

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ochrana životního prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Oskar William Clark

Vermikompostování odpadů z výroby vína

Vermicomposting of wine production waste

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Petra Innemanová, Ph.D.

Praha, 2023

Charles University

Faculty of Science

Poděkování

Chtěl bych poděkovat vedoucí práce RNDr. Petře Innemanové za výběr tématu, cenné rady a pomoc s realizací experimentu. Dále bych chtěl poděkovat společnosti Dekonta a. s. za poskytnutí laboratorních prostorů a metodiky měření. Děkuji také Vinařství Petr Marada za poskytnutí vinných matolin.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, _____

Podpis

Abstrakt:

Kompostování je způsob zpracování biologického odpadu s potenciálem pro vysokou návratnost, a to finanční ve formě hodnotných hnojiv, nebo časovou ve formě nenáročného procesu zpracování. Právě v těchto ohledech se jeví vermikompostování jako metoda vhodná pro zpracování odpadů z vinařského průmyslu. Vermikompostování má výhody oproti běžnému kompostování v rychlosti přeměny vstupního materiálu na materiál s požadovanými vlastnostmi hnojiv ale zároveň i materiál, který je biologicky nezávadný. Odpady z výroby vína, z nichž představují největší podíl matoliny a odpadní vody, mají řadu vlastností, které mohou v půdě působit fyto toxicky. Tato práce obsahuje přehled problematiky odpadních materiálů z vinařského průmyslu, rozdílů mezi výrobou červeného vína a bílého vína a vhodností vermikompostování pro zpracování odpadů z vinařství na laboratorní a komerční úrovni. Experimentální část práce zkoumá časovou náročnost přeměny matolin z výroby červeného vína na vermikompostovaný materiál bez vlastností inhibujících rostlinný růst. Experimentální měření závislosti stáří vermikompostu a inhibice klíčivosti ukazují, že vermikompostování postupem času zvyšuje hodnotu pH substrátu a stabilizuje ji. Experiment také dokázal, že má vermikompost na semena statisticky signifikantní stimulační účinek.

Klíčová slova: vermikompost, červené víno, matoliny, ekotoxická, *Eisenia andrei*

Abstract:

Vermicomposting is a method of biological waste management, with the potential for valuable returns in the form of biofertilisers and savings of time and effort. These qualities make vermicomposting ideal for the processing of winery waste materials. Vermicomposting has advantages over traditional composting in terms of the speed of transformation of the input material, but also in terms of producing a safe fertiliser. Waste materials from the wine industry, which primarily include grape marc and winery wastewater, have several properties that can contribute to phytotoxic effects in soil. This thesis provides an overview of the management of waste materials from the wine industry, the differences between white and red wine production, and the suitability of vermicomposting for application in small- and large-scale winery waste management. The experimental part of this thesis examines the time requirement of vermicomposting to transform grape marc into a material that does not possess properties that inhibit plant growth. Experimental measurements of the relationship between vermicompost age and germination inhibition show that vermicomposting increases the pH of the substrate and stabilizes it over time. The experiment also showed that vermicompost has a statistically significant stimulatory effect on seed germination.

Key words: vermicompost, red wine, grape marc, ecotoxicity, *Eisenia andrei*

Obsah

Seznam zkratk	7
Úvod	9
Cíl práce	9
Výroba vína	9
Vinné matoliny	11
Kompostování	11
Vermikompostování	12
Alternativy vermikompostování	14
Materiál a metody	15
Pomůcky	15
Metodika	15
Vstupní materiály	15
Sestavení vermikompostovacího experimentu	15
Postup experimentu	16
Vermikompostování matolin	16
Test ekotoxicity matolin na semenech hořčice bílé a další parametry	16
Stav po čtyřech měsících	17
Výsledky a diskuse	18
Úprava materiálu před vermikompostováním	18
Hodnota pH vermikompostu	18
Míra inhibice klíčivosti semen	21
Sušina ve vermikompostu	23
Vodivost vermikompostu	24
Vybrané kompostářské parametry vermikompostu	24
Závěr	25
Seznam použité literatury	26

