně nižší investiční a provozní náklady, [33] nižší spotřebu energie a výrazně se snižují emise do ovzduší a spotřeba vody, [32] protože není nutný

další zdroj energie. Energie potřebná pro sušení je získána aerobním rozkladem organické hmoty obsažené v kalu. [34] Na rozdíl od procesu kompostování, které probíhá také na základě rozkladu organických látek aerobními procesy, biosušení zachovává v odpadu co nejvyšší možný podíl organické složky. Díky tomu je zachována nejvyšší možná výhřevnost produktu. [32] Konečný produkt sušení lze zužitkovat ve stavebnictví, k výrobě energie nebo v zemědělství. [17]

Mezi nevýhody patří nutnost zajistit odbyt produktů. V případě nezájmu o odbyt paliva je nutno zřídit vlastní spalovnu, čímž se zvýší investiční náročnost. Při chybném nastavení procesu se může snížit kvalita produktů. Ve srovnání s běžným spalováním odpadu je zde riziko nižší efektivity výroby tepla a elektrické energie. [32]

Sušení kalu se využívá zejména v případech, kdy kontaminace kalu nedovoluje jeho zemědělské využívání anebo v případě nadprodukce kalů ve sledované oblasti. [35]

3.7.3 Kompostování

Kompostování je aerobní biologický rozkladný proces, využívající biodegradabilních odpadů k výrobě organického hnojiva – kompostu. Při odbourávání organických látek dochází k biotermické reakci, pro kterou je charakteristická zvyšující se teplota. Během tohoto procesu, nazývaného samoohřev, se mění skladba mikroorganismů a materiál je dezinfikován. [36] Přeměnu organické hmoty na humusové složky zabezpečují převážně aerobní mikroorganismy. Základní podmínkou aerobního procesu je přívod vzduchu – kyslíku, [4] který slouží jako zdroj živin a energie pro aerobní mikroorganismy. [36]

Kaly mohou být kompostovány, jestliže obsahují dostatečné množství organické složky a vody. Aby mohl být materiál účinně využíván ke kompostování, je zároveň požadován dostatečný obsah živin, jako jsou dusík a fosfor a samozřejmě vhodné podmínky pro existenci mikroorganismů. Kaly s vysokým obsahem vody nejsou vhodné pro jejich růst. Mohou být kompostovány, pokud se použijí ve vhodné směsi s kůrou nebo s jiným porézním materiálem, který vytvoří vhodnou strukturu kompostovaného materiálu. Kal, který prošel procesem kompostování, musí být vizuálně přijatelný a bez nepříjemného zápachu. [4]

Při správné intenzitě provzdušnění, je rozkladný proces samoregulačním systémem. Intenzívní odbourávání vede ke zvýšení teploty a tím ke změně složení vlastností substrátu. Substrát, který slouží mikroorganismům jako zdroj energie, podléhá trvalým změnám a ovlivňuje nejen jejich činnost, ale také jejich složení, což se opět projeví jako tepelná reakce. Podobně jako spalování rovněž kompostování využívá oxidačních procesů, jimiž se přeměňují fermentovatelné látky odpadů. U spalování je potenciálně využitelné teplo vedlejším produktem a zbytkem je popel. U kompostování, má-li materiál dostatečné izolační schopnosti, zvyšuje se teplem uvolněným biologickou oxidací teplota až na hodnoty, při kterých mohou přežívat pouze termofilní organismy. Jestliže se teplota udržuje na požadované hladině dostatečně dlouhou dobu, patogenní mikroorganismy se ničí. Následnou mikrobiální činností se přeměňují organické zbytky na humus, který je užitečný pro zlepšování kvality půd. [36]

K hlavním výhodám kompostování kalů z čistíren odpadních vod patří především nízké náklady v porovnání se spalováním. Při kompostování se spotřebuje jen velice málo externí energie. [4] Tento důvod může být podstatným právě pro malé a střední čistírny odpadních vod a ty, které se nacházejí ve venkovských oblastech. [37] Kompostování umožňuje vrátit původní

materiály do přirozených potravních cyklů. [36] Kompost, jakožto výsledný produkt kompostování, je cenný produkt. [4] Je charakterizován významným obsahem organických látek, makro a mikroživin, díky kterým je vhodný k hnojení a rekultivaci půdy. [37] Na rozdíl od kalu se kompost může snadno skladovat, [4] nehrozí kontaminace vody či ovzduší únikem kalové vody do podloží [36, 4] a nejsou problémy se zápachem. [4] Kompostováním se rovněž značně snižuje množství odpadů (až o 30 %). [36]

Mezi nevýhody kompostování patří potřeba kalu odvodněného na 18–30 % sušiny z důvodu snadnější manipulace a kupení kompostu. Vyšší podíl odvodněného čistírenského kalu v kompostu vyžaduje přídavek dalšího materiálu (drcená stromová kůra, dřevní štěpka a drť z papíru nebo lepenky a řezanka ze slámy), který zabezpečí pórovitost čerstvého kompostu. Další nevýhodou je nutná velká plocha pro založení kompostu. [4] Protože kompostování je biologický proces, je třeba těchto cílů dosáhnout biologickými prostředky. Většina odpadů obsahuje na povrchu i uvnitř velké množství mikroorganismů. Jsou to většinou mikroorganismy cizí půdě, a proto nejsou schopny vyprodukovat žádoucí humusové látky. Je tedy třeba upravit kompostovou základnu půdní mikroflórou, tedy prakticky zeminou. [36]

4 METODIKA

Odběr byl uskutečněn ze 4 čistíren odpadních vod ve Středočeském kraji, a to z Berouna, Kladna, Kolína a Mělníka. Odebíral se surový kal do plastových kbelíků. Část byla podrobena mikrobiologické analýze, zbytek byl hygienizován a poté byla opět provedena analýza. Vzorky byly odeslány do laboratoří České zemědělské univerzity, kde probíhal vlastní rozbor a hygienizace.

Analýza se prováděla do 24 hodin od odběru. Vzorky se analyzovaly ihned, případně se uchovávaly v chladu při teplotě 4 °C ± 2 °C. Tyto podmínky bylo nutné dodržet z důvodu eliminace vlivů v důsledku biologické aktivity. [38]

Mikroorganismy byly vykultivovány, kvantifikovány a v případě nejasné identifikace byla ověřena v systému MALDI-TOF firmy Bruker na oddělení mikrobiologie a ATB centra Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze nebo na katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky České zemědělské univerzity v Praze.

4.1 Hygienizace

První metodou hygienizace bylo sušení. Kal byl sušen v sušárně DOMO DO353VD při 55 °C po dobu 48 hod. Sušení probíhalo vsádkově ve dvou skleněných mísách.

Druhou metodou bylo kompostování. Kal byl kompostován v kompostéru Oklin GG-CMO-02 při 20-70 °C po dobu 7 dnů. Kompostování probíhalo kontinuálně v nádobě kompostéru.

4.2 Stanovení termotolerantních koliformních bakterií a *Escherichia coli*

Příprava výchozí suspenze a primární kultivace

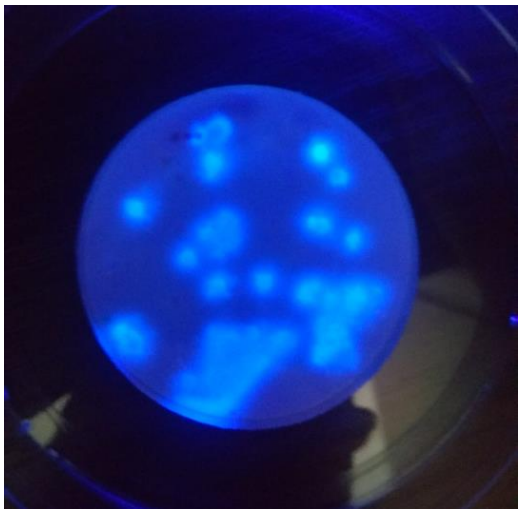
Výchozí suspenze se připraví tak, že se do 90 ml sterilního fyziologického roztoku přidá 10 g vzorku, suspenze se homogenizuje a poté se nechá 5 minut ustát. Z výchozí suspenze se připraví série desetinásobného ředění. [39]

Zředěný vzorek se sterilně filtruje přes membránový filtr o vhodné velikosti pórů (0,45 μm) k zachycení bakterií od nejvíce zředěného vzorku po nejméně zředěný vzorek. Pipetuje se 1 ml základního a prvního dekadického ředění, ev. dalších vždy dvou po sobě jdoucích dekadických ředění vzorku. Membránový filtr se poté přenese na Petriho misky s m-FC agarem. Misky se inkubují dnem vzhůru při teplotě 43 ± 1 °C po dobu 18–24 hod. [39]

Sekundární kultivace

Po stanovení počtu termotolerantních koliformních bakterií se membránový filtr s koloniemi přenese sterilní pinzetou na povrch kultivační podložky nasycené kultivačním médiem obsahujícím 4-methylumbelliferyl-β-D-glukuronid (MUG). Misky se kultivují v termostatu při teplotě 36 °C ± 2 °C po dobu 4 hod. [39]

Po skončení kultivace se z misek sejmou víčka a pozorují se v zatemněné místnosti pod UV lampou emitující záření o vlnové délce 360 nm. Spočítají se kolonie se světle modrou fluorescencí. [39] Kolonie se světle modrou fluorescencí jsou zachyceny na obrázku 2.



Obrázek 2: Fluoreskující *Escherichia coli* [foto autor]

Pro stanovení *Escherichia coli* byl použit mCOLItest řady MIKROLATEST od firmy Erba Lachema.