Internetové zdroje	32
Přílohy	33
Tabulky	33
Fotografie	35

Seznam zkratek

CO₂ – oxid uhličitý

EC – electrical conductivity, elektrická vodivost

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů)

mg/kg – miligramy na kilogram

mhl – milionů hektolitrů

mS/cm – milisiemens na centimetr

OIV – International Organisation of Vine and Wine, Mezinárodní organizace pro vinnou révu a víno

SOP – standardní operační postup

Úvod

V rámci vzrůstající motivace k zodpovědnému zacházení s biologickými odpady a s půdou ze strany jak evropských vinařů, tak evropské legislativy vzrůstá také zájem o nové metody zpracování těchto odpadů. Zvláště velký je zájem o takové metody, které dovolují původcům odpadů vyhnout se vysokým poplatkům za zpracování odpadů. Druhým důležitým faktorem je ekologičnost takových metod. Vermikompostování se zdá být metodou kombinující tyto vlastnosti, je nenáročné na vstupní materiály a šetrné k přírodě. Proto je verмикompostování jednou z metod, kterou pomáhá Česká republika pod zavést do praxe v Moldavsku v rámci projektu „Udržitelné využití odpadů vznikajících při výrobě vína v Moldavské republice“. Tento projekt rozvojové spolupráce pod záštitou programu „Aid for Trade“ Světové obchodní organizace (WTO) pomáhá moldavským vinařům s implementací ekologicky šetrných a finančně nenáročných metod valorizace odpadů z vinařství. Experimentální část této práce byla prováděna v laboratoři firmy Dekonta, a. s., která se účastní projektu v Moldavsku.

Cíl práce

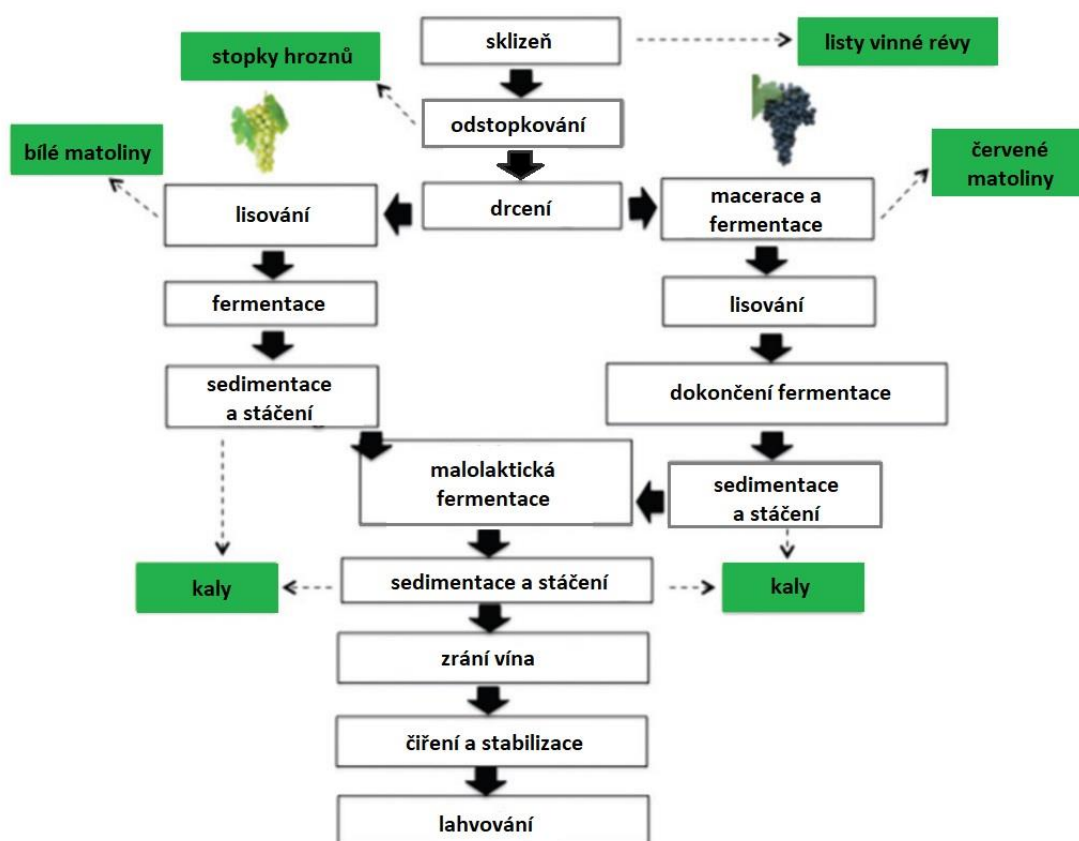
Tato bakalářská práce shrnuje dostupné informace v oblasti zpracování odpadů vyprodukovaných ve vinařském průmyslu za použití přírodě šetrných a ekonomicky výhodných metod, z nichž je hlavní zkoumanou metodou verмикompostování. Práce také zkoumá časovou náročnost verмикompostování vinařských odpadů a efektivitu verмикompostování při mitigaci fytotoxicity těchto odpadů. Cílem praktické části je ověření hypotézy, že fytotoxicita matolin vlivem činnosti žížal klesá v čase. Záměr je využít poznatky o valorizaci matolin a jejich bezpečné aplikaci na vinice ve formě hnojiv v Moldavsku i na domácí půdě.

Výroba vína

Víno z révy vinné (*Vitis vinifera*) je odedávna jedním z nepopulárnějších alkoholických nápojů. Zájem o něj v dnešní době v žádném případě neklesá, světová produkce vína v roce 2022 je odhadována na 259,9 milionů hektolitrů (OIV, 2022). Vinná réva je dle množství vypěstovaného ovoce globálně na pátém místě, v roce 2021 bylo vypěstováno 77,14 milionů tun hroznů (FAO, 2021). V Moldavsku, kterého se týká projekt rozvojové spolupráce, je pětiletá průměrná produkce vína 1,5 mhl. Ve srovnání s Českou republikou, zemí se skoro trojnásobnou populací a dvojnásobnou rozlohou, je to skoro trojnásobná hodnota. Při srovnání se zeměmi Evropské unie by bylo Moldavsko desáté na žebříčku, za Řeckem a před

Bulharskem. Řada evropských zemí zaznamenává posledních několik let snížené výnosy vína zapříčiněné opakovanými vlnami letních veder, Moldavsko spíše naopak svojí jen o 7 % sníženou produkci v roce 2022 spíše vyrovnávalo poptávku evropských trhů. V roce 2018 mělo Moldavsko 19. nejvyšší produkci vína na světě a bylo na 13. místě, co se týče rozlohy vinic (WINET, 2018).

Z révy máme, mimo výrobu vína, užitek také přímý ve formě hroznů samotných (ovoce nebo rozinky), nebo nepřímý, například pro výrobu vinného octa, vinného sirupu (na východě a západě Evropy) nebo vinného moštu. Sklizeň vína tedy produkuje obrovské množství využitelných produktů. Ovšem zanedbat ale v pomyslné rovnici produkce odpadní materiál by bylo nezodpovědné. Obrovský zájem o víno a hrozny, ze kterého se vyrábí znamená, že i odpadů vzniká obrovské množství. Z produkce vína plyne také velký podíl vedlejších produktů ve formě organických zbytků, se kterým je třeba rozumně nakládat.



Obrázek 1: Proces výroby bílého (vlevo) a červeného (vpravo) vína a vybrané odpady spojené s různými fázemi výroby. Překlad diagramu od Goméz-Brandón M (Gómez-Brandón et al., 2019).