Vyhodnocení

Po primární kultivaci se počítají jako termotolerantní koliformní bakterie všechny charakteristické sytě modré kolonie na plotnách obsahujících méně než 150 typických kolonií o průměru 0,5 mm nebo větším. V případě, že je více než polovina povrchu plotny přerostlá, nepoužije se k vyhodnocení. [39]

Po sekundární kultivaci se počítají jako *Escherichia coli* všechny kolonie narostlé na m-FC agaru, které jsou modře zbarvené a po nasycení kultivačním médiem obsahujícím MUG vykazují světle modrou fluorescenci. [39]

Výsledek se uvede jako počet KTJ (kolonie tvořící jednotku) mikroorganismů na gram vzorku, a to jako číslo 1,0 až 9,9 násobené 10x, kde x je příslušná mocnina 10. [39]

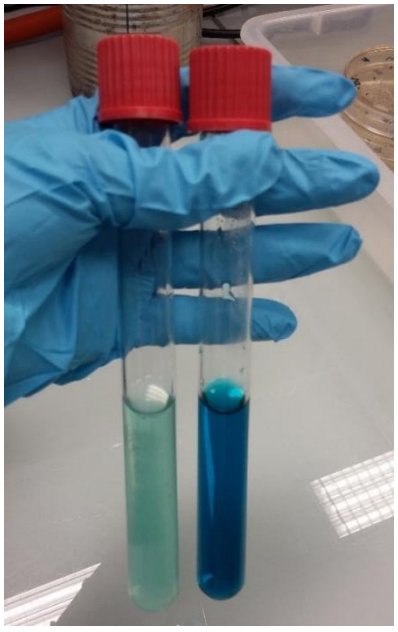
4.3 Detekce salmonel

Předmnožení v neselektivní tekuté půdě

Pro přípravu výchozí suspenze se jako ředící roztok použije půda pro neselektivní předpomnožení (tlumivá peptonová voda). Výchozí suspenze se připraví tak, že se 50 g zkušebního vzorku přidá do 450 ml peptonové vody. Výchozí suspenze se inkubuje při 36 °C ± 2 °C po dobu ne méně než 16 hod. a ne více než 20 hod. [39]

Předmnožení v selektivní tekuté půdě

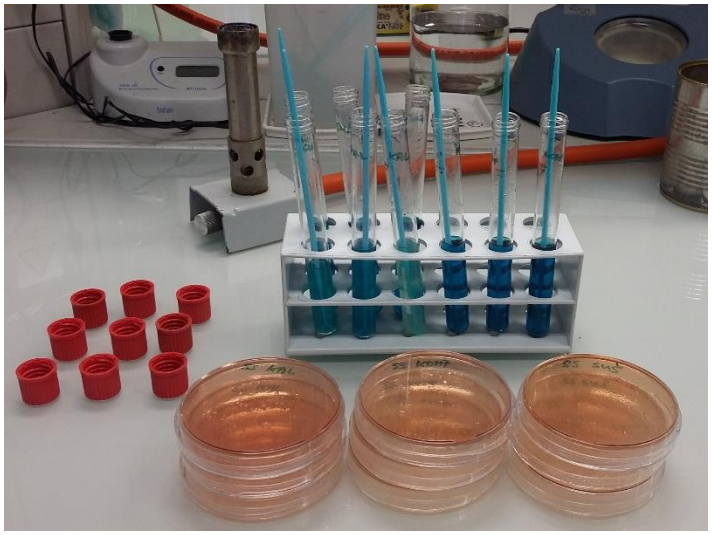
Dalším krokem je předmnožení v selektivní tekuté půdě. 0,1 ml kultury získané předmnožením v neselektivní tekuté půdě se přenese do zkumavky obsahující 10 ml půdy podle Rappaporta a Vassiliadise a inkubuje se při 41,5 ± 0,5 °C po dobu 24 hod. [39]



Obrázek 3: Půda podle Rappaporta a Vassiliadise [foto autor]

Vyočkování na selektivní pevnou půdu

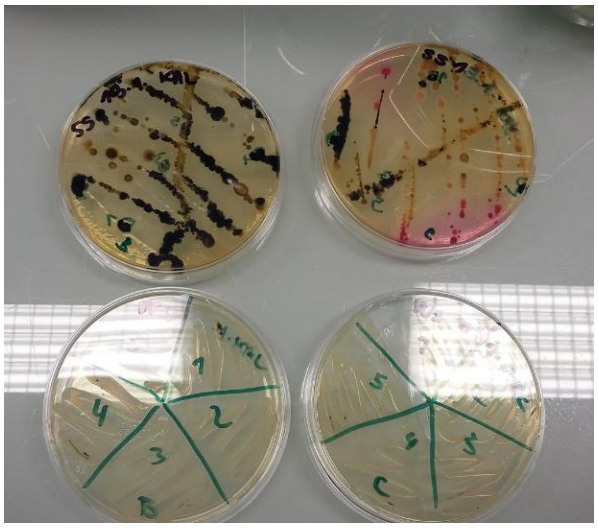
Kultura získaná předmnožením v selektivní tekuté půdě se inokuluje kličkou na povrch selektivní pevné půdy (Salmonella/Shigella agar). Čáry vedené kličkou musí být vzdáleny asi 0,5 cm, využívá se celý povrch agaru. Misky se inkubují 24 hod. při 36 °C ± 2 °C. [39, KMVD ČZU v Praze]



Obrázek 4: Přeočkování na Salmonella/Shigella agar [foto autor]

Konfirmační testy

Po inkubaci se na plotnách zjišťují typické kolonie rodu *Salmonella* spp. V případě pozitivního nálezu vyrostou červenočerné až černé kolonie. Pro konfirmaci se vybírá alespoň 5 typických kolonií, které se přeočkují na povrch živného agaru (Wilkins-Chalgren anaerobní agar). Plotny se obrátí dnem vzhůru a uloží se do termostatu na 36 °C ± 2 °C po dobu 18–24 hod. [39, KMVD ČZU v Praze]



Obrázek 5: *Salmonella* na Salmonella/Shigela agaru a Wilkins-Chalgren anaerobním agaru [foto autor]

Pro vlastní konfirmaci se použily běžně komerčně dostupné identifikační sady, které umožňující identifikaci bakterií rodu *Salmonella* spp., Salmonella test kit značky Oxoid a postupovalo se podle návodu výrobce. [39, KMVD ČZU v Praze]

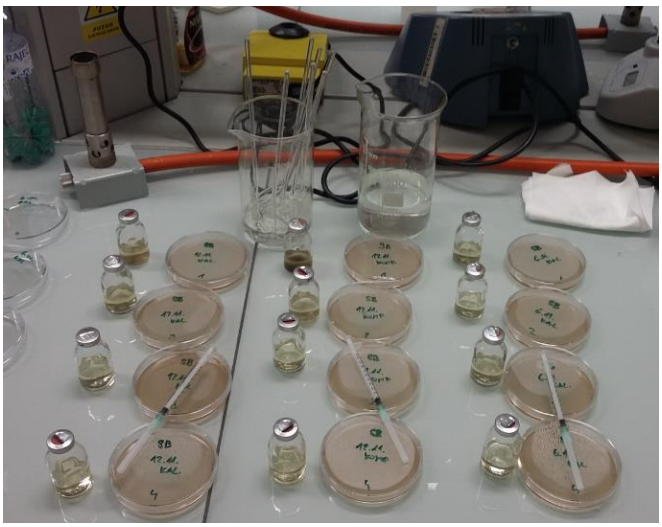
4.4 Stanovení intestinálních enterokoků

Příprava výchozí suspenze a primární kultivace

Výchozí suspenze se připraví tak, že se do 90 ml sterilního fyziologického roztoku přidá 10 g vzorku, suspenze se homogenizuje a poté se nechá 5 minut ustát. Z výchozí suspenze se připraví série desetinásobného ředění. [39]

Na Slanetze-Bartleyův agar se pipetuje 0,2 ml základního a prvního dekadického ředění, ev. dalších vždy dvou po sobě jdoucích dekadických ředění vzorku. Vzorky se rozetřou sterilní skleněnou tyčinkou a po zaschnutí při teplotě

laboratoře se umístí dnem vzhůru do termostatu s teplotou 36 °C ± 2 °C po dobu 44 hod. ± 4 hod. [39]



Obrázek 6: Inokulace na Slanetze-Bartleyův agar [foto autor]

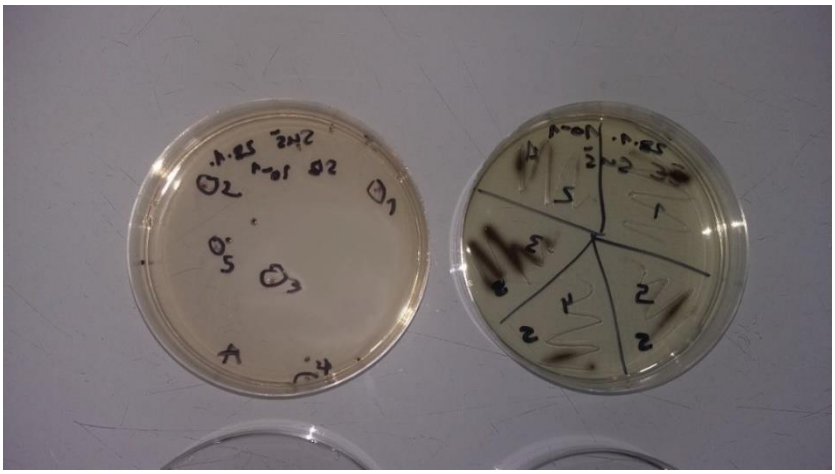
Potvrzující konfirmační test

Po kultivaci se vybere nejméně 5 typických kolonií, které se přeočkují na žluč-eskulin-azidový agar. Petriho misky se inkubují při teplotě 43 °C ± 1 °C po dobu 2 hod. [39]

Vyhodnocení

Počítají se všechny vyrostlé kolonie červeně, kaštanově nebo růžově zbarvené, a to celé, nebo i takové, které jsou zbarveny pouze ve středu a vykazují tříslově hnědé až černé zbarvení na žluč-eskulin-azidovém agaru. [39]

Výsledek se uvede jako počet KTJ (kolonie tvořící jednotku) mikroorganismů na gram vzorku, a to jako číslo 1,0 až 9,9 násobené 10x, kde x je příslušná mocnina 10. [39]



Obrázek 7: Potvrzující test na enterokoky [foto autor]

4.5 Další průkazy k určení patogenu

4.5.1 MALDI-TOF

MALDI-TOF je metoda pro rychlou a snadnou identifikaci bakterií, kvasinek a plísní na úrovni rodu, druhu i kmenu. Metoda je založená na hmotnostní spektrometrii. [40] Existují dva standardní postupy pro přípravu vzorků. [41]

Postup přímé identifikace

Kolonie mikroorganismu se přenese na určitou pozici kovového nosiče a přidá se 1 µl matrice. Směs vzorku a matrice je ozářena laserem hmotnostního spektrometru a dochází k ionizaci vzorku. Pozitivně nabité ionty jsou urychleny elektrickým polem a vstupují do vakua v trubici detektoru, kde se pohybují

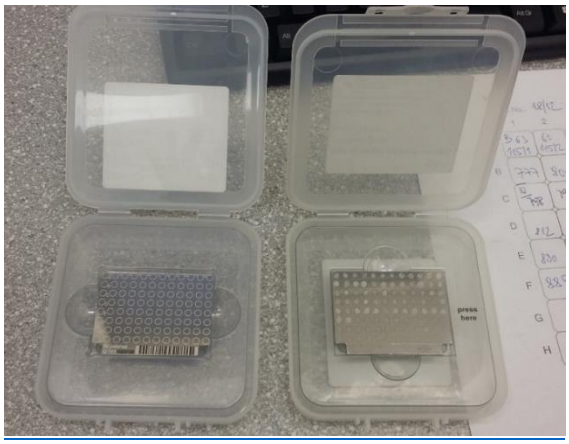
rychlostí úměrnou jejich hmotnosti a náboji. Měří se doba letu a společně s poměrem molekulové hmotnosti a náboje se získají hmotností spektra, která jsou pro mikroorganismy specifická. [42]