Vinné matoliny

Vinné matoliny jsou pevné zbytky po lisování vína buď před nebo po kvašení. Bývají složeny ze všech částí bobule vyjma šťávy a součástí odejmutých před drcením plodu. V některých případech mohou být jejich součástí kaly z různých fází výroby. Matoliny tak mohou vznikat z asi 20-25 % hmotnosti plodů. Obsah vody po vylisování se pohybuje okolo 65 % (Arvanitoyannis et al., 2006; Devesa-Rey et al., 2011). Matoliny jsou považovány za jeden z nejméně hodnotných odpadů z vinařství. Po vylisování se skládají jen ze slupek, semen a různorodých kalů. Materiál má povahu směsice organického odpadu, v případě červeného vína napuštěného alkoholem z fermentace. Zohledníme-li i relativně vysoký obsah toxických polyfenolů (např. tannin), připomíná tento materiál spíše něco jako nebezpečný průmyslový odpad než surovina hodná valorizace. Polyfenoly z matolin mohou degradovat půdu, snižovat mikrobiální aktivitu, kontaminovat podzemní vodu a mají významné fytotoxické účinky na rostlinách (Barbera et al., 2013). Možnost jeho přímého využití jako hnojivo je v podstatě vyloučena kvůli fytotoxickým a antimikrobiálním vlastnostem které v podobných aplikacích vykazuje ve spojení s dalšími negativními vlivy jako je například snížení okysličení půdy, kontaminace půdní vody a emise skleníkových plynů (Christ et al., n.d.; A. Fontana et al., 2013). Velké množství materiálu a jeho chemické složení ale znamená, že je zájem o jeho efektivní využití. Matoliny totiž mají vysoký obsah organické hmoty a živin (Bustamante et al., n.d.).

Jedním možným využitím matolin je výkrm hospodářských zvířat, jelikož jsou matoliny levné a dobře silážovatelné. Jejich nevýhodou v tomto ohledu je ale vysoký obsah ligninu, díky kterému jsou pro zvířata těžko stravitelné a nevyživné (Kammerer et al., 2005). Polyfenoly obsažené v matolinách se v nich také vážou na proteiny a snižují tak jejich biologickou dostupnost (Moujahed et al., 2000). Matoliny nachází také využití v chemickém průmyslu. Z matolin je možné ethanol a hodnotné polyfenolické sloučeniny extrahovat, spolu s řadou látek s antioxidantními účinky, které nachází využití např. v kosmetickém průmyslu (Álvarez-Casas et al., 2014; Beres et al., 2017; A. R. Fontana et al., 2013; Negro et al., 2003). Právě pro kosmetický průmysl je důležitý také hroznový olej, který lze získat ze semen v matolinách (Beres et al., 2017).

Kompostování

Kompostování je proces aerobního rozkladu organického detritu činností organismů. Na kompostování se podílí řada mikro- i makroskopických organismů, které se dělí také na

chemické rozkladače (mikroorganismy bakterie, houby, prvoci) a fyzické rozkladače (větší organismy jako hmyz, kroužkovci, chvostokoci nebo stejnonožci. Kompostování běžně probíhá v kompostovací nádobě nebo hromadě, kde nahromaděné velké množství materiálu přispívá ke kvalitě kompostu a rychlosti přeměny. Proces aerobního rozkladu organického materiálu spotřebovává kyslík a z větších organických sloučenin vytváří menší (finálním produktem rozkladu je oxid uhličitý). Činnost rozkladačů, zvláště mezofilních bakterií, produkuje také teplo. Ve velké hromadě, dostatečně izolované od vnějších podmínek, tak teplota materiálu postupně stoupá, až dojde k vzniku ideálních podmínek pro aktivitu termofilních bakterií. Výhodou aerobních metod kompostování je jejich rychlejší průběh a to, že při správném provedení nezapáchají (Arvanitoyannis et al., 2006).