Alternativní extrakce pomocí etanolu a kyseliny mravenčí

Pokud selže metoda přímého přenosu, lze tuto metodu použít pro zvýšení účinnosti proteinové extrakce a zajištění kvalitních výsledků. [41]

Do Eppendorfovy zkumavky se napipetuje 900 μl 70 % etanolu. Z kultivační misky se odebere kolonie a přenese do zkumavky. Směs se důkladně promíchá na vortexu. Centrifuguje se při 14 500 ot/min po dobu 2 minut. Supernatant se slije a postup se opakuje. [41]

K peletu se přidá 10 μl 70% kyseliny mravenčí a stejné množství 100 % acetonitrilu. Směs se důkladně promíchá. Centrifuguje se při 14 500 ot/min po dobu 2 minut. Na určitou pozici nosiče se kápne 1 μl supernatantu a nechá se uschnout při laboratorní teplotě. Po zaschnutí se překryje 1 μl matrice (kyselina skořicová – kyselina alfa-cyano-4-hydroxycinnamic) a nechá se opět zaschnout. [41]



Obrázek 8: Kovový nosič [foto autor]

Obrázek 9: Přístroj MALDI-TOF [foto autor]

4.5.2 mCOLItest

Princip testu

mCOLItest je určen pro detekci znaku charakteristického pro *Escherichia coli* – aktivity β-glukuronidázy. Substrátem pro detekci aktivity β-glukuronidázy je 4-metyl-umbelliferyl-β-D-glukuronid (MUG), v přítomnosti β-glukuronidázy je

hydrolyzován na 4-metyl–umbelliferyl, který vykazuje pod zdrojem UV záření modrou fluorescenci. [39, 43]

Postup

Do prázdné Petriho misky se vloží 1 podložka mCOLItestu. Podložka se navlhčí 0,9 ml sterilního fyziologického roztoku. Pinzetou se opatrně přenese membránový filtr s narostlými koloniemi z m-FC agaru tak, aby mezi podložkou a filtrem nezůstaly vzduchové bubliny. Petriho miska se přikryje víčkem a inkubuje se v termostatu 4 hod. při teplotě 35–37 °C. Po uplynutí inkubační doby se reakce na mCOLItestu hodnotí v temnu pod zdrojem UV záření o vlnové délce cca 360 nm. Pozitivní β-glukuronidázová reakce se u příslušné kolonie projeví modrou fluorescencí. Kolonie termotolerantních koliformních bakterií vykazující pozitivní β-glukuronidázovou reakci se považují za presumptivní *Escherichia col*i. [43]

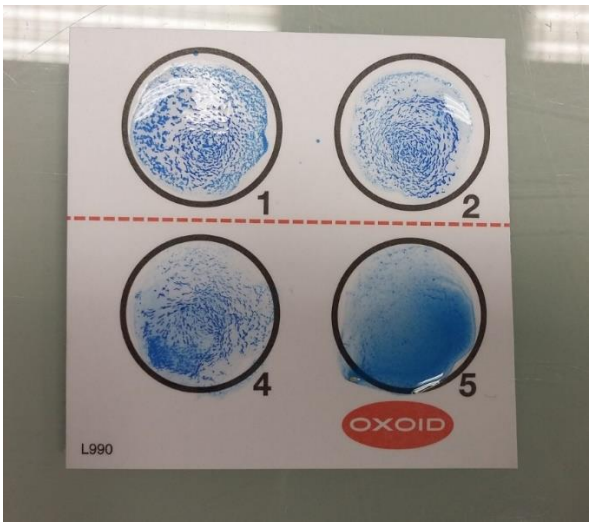
4.5.3 Salmonella test

Princip testu

Polyvalentní antiséra se připravují proti široké škále bičíkových antigenů bakterií rodu *Salmonella* a pokrývají latexové částice. Po smíchání kolonie s těmito antigeny, latexové částice rychle aglutinují za vzniku viditelných shluků. Je třeba zajistit, aby užitá antiséra byla dostačující pro detekci všech sérovarů bakterií rodu *Salmonella* spp., proto se používají antiséra připravená komerčně. Za účelem minimalizace zkřížených reakcí s jinými bakteriemi rodu *Enterobacteriaceae*, se během přípravy antiséra odstraňují protilátky proti hlavním somatickým antigenům. [39, 44]

Postup

Na reakční kartu kápneme jednu kapku antiséra. Kličkou přeneseme typickou kolonii *Salmonella* a smícháme s antisérem. Reakci vyhodnotíme do 2 minut. Použitý Salmonella test značky Oxoid detekuje většinu běžných *Salmonella* druhů, včetně *Salmonella typhimurium* a *Salmonella enteritidis*. [44]



Obrázek 10: Pozitivní latex aglutinační průkaz salmonely [foto autor]

4.6 Kultivační média

Dle účelu kultivace nebo možnosti použití se kultivační média dělí na základní (obecná), která se používají na kultivaci celé škály blíže nespecifických mikroorganismů. K pomnožení určitého druhu slouží pomnožovací média. Diferenciační média umožňují rozeznávat různé druhy na základě přídavku specifických chemických látek, reagencií nebo indikátorů hodnoty pH. Selektivní média obsahují látky brzdící růst nežádoucí mikroflóry. Elektivní média jsou

chudá na organické látky a slouží tedy k izolování pouze čisté kultury. Testovací média slouží pro testování vitamínů, aminokyselin nebo antibiotik. Konfirmační média jsou specifická média sloužící k potvrzení kolonie bakterií narostlé na selektivním médiu. [45]

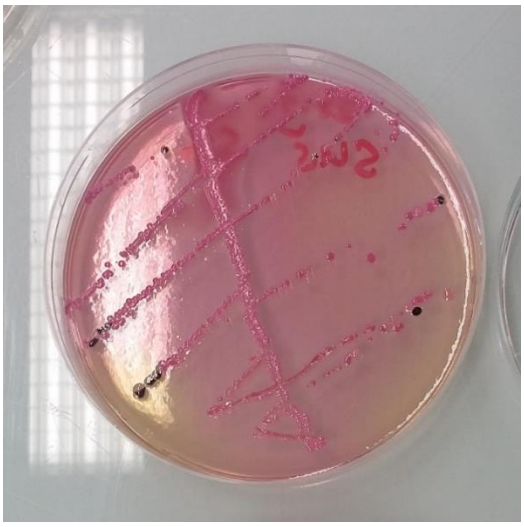
Pro rozbor byla použita dehydratovaná kultivační média značky Oxoid.

- **Slanetze-Bartleyův agar** – selektivně diagnostická půda pro grampozitivní mikroby. Používá se k izolaci enterokoků. Obsahuje azid sodný. Tato látka je v použité koncentraci pro všechny ostatní mikroby natolik toxická, že na této půdě nevyrostou. [45, 46]
- **Žluč-eskulin-azidový agar** – selektivně diagnostická půda pro grampozitivní mikroby. Používá se k izolaci enterokoků. [45, 46]
- **m-FC agar** – selektivní diferenciační půda s laktózou, která je vhodná pro koliformní, případně termotolerantní koliformní bakterie. [46]
- **Peptonová voda** – pomnožovací půda, která nemá selektivní inhibiční vliv na žádné mikroorganismy. Jedná se o 1% roztok peptonu. [46]
- **Půda podle Rappaporta a Vassiliadise** – selektivní pomnožovací tekutá půda, která podporuje množení jednoho a inhibuje množení ostatních druhů mikroorganismů. [46]
- **Salmonella/Shigella agar** – selektivně diagnostická půda určená k izolaci gramnegativních tyčinek. [46]
- **Wilkins-Chalgren anaerobní agar** – živný agar sloužící ke kultivaci širokého spektra anaerobních bakterií. [46]
- **Trypton-sojový agar**
- **Agar s kvasničným extraktem**

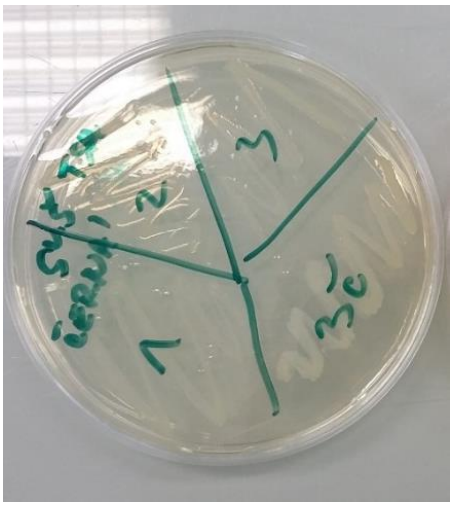
5 VÝSLEDKY

Identifikace mikroorganismů probíhala pouze u vzorků kalu po hygienizaci. Podle předpokladu byly identifikovány *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Kromě očekávaných fekálních bakterií jako jsou termotolerantní koliformní bakterie a enterokoky, byla v jednom případě v sušeném kalu nalezena *Salmonella* spp. Dále byly v sušeném kalu zachyceny: *Bacillus pumilus*, *Bacillus jeotgali*, *Klebsiella pneumoniae* a kolonie jevící se jako *Shigella*, na MALDI však identifikována jako *Escherichia coli*. V kompostovaném kalu byly nalezeny: *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus coagulans*, *Cupriavidus gilardii*, *Pseudomonas boreopolis* a *Rummeliibacillus pycnus*.

Fotografie některých bakterií nalezených v sušeném a kompostovaném kalu:

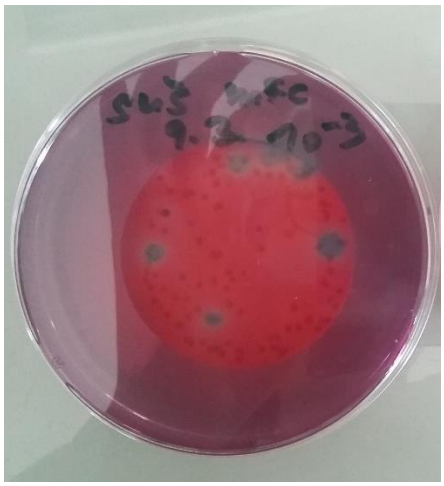


Obrázek 11: Černé kolonie *Salmonella* spp. na Salmonella/Shigella agaru [foto autor]

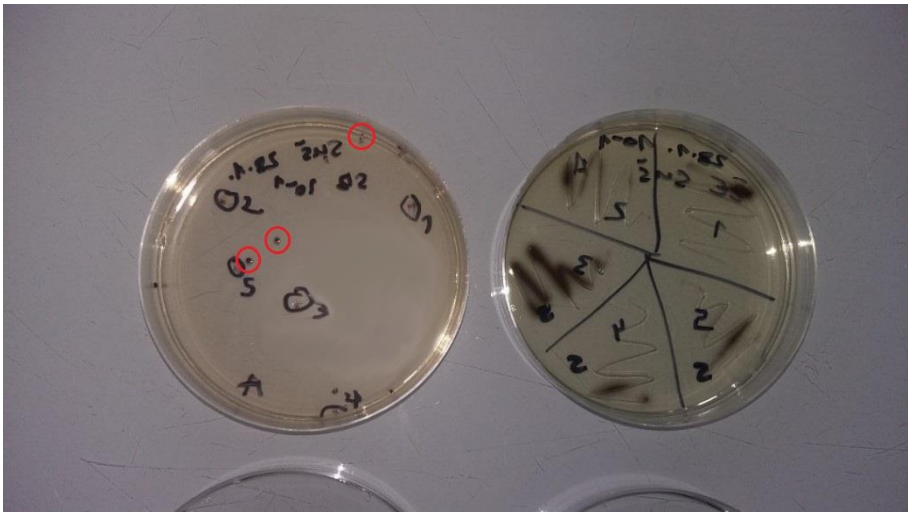


Obrázek 12: *Salmonella* spp. na Trypton-sojovém agaru [foto autor]

Obrázek 13: Růžový sektor porostlý *Salmonella* spp. a žlutý sektor porostlý *Escherichia coli* na Brilliant Green agaru [foto autor]



Obrázek 14: Modré kolonie termotolerantních koliformních bakterií na m-FC agaru [foto autor]

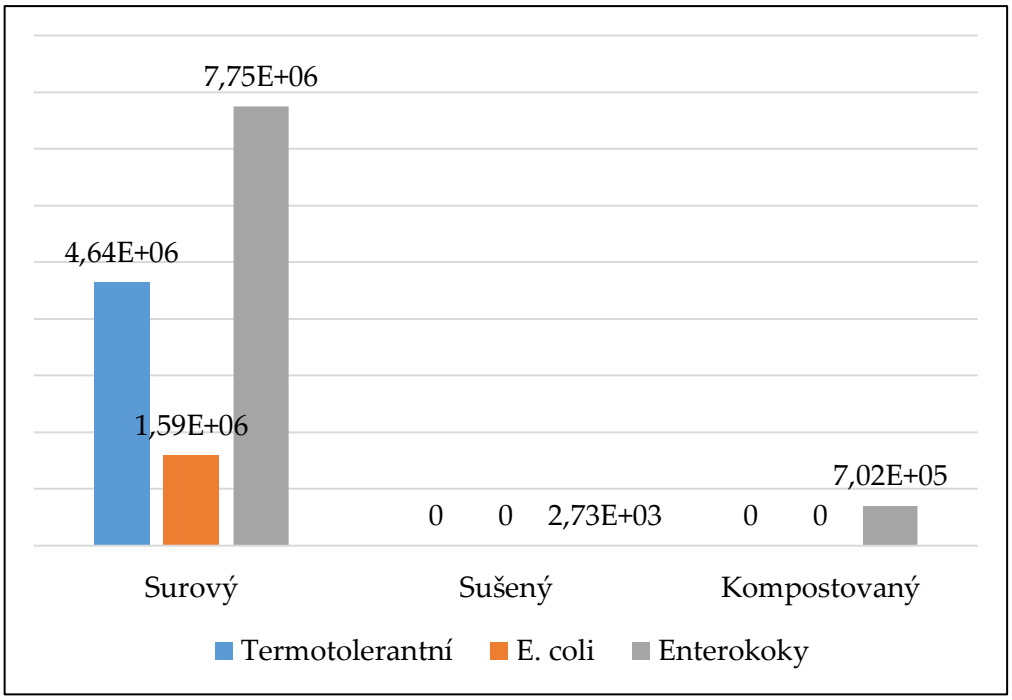


Obrázek 15: Ojedinělé hnědé kolonie enterokoků na Slanetz-Bartleyho půdě a černé zbarvení na žluč-eskulin-azidovém agaru [foto autor]

Počty mikroorganismů uvedených v tabulkách níže jsou v jednotkách KTJ/g u termotolerantních koliformních bakterií, *Escherichia coli* a intestinálních enterokoků, *Salmonella* spp. je uvedena jako pozitivní/negativní v 50 g.

Tabulka 4: Rozbor ČOV Kolín [autor]

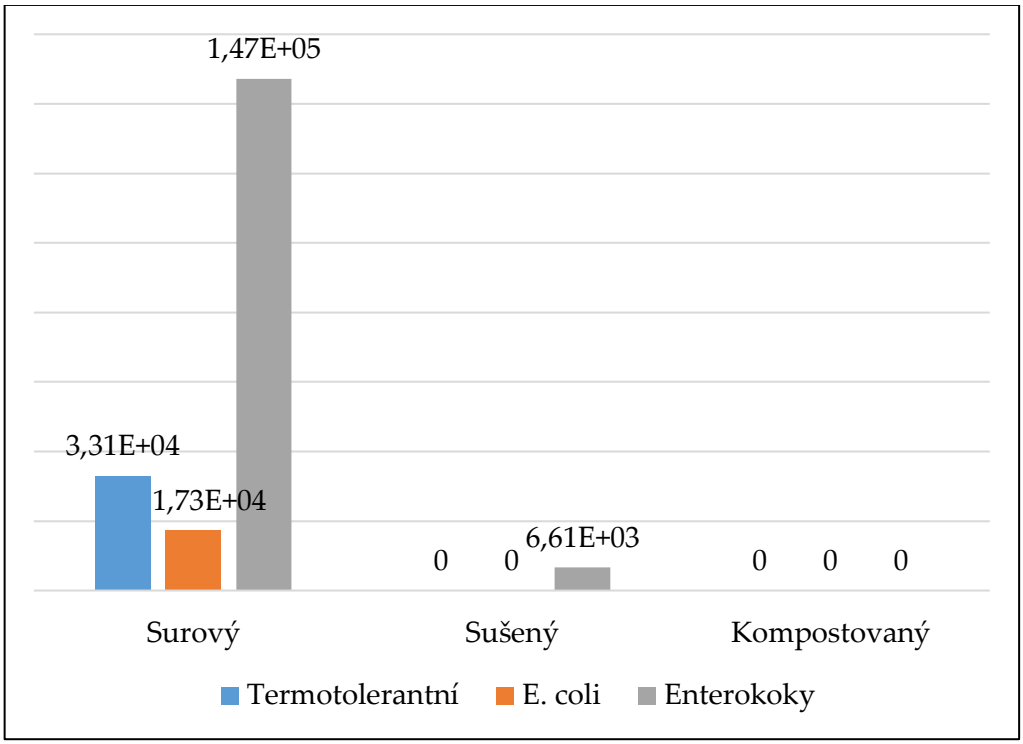
Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky	*Salmonella*
surový	4,64E+06	1,59E+06	7,75E+06	pozitivní
sušený	0	0	2,73E+03	negativní
kompostovaný	0	0	7,02E+05	negativní



Graf 1: ČOV Kolín [autor]

Tabulka 5: Rozbor ČOV Beroun [autor]

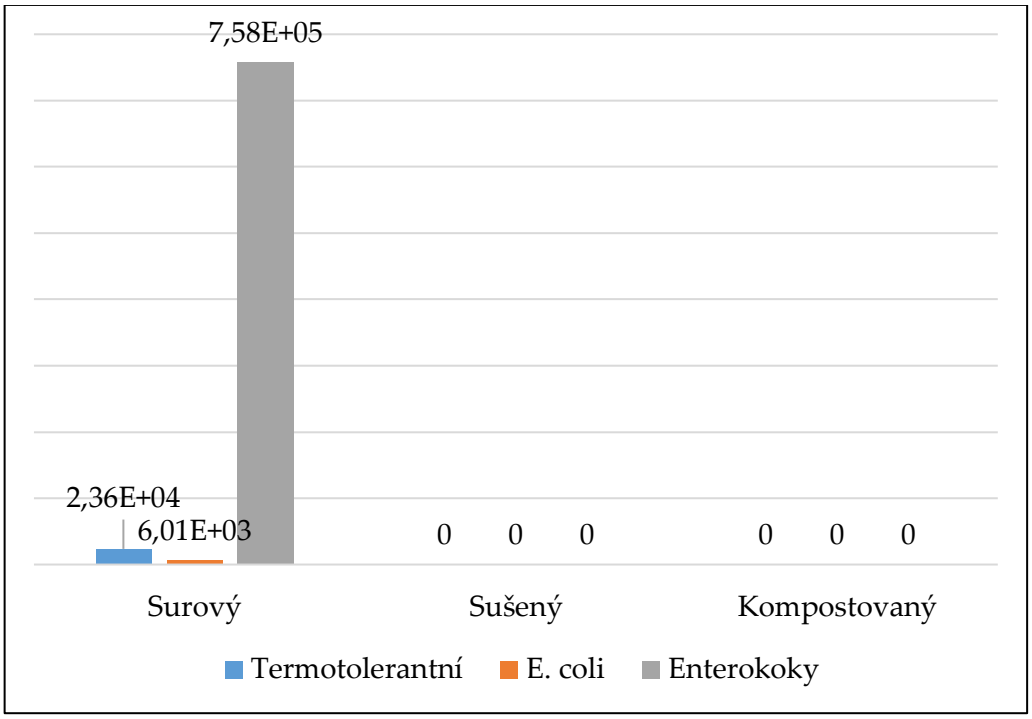
Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky	*Salmonella*
surový	3,31E+04	1,73E+04	1,73E+04	pozitivní
sušený	0	0	6,61E+03	pozitivní
kompostovaný	0	0	0	negativní



Graf 2: ČOV Beroun [autor]

Tabulka 6: Rozbor ČOV Kladno [autor]

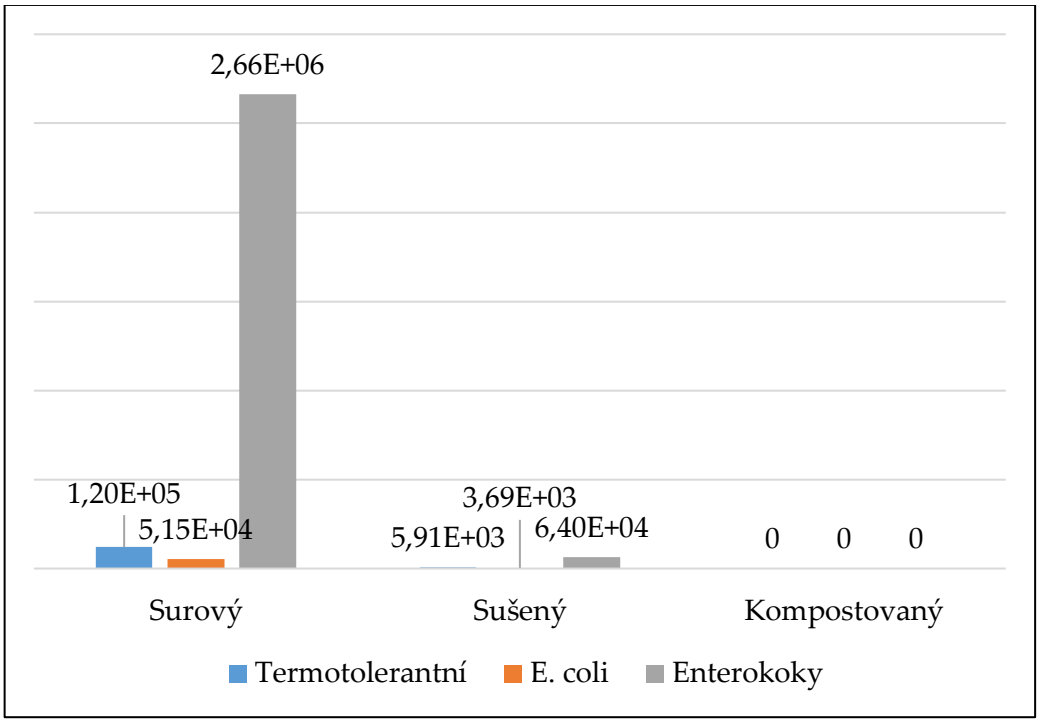
Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky	*Salmonella*
surový	2,36E+04	6,01E+03	7,58E+05	pozitivní
sušený	0	0	0	negativní
kompostovaný	0	0	0	negativní