Vermikompostování

Vermikompostování je proces rozkladu organického materiálu, ve kterém hrají hlavní roli epigeické žížaly. Ty se účastní kompostování přirozeně jak v přírodě, tak v kompostovacích haldách ležících na odhalené půdě (tedy tam, kde mají šanci se do kompostovaného materiálu dostat). Liší se od tzv. anecických a endogeických žížal hloubkou, ve které žijí a norami, které obývají (Munroe, 2007). Anecické druhy v noci vylézají na povrch půdy a potravu si přináší do nor hluboko v půdě. Endogeické žížaly naopak skoro na povrch nevylézají a jejich nory jsou mnohem mělčí. Epigeické žížaly přirozeně nežijí přímo na povrchu ani hluboko pod povrchem, ale obývají povrchovou vrstvu rozkládajícího se organického opadu (Eisenhauer, 2010). Tato skupina druhů neobývá žádné permanentní nory. V mírných kontinentálních podmínkách se dobře daří druhům jako např. žížala hnojní (*Eisenia fetida*) a žížala kalifornská (*Eisenia andrei*), které dokážou přežívat v teplotách od 0 °C do 35 °C. To jim dovoluje ve vermikompostovacích zařízeních našeho podnebí přežívat po celý rok. Pro vermikompostování v tropických podmínkách je vhodné využít druhy více adaptované na horko. V Indii, kde je vermikompostování velice rozšířené, je vhodným druhem např. *Eudrilus eugeniae* (Senapati & Julka, 1993).

Žížaly zastupují vícero funkcí v kompostovací haldě a podobně ve vermikompostéru. Žížaly mechanicky rozmělnují a tráví jemnější organické zbytky trávicím ústrojím, působí tedy jako fyzičtí i chemičtí rozkladači. Tvoří si při tom cestičky skrz hromadu materiálu, čímž ho provzdušňují a napomáhají tím jeho aerobního rozkladu. Prohrabáváním se hromadou také jeho obsah homogenizují. Vermikompost má pak výrazně rovnoměrnou zrnitost a chemické vlastnosti. V uzavřeném vermikompostéru bez přístupu světla mají žížaly příjemné prostředí

pro působení skrze celý objem materiálu, mají tedy tendenci se namnožit a naplnit nosnou kapacitu jejich prostředí, která je při pravidelném přísunu nového odpadu vyšší, než je v přírodě. Vermikompostér tedy žížaly koncentruje a zintenzivňuje jejich aktivitu. Tento relativně zvýšený podíl na rozkladu odpadu tvoří podstatu vermikompostéru. Vermikompostováním je možné levně a snadno vytvořit materiál se sníženým C:N poměrem, zvýšeným obsahem biologicky dostupných organických a anorganických živin, pH blízkým neutrálnímu (Biruntha et al., 2020; Devesa-Rey et al., 2011; Nogales et al., 2005; Santana et al., 2020).

Vermikompost může najít využití nejen jako hnojivo. Výroba vermikompostu nabízí možnost druhotné výroby žížalího čaje neboli „worm tea“, výluhu ze zralého vermikompostu. Worm tea obsahuje podobně jako vermikompost vysoké množství rozpuštěných živin a slouží tak jako efektivní hnojivá přísada na půdu, která nabízí ale možnost přesné kontroly nad koncentrací rozpuštěných látek ředěním. Toho je možné docílit i cestou pevného substrátu smíšeného se samotným vermikompostem, ovšem jeho míchání se zeminou je o něco pracnější než s vodou. Některé zdroje chybně označují kapalinu hromadící se v nejspodnější části vermikompostéru jako žížalí čaj. Zahraniční literatura často používá pro tekutinu v jímce termín „leachate“, což v tomto kontextu ale znamená spíše průsakovou vodu než výluh. Tuto průsakovou vodu lze také použít na místě žížalího čaje, ale z primárně hygienických důvodů to nelze doporučit. Jednou z důležitých schopností žížal je hygienizace materiálu, který zpracovávají. Voda v jímce vermikompostéru neprochází trávicí soustavou žížal a může tak v sobě obsahovat patogeny a toxické látky, které mohou škodit rostlinám (*How Are Worm Tea and Worm Leachate Different?*, 2023; Sherman, 2021).