Graf 3: ČOV Kladno [autor]

Tabulka 7: Rozbor ČOV Mělník [autor]

Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky	*Salmonella*
surový	1,20E+05	5,15E+04	2,66E+06	pozitivní
sušený	5,91E+03	3,69E+03	6,40E+04	negativní
kompostovaný	0	0	0	negativní



Graf 4: ČOV Mělník [autor]

Limitní hodnoty indikátorových mikroorganismů pro použití kalu na zemědělské půdě byly splněny. Do roku 2022 je možné používat stále kaly kategorie II, které musí splňovat podmínku pro nález termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků do 10^6 KTJ na gram kalu. Konkrétní údaje včetně splnění či nesplnění limitních hodnot od roku 2023 jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4 v přílohové části práce.

V následujících tabulkách je zachycen pokles počtu jednotlivých mikroorganismů po úpravě kalu sušením a kompostováním. Jako dostatečná účinnost technologie úpravy kalu je označen pokles alespoň o 5 řádů nebo negativní nález u kalů, které obsahovaly před úpravou nižší počet mikroorganismů, než je 10^5 KTJ v gramu. Podmínky musí být splněny u *Escherichia coli* nebo enterokoků. Nevyhovující výsledek je označen červeně.

Tabulka 8: Pokles počtu mikroorganismů ČOV Kolín [autor]

Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky
sušený	4,64E+06	1,59E+06	2,84E+03
kompostovaný	4,64E+06	1,59E+06	1,10E+01

Tabulka 9: Pokles počtu mikroorganismů ČOV Beroun [autor]

Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky
sušený	3,31E+04	1,73E+04	2,23E+01
kompostovaný	3,31E+04	1,73E+04	1,47E+05

Tabulka 10: Pokles počtu mikroorganismů ČOV Kladno [autor]

Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky
sušený	2,36E+04	6,01E+03	7,58E+05
kompostovaný	2,36E+04	6,01E+03	7,58E+05

Tabulka 11: Pokles počtu mikroorganismů ČOV Mělník [autor]

Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky
sušený	2,03E+01	1,39E+01	4,16E+01
kompostovaný	1,20E+05	5,15E+04	2,66E+06

6 DISKUZE

Z původně tří metod hygienizace kalu byly vybrány dvě metody, a to sušení a kompostování, vápnění bylo vyřazeno. Je to nejjednodušší, nejvíce vyzkoušená a relativně levná metoda hygienizace kalu. [25, 30, 17] Z výsledků analýzy kalu hygienizovaného vápněním, které jsou uvedeny v tabulce 1 v přílohové části, vyplývá, že je metoda účinná. Nebyl detekován žádný z indikátorových mikroorganismů. Nelezena byla pouze jedna kolonie narostlá na agaru s kvasničným extraktem kultivovaná při 36 °C. Přístrojem MALDI nebyla identifikována. Důvodem pro upuštění od této metody je uvolňování notného množství amoniaku, který je pro životní prostředí toxický. [30]

S odvoláním na vyhlášku č. 305/2019 Sb., která odsunula zpřísnění mikrobiologických kritérií o 3 roky, je stále možné používat na zemědělskou půdu kaly kategorie I i kaly kategorie II. Jak je uvedeno v tabulkách 1 a 2, kaly kategorie I musí splňovat mezní hodnoty indikátorových mikroorganismů, a to do 10^3 KTJ v 1 gramu sušiny pro termotolerantní koliformní bakterie a intestinální enterokoky a negativní nález *Salmonella* spp. v 1 gramu sušiny. Kaly kategorie II musí splňovat limitní hodnoty termotolerantních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků do 10^6 KTJ v 1 gramu sušiny. *Salmonella* spp. se v tomto případě neřeší. [23, 24]

Z výše uvedeného textu plyne, že do roku 2022 se mohou používat i kaly, které nebyly testovány na *Salmonella* spp. V tabulce 3 přílohy je zaznamenán 1 pozitivní záchyt *Salmonella* spp. u sušeného kalu.

Oba kaly, sušený i kompostovaný, splnily podmínky pro použití kalu na zemědělskou půdu. Tyto podmínky by ale nebyly splněny u všech vzorků, pokud by došlo ke zpřísnění mikrobiologických kritérií podle původního plánu, od 1. 1. 2020. [23] V případě sušeného kalu, byl u 1 vzorku překročen počet

intestinálních enterokoků. Jak už bylo uvedeno výše, evidován byl také 1 pozitivní nález *Salmonella* spp. Polovina vzorků, by přísnější kritéria nesplnila. V případě kompostovaného kalu, byl taktéž u 1 vzorku překročen počet intestinálních enterokoků. Přísnější mikrobiologická kritéria by nesplnila čtvrtina vzorků. Přesné údaje jsou zaznamenány v tabulkách 3 a 4 přílohy.

Podle vyhlášky č. 437/2016 Sb. je nutné provádět ověření účinnosti technologie úpravy kalů. Jako vyhovující technologie je stanovena taková metoda hygienizace kalu, která zapříčiní pokles mikroorganismu *Escherichia coli* nebo intestinálních enterokoků alespoň o 10^5 KTJ na gram kalu. Pokud kal obsahuje před úpravou méně než 10^5 KTJ na gram kalu pro *Escherichia coli* nebo intestinální enterokoky, musí být vzorek po úpravě bez nálezu těchto mikroorganismů. Vyhláškou č. 305/2019 Sb. došlo k odsunu termínu povinného ověřování účinnosti technologie úpravy kalů. Do konce roku 2022 je nutné modernizovat současná hygienizační zařízení. [23, 24]

Sušení je metoda s nižšími investičními náklady, [33] avšak vyššími provozními náklady, které jsou kompenzovány krátkou provozní dobou. Ke snížení spotřeby energie přispívá též alespoň částečné odvodnění kalu před jeho vlastní úpravou. Konečný produkt sušení lze také, kromě zemědělství, zužitkovat ve stavebnictví nebo k výrobě energie. [17] Negativem je velice nízká výtěžnost.

Rozborem sušeného kalu byl zjištěn u 3 vzorků nižší pokles intestinálních enterokoků a u 1 vzorku nižší pokles *Escherichia coli* než 10^5 KTJ na gram kalu. Z těchto 3 nevyhovujících vzorků, byl ve 2 případech pokles dostatečný u mikroorganismu *Escherichia coli*. U 1 vzorku nebyla splněna podmínka ani u jednoho mikroorganismu. Z tohoto důvodu je sušení metodou účinnou pouze ze 75 %. V příloze v tabulce 2 je uveden přesný pokles u jednotlivých

mikroorganismů. Výsledek poklesu menšího než 10^5 KTJ na gram kalu, označeného černě znamená, že vzorek byl bez nálezu.

Kompostování je metoda relativně nízkonákladová, spotřeba externí energie je malá. [4] Výsledný kompost je bohatý na organické látky, díky kterým je vhodný k hnojení půdy. [37] Je snadno skladovatelný a nezapáchá. Naproti tomu je nezbytné, ke kalu přidat další materiál, který zajistí pórovitost kompostu. [4] Kal obsahuje mikroorganismy cizí půdě, které nejsou způsobilé vyprodukovat žádané humusové látky. Je tedy třeba dodat rovněž půdní mikroflóru. [36] Dále je metoda relativně časově náročná.

Při rozboru vzorků kompostu bylo zjištěno, že pokles indikátorových mikroorganismů alespoň o 5 řádů nebyl splněn v 1 případě u intestinálních enterokoků. Jelikož tento vzorek splnil podmínku pro mikroorganismus *Escherichia coli*, je kompostování ve všech případech metodou účinnou. V příloze v tabulce 2 je uveden přesný pokles u jednotlivých mikroorganismů. Výsledek poklesu menšího než 10^5 KTJ na gram kalu označeného černě znamená, že vzorek byl bez nálezu.

Výsledky potvrdily stanovenou hypotézu. Upravený kal splňuje současné podmínky pro použití kalu jako hnojiva na zemědělskou půdu. Otázkou však zůstává, zda je zodpovědné používat na zemědělskou půdu kaly, které nemusí být podrobeny analýze na přítomnost *Salmonella* spp.

7 ZÁVĚR

Podle předpokladu byly identifikovány mikroorganismy *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Kromě očekávaných fekálních bakterií jako jsou termotolerantní koliformní bakterie a enterokoky, byla v jednom případě v sušeném kalu nalezena *Salmonella* spp. Dále byly v sušeném kalu zachyceny: *Bacillus pumilus*, *Bacillus jeotgali*, *Klebsiella pneumoniae* a kolonie jevící se jako *Shigella*, na MALDI však identifikována jako *Escherichia coli*. V kompostovaném kalu byly nalezeny: *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus coagulans*, *Cupriavidus gilardii*, *Pseudomonas boreopolis* a *Rummeliibacillus pycnus*.

Byla potvrzena stanovená hypotéza: Upravený kal splňuje podmínky pro použití kalu jako hnojiva na zemědělskou půdu.

Současně bylo zjištěno, že kompostování dosahuje lepších výsledků než sušení.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BRO	Biologicky rozložitelný odpad
CNS	Centrální nervová soustava
ČOV	Čistírna odpadních vod
DAEC	Difuzně agregující *E. coli*
EAEC	Enteroadherentní *E. coli*
EHEC	Enterohemoragická *E. coli*
EIEC	Enteroinvazivní *E. coli*
EPEC	Enteropatogenní *E. coli*
ETEC	Enterotoxická *E. coli*
HUS	Hemoragicko-uremický syndrom
LT	Termolabilní toxin
MUG	4-methylumbelliferyl-β-D-glukuronid
PCB	Polychlorované bifenyly
ST	Termostabilní toxin
WWTP	Waste water treatment plant

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] DOHÁNYOS, Michal. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom* [online]. 2006 [cit. 2019-08-05]. ISSN 1801-2655. Dostupné z: https://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu

[2] DOHÁNYOS, Michal a kolektiv. *Čištění odpadních vod*. 2. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha: 1998. ISBN 80-7080-316-9.

[3] ECO trend. *Optimalizace nakládání s kaly z komunálních čistíren odpadních vod* [online]. 2015, 4-49 [cit. 2019-12-27]. Dostupné z: https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/projekty_po8_opzp_2007_2013/$FILE/OODP-Oddil_I_1_Analyticka%20cast-20160810.pdf

[4] LYČKOVÁ, Barbora, Peter FEČKO a Radmila KUČEROVÁ. *Multimediální učební texty zaměřené na problematiku zpracování kalů* [online]. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava. Ostrava: 2008 [cit. 2019-12-27]. Dostupné z: http://hgf10.vsb.cz/546/ZpracovaniKalu/index.html

[5] JULÁK, Jaroslav a Emil PAVLÍK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékařství*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1792-3.

[6] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potraviná̌ře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-1024-6.

[7] VOTAVA, Miroslav a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

[8] VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. Brno: Neptun, 2007. ISBN 978-80-86850-03-0.

[9] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník* [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha: 2007 [cit. 2020-02-13]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=K006

[10] MADSEN, Eugene L. *Environmental Microbiology: From Genomes to Biogeochemistry* [online]. 2. vyd. John Wiley. New Jersey: 2015 [cit. 2020-04-30]. ISBN 978-111-8439-586. Dostupné z: https://ebookcentral.proquest.com/lib/techlib-ebooks/detail.action?docID=1985771#

[11] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Escherichia coli*. Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha: 2007 [cit. 2019-08-25]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=B008

[12] AMBROŽOVÁ, Jana. *Mikrobiologie v technologii vod*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha: 2004. ISBN 80-7080-534-X. Dostupné také z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-534-X/pages-pdf/001.html

[13] PLÍVA, Petr a kolektiv. *Kompostování a kompostárny*. Praha: Profi Press, 2016. ISBN 978-80-86726-74-8.

[14] SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2. vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.

[15] NAVRÁTIL, Leoš a kolektiv. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. 2. vyd. Praha: Grada, 2017. ISBN 978-80-271-0210-5.

[16] AMBROŽOVÁ ŘÍHOVÁ, Jana, Dana VEJMELKOVÁ a Pavlína ČIHÁKOVÁ. *Technická mikrobiologie a hydrobiologie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha: 2017. ISBN 978-80-7080-986-0.

[17] HAVELKA, Petr. *Změny v nakládání s kaly z čistíren odpadních vod* [online]. Česká asociace odpadového hospodářství. 2019 [cit. 2019-08-17]. Dostupné z: http://www.caoh.cz/odborne-clanky-a-aktuality/zmeny-v-nakladani-s-kaly-z-cistiren-odpadnich-vod.html

[18] Zákon č. 185/2001 Sb., o opadech, Občanský zákoník. In: *Sbírka zákonů*. 2001. ISSN 1211-1244. Dostupné také z:

https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/8FC3E5C15334AB9DC125727B00339581/%24file/Z%20185_2001.pdf

[19] Ministerstvo životního prostředí: Nové zákony o odpadech by mohly začít platit od ledna 2021. *Ekolist.cz* [online]. Olomouc: 2019 [cit. 2020-02-16]. Dostupné z: https://ekolist.cz/cz/zpravodajstvi/zpravy/ministerstvo-zivotniho-prostredi-nove-zakony-o-odpadech-by-mohly-zacit-platit-od-ledna-2021

[20] Návrh zákona o odpadech. *Česká asociace odpadového hospodářství* [online]. Praha: 2019 [cit. 2020-02-16]. Dostupné z: http://www.caoh.cz/data/action/navrh-zakona-odpady.pdf

[21] TUHÁČEK, Miloš a Jitka JELÍNKOVÁ. *Právo životního prostředí: praktický průvodce*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-5464-2.

[22] Vyhláška č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu. In: *Sbírka zákonů*. 2008. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/5D5BC2D98306D4FEC125770600325B84/%24file/V%20341_2008.pdf

[23] Vyhláška č. 437/2016 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. In: *Sbírka zákonů*. 2016. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/582A4AE704964E60C125809E0037313C/%24file/V%20437_2016.pdf

[24] Vyhláška č. 305/2019 Sb., kterou se mění vyhláška č. 437/2016 Sb. In: *Sbírka zákonů*. 2019. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: https://cse.google.com/cse?cx=015489265366623571386%3Aizzrwg3bmqm&q=305%2F2019&ok.x=0&ok.y=0

[25] ZÁBRANSKÁ, Jana. Technologie stabilizace čistírenského kalu s hygienizačním účinkem. *Odpadové fórum: Odborný měsíčník o všem, co souvisí s odpady*. 2004, (5), 14-16. ISSN 1212-7779.

[26] VÍTĚZ, Tomáš a Bořivoj GRODA. *Čištění a čistírny odpadních vod*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno: 2008. ISBN 978-80-7375-180-7.

[27] DOHÁNYOS, Michal. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom.cz* [online]. 2006 [cit. 2020-02-16]. ISSN 1801-2655. Dostupné z: https://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu

[28] MATĚJŮ, Ladislava a spol. Kontrola účinnosti hygienizace ve vybraných zařízeních zpracovávajících bioodpad. *Biom.cz* [online]. 2011 [cit. 2020-02-16]. ISSN 1801-2655. Dostupné z: https://biom.cz/cz/odborne-clanky/kontrola-ucinnosti-hygienizace-ve-vybranych-zarizenich-zpracovavajicich-bioodpad

[29] TNV 75 8090. *Hygienizace kalů v čistírnách odpadních vod*. Praha: Český normalizační institut, 2015 [cit. 2019-08-17].

[30] Fontana R, s.r.o. *Hygienizace kalu vápnem*. Brno: 2019 [cit. 2019-08-17]. Dostupné z: http://www.fontanar.cz/spolecne-dokumenty/cz/vyrobni-program/doprava-a-hygienizace-kalu/HKV-CZ.pdf

[31] PILNÁČEK, Vojtěch a kolektiv. Micropollutant biodegradation and the hygienization potential of biodrying as a pretreatment method prior to the application of sewage sludge in agriculture. *Ecological Engineering* [online]. 2019, (127), 212-219 [cit. 2019-12-27]. ISSN 0925-8574. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925857418304427

[32] BENEŠOVÁ, Libuše. Metoda zpracování komunálního odpadu – biosušení. *Biologie, chemie, zeměpis: časopis pro výuku přírodovědných předmětů na základních a středních školách* [online]. Univerzita Karlova. Praha: 2015, **24**(2), 73-76 [cit. 2019-12-27]. ISSN 1210-3349. Dostupné z: http://bichez.pedf.cuni.cz/archive/2015/c2.pdf

[33] WU, Zhi-Ying, Lu CAI, Thomas KRAFT a kolektiv. Biodrying performance and bacterial community structure under variable and constant aeration regimes during sewage sludge biodrying. *Drying Technology* [online]. 2018, **36**(1), 84-92 [cit. 2019-12-27]. Dostupné z:

https://www-tandfonline-com.ezproxy.techlib.cz/doi/full/10.1080/07373937.2017.1301951

[34] Analysis of sludge drying technology. WEI, Wei, Heng XIANG a Huifen ZOU. *Resources, Environment and Engineering* [online]. Shenyang Jianzu University. Shenyang: 2015, s. 61-66 [cit. 2019-12-27]. ISBN 978-1-315-73831-4. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=lOmsBAAAQBAJ&pg=PA61&lpg=PA61&dq=Analysis+of+sludge+drying+technology:+Wei+Wei,+Heng+Xiang,+Huifen+Zou+%26+Xingchuan+Du&source=bl&ots=JX5aMdGrE2&sig=ACfU3U1mBpU7RIg_SZ0uEri31ihP_iMVlQ&hl=cs&sa=X&ved=2ahUKEwijz4j-4YTkAhXgThUIHYgqAy0Q6AEwDHoECAkQAQ#v=onepage&q=Analysis%20of%20sludge%20drying%20technology%3A%20Wei%20Wei%2C%20Heng%20Xiang%2C%20Huifen%20Zou%20%26%20Xingchuan%20Du&f=false

[35] HARTIG, Karel. Sušení kalů. *Odpadové fórum: Odborný měsíčník o všem, co souvisí s odpady* [online]. Praha: 2001, (1), 11-12 [cit. 2019-12-27]. ISSN 1212-7779. Dostupné z: http://www.odpadoveforum.cz/upload/pageFiles/1-2001-pdf.pdf

[36] KURAŠ, Mečislav a kolektiv. *Technologie zpracování odpadů*. 2. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha: 1993. ISBN 80-7080-195-6.

[37] BUDZIŃSKA, Katarzyna, Magdalena MICHALSKA a Bożena SZEJNIUK. Microbiological assessment of sewage sludge hygienization in the process of composting with the use of Salmonella Enteritidis. *E3S Web of Conferences 44* [online]. EKO-DOK. Bydhošť: 2018, (15) [cit. 2019-12-27]. Dostupné z: https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/pdf/2018/19/e3sconf_eko-dok2018_00015.pdf

[38] ČSN EN ISO 5667-13 *Jakost vod: odběr vzorků – Část 13: Pokyny pro odběr vzorků kalů z čistíren a úpraven vod*. Praha: Český normalizační institut, 2011 [cit. 2019-08-26].

[39] MATĚJŮ, Ladislava. *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica: Metodický návod pro stanovení indikátorových organismů v bioodpadech, upravených bioodpadech, kalech z čistíren odpadních vod, digestátech, substrátech, kompostech, pomocných růstových prostředcích a podobných matricích*. Státní zdravotní ústav v Praze. Praha: 2009. ISSN 1804-9613. Dostupné z: https://docplayer.cz/19062298-Acta-hygienica-epidemiologica-et-microbiologica-cislo-1-2008.html

[40] HUONG, Truong Thanh a spol. Identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF MS. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* [online]. 2014, **1**(2), 64-66 [cit. 2020-02-16]. ISSN 2336-3940. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0214/pdf/d-microbial_identification_by_maldi-tof_ms.pdf

[41] *Informace o produktu MALDI Biotarget 48*. Bruker. 2011. Dostupné z: https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:pBwOAgYrssYJ:https://www.biovendor.cz/download/13854/N%25C3%25A1vod_8268711.pdf+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz

[42] *The MALDI Biotyper System*. Bruker. Bremen: 2019. Dostupné z: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1872349_MALDI_Biotyper_Clinical_IVD_CE_10-2019_ebook.pdf

[43] *mCOLItest*. MIKROLATEST. Brno: 2017. Dostupné z: https://www.erbalachema.com/attachments/mCOLItest__CZ_EN_SK_PL_K.pdf

[44] *Salmonella test kit*. Oxoid. 2016. Dostupné z: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=DR1108&c=UK&lang=EN&minfo=Y

[45] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.