Zralý vermikompost a produkty z něj mají zřejmě naopak účinky pesticidního charakteru. Přehled literatury zpracovaný Simsek-Ersahin popisuje řadu studií, ve kterých vermikompost a worm tea inhibují populace škůdců v půdě a na rostlinách (Simsek-Ersahin, 2010). Mezi nimi Arancon et al. prokázali snížení populací hlístic parazitujících na rostlinách jahodníků a vinné révy (Arancon et al., 2003). Edwards a Arancon také zaznamenali potlačení plísně *Sphaerotheca fulginea* na hroznech vinné révy pěstované s vermikompostem (Edwards & Arancon, 2022). Vermikompostování lze také využít jako efektivní způsob bioremediace. Půdy kontaminované již zmíněnými polyfenolickými sloučeninami nejsou pro žížaly velkou překážkou, dokážou je totiž z půdy odstraňovat. Toho docílí z velké části vlastním trávením, částečně také mikrobiální aktivitou, kterou podporují (Domínguez et al., 2010; Hättenschwiler & Vitousek, 2000).

Alternativy vermikompostování

Ne ve všech případech je možné využít vermikompostování jako hlavní metodu zpracování vinných matolin. V některých zemích není pro vermikompostování dostatečně uzpůsobená legislativa, nebo jsou jiné způsoby zpracování již pevně zavedené (např. krmení matolin hospodářským zvířatům (Kammerer et al., 2005)). V případech, kdy se naskytuje možnost větší investice do průmyslového provozu a zájem jak o zpracování odpadu, tak zároveň o výrobu a využívání bioplynu, bývá zvolena anaerobní digesce. Tato metoda organického rozkladu spočívá ve fermentaci organického materiálu v uzavřeném prostředí bez přítomnosti kyslíku. V průběhu tohoto procesu se rozkládají odpady z vinic nebo jiné organické zbytky za účasti anaerobních mikroorganismů, které přeměňují organickou hmotu na bioplyn obsahující převážně metan a oxid uhličitý (Insam et al., n.d.; Ros et al., n.d.). Výsledný bioplyn může být využit jako obnovitelný zdroj energie nebo i tepla (pokud je bioplyn využíván kogenerační jednotkou). Jeho využití ale vyžaduje investici do technologického zázemí k jeho shromažďování a ukládání, případně in-situ využití. Výroba bioplynu také umožňuje další cestu k financování provozu. Další z klíčových výhod metody je schopnost zpracovávat velké množství organického odpadu s menšími nároky na plochu. Digesce běžně probíhá kontinuálně v digesčních jednotkách ve formě velkých odvětrávaných nádrží, do kterých je pravidelně přidáván materiál určený k rozkladu. Vermikompostování na komerční úrovni běžně probíhá v liniových haldách, které vyžadují velkou plochu. Ve využití jako hnojivo jsou si tyto dvě metody zhruba rovné, obě produkují kvalitní materiál bohatý na dusík a fosfor (Gómez-Brandón et al., 2019). Anaerobní digesce má ale zřejmě vyšší schopnost hygienizace odpadu (Liew et al., 2022). Hlavní nevýhodou proti vermikompostování se tedy jeví být finanční a logistická náročnost.

Matoliny mohou najít také využití v technologiích přímého termického rozkladu bez účasti organismů. Matoliny mají totiž řadu vlastností, které je činí dobrým biopalivem, například kalorický obsah srovnatelný s některými fosilními palivy jako uhlí nebo směsí koksu (Lapuerta et al., 2008). Mezi využívané metody se řadí spalování, zplyňování a pyrolýza (Muhlack et al., 2018). Spalování je z nich nejméně komplikovanou metodou, jedná se o oxidaci biomasy při vysokých teplotách (800-1000 °C) a s přístupem kyslíku ze vzduchu (Kameyama et al., 2012). Produktem spalování je popílek a lze jím generovat elektrickou energii nebo samotné teplo pro další využití (kogenerační jednotky okázou využívat mechanickou i tepelnou energii páry zároveň). Zplyňování a pyrolýza jsou metody při kterých jsou vytvářeny zahříváním plynné produkty jako vodík, metan, oxid uhelnatý, nebo oxid

uhličitý. Ty jsou využitelné v dalším spalování ve formě plyných palivových směsí obdobných zemnímu plynu (např. syngas) (Muhlack et al., 2018; Wang et al., 2008). Pyrolýzou matolin, stejně jako jiné palivové biomasy, lze získat také zuhelnatělý biochar, který se má využít jako vysoce porézní půdní aditivum schopné na sebe vázat a dopravovat do půdy živiny (Encinar et al., 1996).