[46] Oxoid Microbiology products. *Thermo Fisher Scientific* [online]. 2020 [cit. 2020-02-16]. Dostupné z: http://www.oxoid.com/CZ/blue/search/results.asp

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma čistírny odpadních vod....13
Obrázek 2 Fluoreskující Escherichia coli....35
Obrázek 3 Půda podle Rappaporta a Vassiliadise....36
Obrázek 4 Přeočkování na Salmonella/Shigella agar....37
Obrázek 5 Salmonella na Salmonella/Shigela agaru a Wilkins-Chalgren anaerobním agaru....38
Obrázek 6 Inokulace na Slanetze-Bartleyův agar....39
Obrázek 7 Potvrzující test na enterokoky....40
Obrázek 8 Kovový nosič....42
Obrázek 9 Přístroj MALDI-TOF....42
Obrázek 10 Pozitivní latex aglutinační průkaz salmonely....44
Obrázek 11 Černé kolonie Salmonella spp. na Salmonella/Shigella agaru....46
Obrázek 12 Salmonella spp. na Trypton-sojovém agaru....47
Obrázek 13 Růžový sektor porostlý Salmonella spp. a žlutý sektor porostlý Escherichia coli na Brilliant Green agaru....47
Obrázek 14 Modré kolonie termotolerantních koliformních bakterií na m-FC agaru....48
Obrázek 15 Ojedinělé hnědé kolonie enterokoků na Slanetz-Bartleyho půdě a černé zbarvení na žluč-eskulin-azidovém agaru....48

11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 Kal kategorie I 24
Tabulka 2 Kal kategorie II....24
Tabulka 3 Kritéria pro kontrolu účinnosti hygienizace 26
Tabulka 4 Rozbor ČOV Kolín....49
Tabulka 5 Rozbor ČOV Beroun....50
Tabulka 6 Rozbor ČOV Kladno 51
Tabulka 7 Rozbor ČOV Mělník 52
Tabulka 8 Pokles počtu mikroorganismů ČOV Kolín....53
Tabulka 9 Pokles počtu mikroorganismů ČOV Beroun....53
Tabulka 10 Pokles počtu mikroorganismů ČOV Kladno 53
Tabulka 11 Pokles počtu mikroorganismů ČOV Mělník....53

Tabulka 1: Výsledky rozboru vápněného kalu – ČOV Kladno [autor]

Kal	Termotolerantní	*E. coli*	Enterokoky	*Salmonella*
surový	2,36E+04	6,01E+03	7,58E+05	pozitivní
vápněný	0	0	0	negativní

Tabulka 2: Účinnost technologie [autor]

	E. coli		Enterokoky		
	Vstup	Pokles	Vstup	Pokles	Metoda účinná
Sušený	1,59E+06	1,59E+06	7,75E+06	2,84E+03	ano
	1,73E+04	1,73E+04	1,73E+04	2,23E+01	ano
	6,01E+03	6,01E+03	7,58E+05	7,58E+05	ano
	5,15E+04	1,39E+01	2,66E+06	4,16E+01	ne
Kompostovaný	1,59E+06	1,59E+06	7,75E+06	1,10E+01	ano
	1,73E+04	1,73E+04	1,73E+04	1,47E+05	ano
	6,01E+03	6,01E+03	7,58E+05	7,58E+05	ano
	5,15E+04	5,15E+04	2,66E+06	2,66E+06	ano

Tabulka 3: Limitní hodnoty – sušený kal [autor]

	Surový	Sušený	Limitní hodnoty (do 2022)	Limitní hodnoty (od 2023)
Termotolerantní	4,64E+06	0	splněno	splněno
	3,31E+04	0	splněno	splněno
	2,36E+04	0	splněno	splněno
	1,20E+05	5,91E+03	splněno	splněno
Enterokoky	7,75E+06	2,73E+03	splněno	splněno
	1,73E+04	6,61E+03	splněno	splněno
	7,58E+05	0	splněno	splněno
	2,66E+06	6,40E+04	splněno	nesplněno
Salmonella	pozitivní	negativní	/	splněno
	pozitivní	pozitivní	/	nesplněno
	pozitivní	negativní	/	splněno
	pozitivní	negativní	/	splněno

Tabulka 4: Limitní hodnoty – kompostovaný kal [autor]

	Surový	Kompostovaný	Limitní hodnoty (do 2022)	Limitní hodnoty (od 2023)
Termotolerantní	4,64E+06	0	splněno	splněno
	3,31E+04	0	splněno	splněno
	2,36E+04	0	splněno	splněno
	1,20E+05	0	splněno	splněno
Enterokoky	7,75E+06	7,02E+05	splněno	nesplněno
	1,73E+04	0	splněno	splněno
	7,58E+05	0	splněno	splněno
	2,66E+06	0	splněno	splněno
Salmonella	pozitivní	negativní	/	splněno
	pozitivní	negativní	/	splněno
	pozitivní	negativní	/	splněno
	pozitivní	negativní	/	splněno

Obrázek 1: Výsledky MALDI – sušený a vápněný kal [ÚLBLD 1. LF UK a VFN v Praze]

Bruker Daltonik MALDI Biotyper
Výsledky klasifikace

BRUKER

Inf. o projektu:

Název projektu:	HYG KAL 19.1219
Popis projektu:	
Vlastník projektu:	admin@FLEX-PC
Datum a čas vytvoření projektu:	2019-12-19T14:38:34.979
Počet analytů v projektu:	6
Typ projektu:	Development
Validace:	není
Pozice validace:	

Přehled výsledků

Název analytu	Kód analytu	Organismus (nejlepší shoda)	Skóre	Organismus (druhá nejlepší shoda)	Skóre
E3 (+)(B)	ENT	Enterococcus faecium	1.826	**nespolehlivá identifikace**	1.63
E4 (-)(C)	36 CAOH	**nespolehlivá identifikace**	1.428	**nespolehlivá identifikace**	1.402
E5 (+)(B)	ENT	Enterococcus faecium	1.886	**nespolehlivá identifikace**	1.651
E6 (+)(B)	ENT	Enterococcus faecalis	1.812	**nespolehlivá identifikace**	1.528
E7 (-)(C)	ENT	**nespolehlivá identifikace**	1.45	**nespolehlivá identifikace**	1.396
E8 (++)(A)	36 SUS	Enterococcus faecalis	2.206	Enterococcus faecalis	2.191

Obrázek 2: Výsledky MALDI – sušený a kompostovaný kal [ÚLBLD 1. LF UK a VFN v Praze]

Bruker Daltonik MALDI Biotyper
Výsledky klasifikace

BRUKER

Inf. o projektu:

Název projektu:	LISA. 24.1.2020
Popis projektu:	
Vlastník projektu:	admin@FLEX-PC
Datum a čas vytvoření projektu:	2020-01-24T13:52:28.579
Počet analytů v projektu:	13
Typ projektu:	Development
Validace:	není
Pozice validace:	

Přehled výsledků

Název analytu	Kód analytu	Organismus (nejlepší shoda)	Skóre	Organismus (druhá nejlepší shoda)	Skóre
D8 (-)(C)	KOMP MFC	**nespolehlivá identifikace**	1.455	**nespolehlivá identifikace**	1.452
D9 (++)(C)	KOMP SS	Cronobacter sakazakii	2.208	Cronobacter sakazakii	2.123
D10 (++)(A)	SUS TSA 3	Bacillus pumilus	2.115	Bacillus pumilus	1.836
D11 (-)(C)	SUS TSA 4	**nespolehlivá identifikace**	1.621	**nespolehlivá identifikace**	1.594
D12 (+)(B)	SUS TSA 5	Bacillus jeotgali	1.771	**nespolehlivá identifikace**	1.396
E1 (+)(B)	KOMP TSA 1	Bacillus coagulans	1.879	**nespolehlivá identifikace**	1.492
E2 (+)(B)	KOMP TSA 2	Cupriavidus gilardii	1.707	**nespolehlivá identifikace**	1.609
E3 (+++)(A)	KOMP TSA 3	Pseudomonas boreopolis	2.301	**nespolehlivá identifikace**	1.585
E4 (++)(A)	KOMP TSA 4	Rummeliibacillus pycnus	2.155	**nespolehlivá identifikace**	1.405
E5 (+)(B)	SUS SB 1	Enterococcus faecium	1.922	Enterococcus faecium	1.892
E6 (++)(A)	SUS SB 2	Enterococcus faecium	2.001	Enterococcus faecium	1.96
E7 (++)(A)	SUS SB 3	Enterococcus faecium	2.067	Enterococcus faecium	1.958
E8 (-)(C)	SUS SB 4	**nespolehlivá identifikace**	1.505	**nespolehlivá identifikace**	1.493

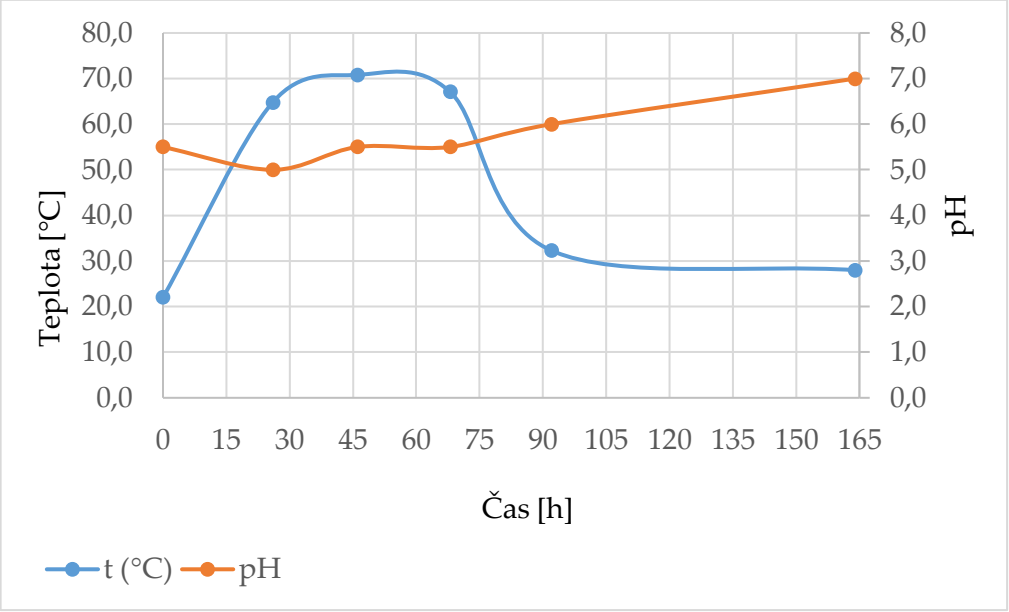
Obrázek 3: Výsledky MALDI – kompostovaný kal [41]