Materiál a metody

Pomůcky

V průběhu praktické části práce byly využity tyto pomůcky: plastové skládací vermikompostovací nádoby, umělohmotná víka na vermikompostovací nádoby, pinzeta, Petriho misky, kyblíky různých velikostí, filtrační papíry, předvážky, laboratorní sušárna, laboratorní třepačka, skleněné nádobky, konduktometr *WTW inoLab 720pH/Cond*, 250,0 ml titrační baňky, skleněné filtrační nálevky, semena hořčice seté (*Sinapis alba*), automatická pipeta

Metodika

Podstatou praktické části bakalářské práce je ověření míry inhibice nebo stimulace klíčivosti semen srovnáním vlivu výluhu z nezpracovaných matolin a vlivu výluhu z matolin zpracovaných po různou dobu procesem vermikompostování.

Vstupní materiály

Částečně vysušené matoliny z výroby červeného vína byly pro experiment poskytnuty Vinařstvím Marada v Mikulčicích. Matoliny pocházely ze sklizně v roce 2022. Násady žízaly kalifornské (*Eisenia andrei*) pocházely z vermikompostérů provozovaných v areálu výzkumného ústavu firmy Statky Kostelec, s.r.o. (Kostelec nad Ohří).

Sestavení vermikompostovacího experimentu

Třípatrový vermikompostér byl sestaven ze tří plastových nádob o objemu 20 l. Spodní nádoba měla pevné dno a sloužila ke sběru přebytečné tekutiny (leachate) z vermikompostéru. Horní a prostřední nádoby byly identické a obsahovaly samotné žízaly a matoliny které sloužily jako substrát pro vermikompostování. Pracovní objem pro vermikompostování byl tedy u každého vermikompostéru 40 l. Žízaly se mohly mezi horním a středním patrem volně pohybovat, mezi středním patrem a spodním sběrným patrem byla vodopropustná umístěna vodopropustná tkanina zabraňující žízalám přístup do spodního patra.

Postup experimentu

Vermikompostování matolin

V průběhu experimentu byly sestaveny celkem čtyři identické vermikompostéry. V každém bylo do horního i středního patra přidáno po čtyřech kilogramech červených odpadních matolin. První vermikompostér byl „inokulován“ násadou žížal následujícím způsobem: matoliny byly navlhčeny a do obou pater bylo vloženo stejné množství žížal o hmotnosti asi 50,0 g, včetně dospělých i juvenilních jedinců. Žížaly byly umístěny do boxů v květináčích naplněných 200,0 g zralého vermikompostu, který sloužil jako bezpečné útočiště pro žížaly adaptující se na nový substrát. Tento postup měl být původně opakován ještě třikrát s ostatními připravenými vermikompostéry, vždy s čtyřtýdenním odstupem. Při zahájení experimentu ale došlo k úhynu první násady žížal. Matoliny do dalších vermikompostérů musely být nejprve zbaveny zbytkového ethanolu z vinařské výroby, a to odvětráním obsahu zbývajících tří kompostérů po dobu 2 měsíců. Obsah prvního vermikompostéru byl úhynem žížal znehodnocen a vyřazen z experimentu.

Následující postup již probíhal podle plánu a přibližně po třech měsících byl k dispozici pro další testování jak vstupní vzorek červených matolin (uchovávaný po celou dobu v lednici) označený „V“, tak zralé vermikomposty o stáří 4, 8 a 12 týdnů, označené jako „M1“, „M2“ a „M3“.