I13 (+)(C)	58	Salmonella sp	1.918	SE_PC	1.845
I14 (+)(B)	58	Salmonella sp	1.911	Salmonella sp	1.816
I15 (+)(C)	59	Salmonella sp	1.807	Citrobacter amalonaticus	1.729
I16 (+)(B)	59	SE_PC	1.727	**not reliable identification**	1.643
I17 (++)(C)	60	Salmonella sp	2.065	Salmonella sp	2.063
I18 (+)(B)	60	Salmonella sp	1.975	Salmonella sp	1.924
I19 (++)(C)	61	SE_AI	2.107	SE_EU	2.065
I20 (++)(C)	61	SE_AI	2.157	Salmonella sp	1.945
I21 (++)(C)	62	SE_AI	2.129	SE_PC	2.018
I22 (+)(C)	62	SE_AI	1.98	Citrobacter koseri	1.783
I23 (+)(B)	63	Klebsiella pneumoniae	1.725	**not reliable identification**	1.57
I24 (+)(B)	63	Klebsiella pneumoniae	1.985	Klebsiella pneumoniae	1.798
J1 (+)(C)	64	Escherichia coli	1.85	Escherichia coli	1.836
J2 (+)(B)	64	Escherichia coli	1.789	Escherichia coli	1.739
J3 (+)(B)	65	Klebsiella pneumoniae	1.996	Klebsiella pneumoniae	1.936
J4 (++)(A)	65	Klebsiella pneumoniae	2.008	Klebsiella pneumoniae	1.874

Tabulka 5: Kompostování – ČOV Kolín [ČZU v Praze]

Datum	hodina	čas (h)	*t* (°C)	pH
13.01.2020	13:00	0	22,0	5,5
14.01.2020	15:00	26	64,8	5,0
15.01.2020	11:00	46	70,8	5,5
16.01.2020	9:00	68	67,1	5,5
17.01.2020	9:00	92	32,3	6,0
20.01.2020	9:00	164	28,0	7,0

* Teplota nad 65 °C (min.) – 42,0 hod.

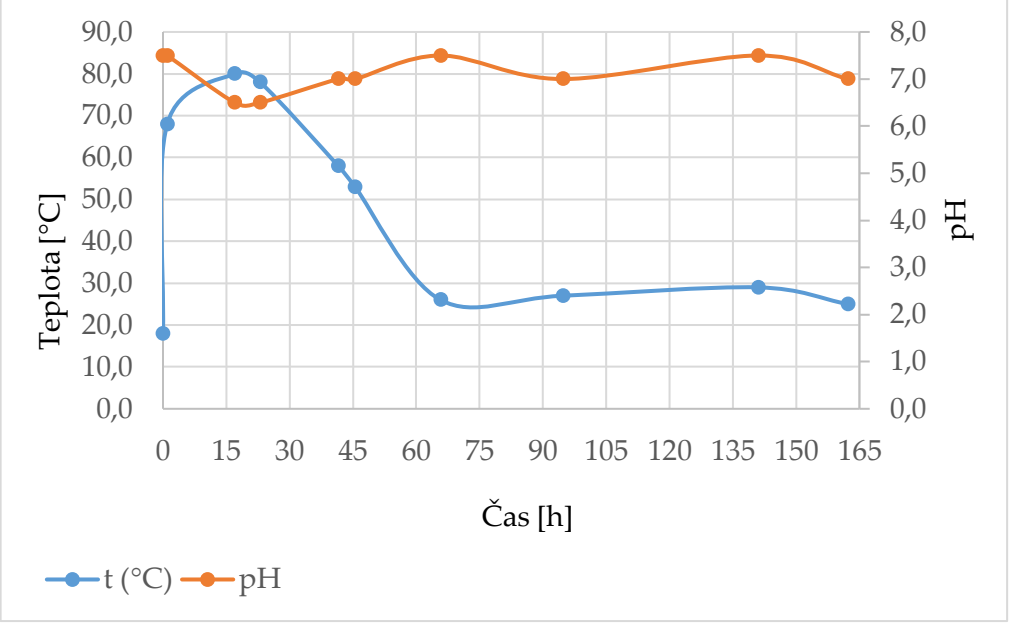


Graf 1: Kompostování – ČOV Kolín [ČZU v Praze]

Tabulka 6: Kompostování – ČOV Beroun [ČZU v Praze]

Datum	hodina	čas (h)	*t* (°C)	pH
21.01.2020	15:00	0	18,0	7,5
21.01.2020	16:00	1	68,0	7,5
22.01.2020	8:00	17	80,0	6,5
22.01.2020	14:00	23	78,0	6,5
23.01.2020	8:30	41,5	58,0	7,0
23.01.2020	12:30	45,5	53,0	7,0
24.01.2020	8:45	65,75	26,0	7,5
25.01.2020	13:45	94,75	27,0	7,0
27.01.2020	12:00	141,00	29,0	7,5
28.01.2020	9:15	162,25	25,0	7,0

* Teplota nad 65 °C (min.) – 40,5 hod.

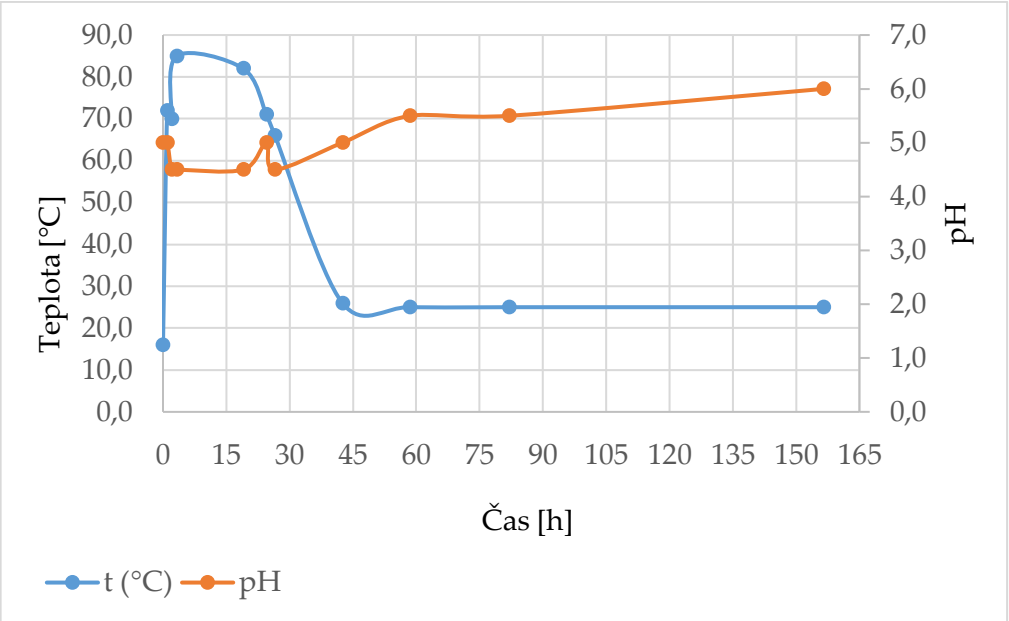


Graf 2: Kompostování – ČOV Beroun [ČZU v Praze]

Tabulka 7: Kompostování – ČOV Kladno [ČZU v Praze]

Datum	hodina	čas (h)	*t* (°C)	pH
17.02.2020	13:30	0	16,0	5,0
17.02.2020	14:30	1	72,0	5,0
17.02.2020	15:30	2	70,0	4,5
17.02.2020	16:45	3,25	85,0	4,5
18.02.2020	8:30	19	82,0	4,5
18.02.2020	14:00	24,5	71,0	5,0
18.02.2020	16:00	26,5	66,0	4,5
19.02.2020	8:00	42,5	26,0	5,0
20.02.2020	8:30	58,5	25,0	5,5
21.02.2020	8:00	82	25,0	5,5
24.02.2020	10:30	156,5	25,0	6,0

* Teplota nad 65 °C (min.) – 25,5 hod.

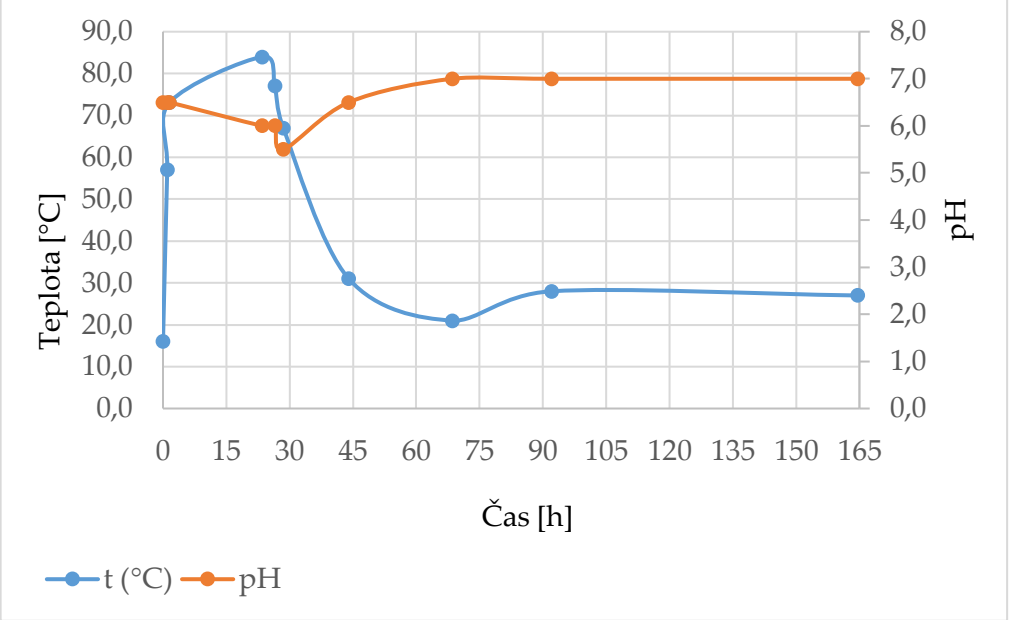


Graf 3: Kompostování – ČOV Kladno [ČZU v Praze]

Tabulka 8: Kompostování – ČOV Mělník [ČZU v Praze]

Datum	hodina	čas (h)	*t* (°C)	pH
24.02.2020	11:30	0	16,0	6,5
24.02.2020	12:30	1	57,0	6,5
24.02.2020	13:00	1,5	73,0	6,5
25.02.2020	11:00	23,5	84,0	6,0
25.02.2020	14:00	26,5	77,0	6,0
25.02.2020	16:00	28,5	67,0	5,5
26.02.2020	7:30	44	31,0	6,5
27.02.2020	8:00	68,5	21,0	7,0
28.02.2020	7:30	92	28,0	7,0
02.03.2020	8:00	164,5	27,0	7,0

* Teplota nad 65 °C (min.) – 27,0 hod.



Graf 4: Kompostování – ČOV Mělník [ČZU v Praze]