Test ekotoxicity matolin na semenech hořčice bílé a další parametry

Podle standardního operačního postupu SOP 06.0.8 Dekonta a.s. byl proveden ekotoxikologický test na semenech hořčice bílé (*Sinapis alba*). Ze tří vermikompostérů v různých stádiích procesu (4., 8. a 12. týden vermikompostování) bylo odebráno celkem dvanáct vzorků o hmotnosti 10,0 g – vždy dva z horního a dva z prostředního patra každé sestavy. Další čtyři vzorky byly pro srovnání odebrány ze vstupního materiálu. Všechny vzorky ve skleněných baňkách byly po přidavku 100,0 ml destilované vody umístěny na 30 minut na laboratorní třepačku. Vzniklé výluhy byly přefiltrovány a kombinovaným pH- a konduktometrem WTW inoLab 720 pH/Cond byly změřeny hodnoty jejich pH a vodivosti (EC, electrical conductivity).

Z výluhů bylo dále automatickou pipetou napipetováno 10,0 ml do připravených Petriho misek obsahujících 30 semen hořčice bílé. Takto bylo provedeno celkem dvanáct klíčivostních testů s výluhy ze vzorků vermikompostovaného materiálu (čtyři paralelní měření

pro každou variantu 1M až 3M) a čtyři testy výluhu ze vstupního vzorku (V). Petriho misky byly ponechány po dobu 72 hodin ve tmě při teplotě laboratoře. Stejný test ve čtyřech opakováních byl proveden s destilovanou vodou místo výluhu jako kontrola.

Po 72 hodinách kultivace se změřila a zaznamenala délka kořenů všech semen, což je základní sledovaný parametr pro určení relativní inhibice H. Hodnota stanovená v testovaném výluhu se porovnává s kontrolou a vypočítává se procento inhibice (zkrácení) či stimulace (prodloužení kořene). Do aritmetického průměru se nevyklíčená semena započítávají jako semena s nulovou délkou kořene. Jestliže semeno vyklíčí, ale nevytvoří kořínek, započítává se tato hodnota do aritmetického průměru rovněž jako nulová. V testech s více paralelními stanoveními, nesmí být variabilita výsledků v jednotlivých miskách u příslušného roztoku větší než 30 %.

Podle standardního operačního postupu SOP 06.0.34 Dekonta a.s. byl určen obsah sušiny ve všech vzorcích. Skleněná miska byla nejprve zvážena a hmotnost zaznamenána, dále byla zaznamenána její hmotnost včetně navážky vzorku a dále hmotnost po vysušení při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Výsledný obsah sušiny v % je průměrnou hodnotou tří paralelních měření pro každý vzorek. Pro statistické zpracování výsledků byla využita jednocestná ANOVA a post-hoc Tukey-test. Pro výpočet korelace mezi parametry byl použit Microsoft Excel 2016.

Stav po čtyřech měsících

V souladu s řadou standardních operačních postupů Dekonta a. s. (SOP č. 28, 01, 14B, 80, 48, 02 a 85) byla provedena dodatečná separátní analýza sady fyzikálních a chemických parametrů. Tyto parametry jsou sledovány jako stěžejní jakostní znaky vermikompostů podle normy ČSN 46 5736. Byly porovnány vzorky stejných neupravených vstupních matolin jako v první části experimentu a vzorky čtyři měsíce starého vermikompostu z původní experimentální sestavy. Výsledky poskytla firma Dekonta, a.s. Protože bylo měření prováděno pouze v duplikátech, byl vypočítán pouze průměr z naměřených hodnot, ale nebylo možné provést statistické vyhodnocení. U vzorků bylo (dle uvedené normy) sledováno: hmotnostní procento obsahu sušiny, hodnota pH, koncentrace oxidu fosforečného, koncentrace oxidu draselného, celková koncentrace dusíkatých látek, hmotnostní procento obsahu spalitelných látek, poměr C:N, hodnota vodivosti vzorku, koncentrace amoniakálního dusíku, koncentrace dusičnanového dusíku.

Výsledky a diskuse

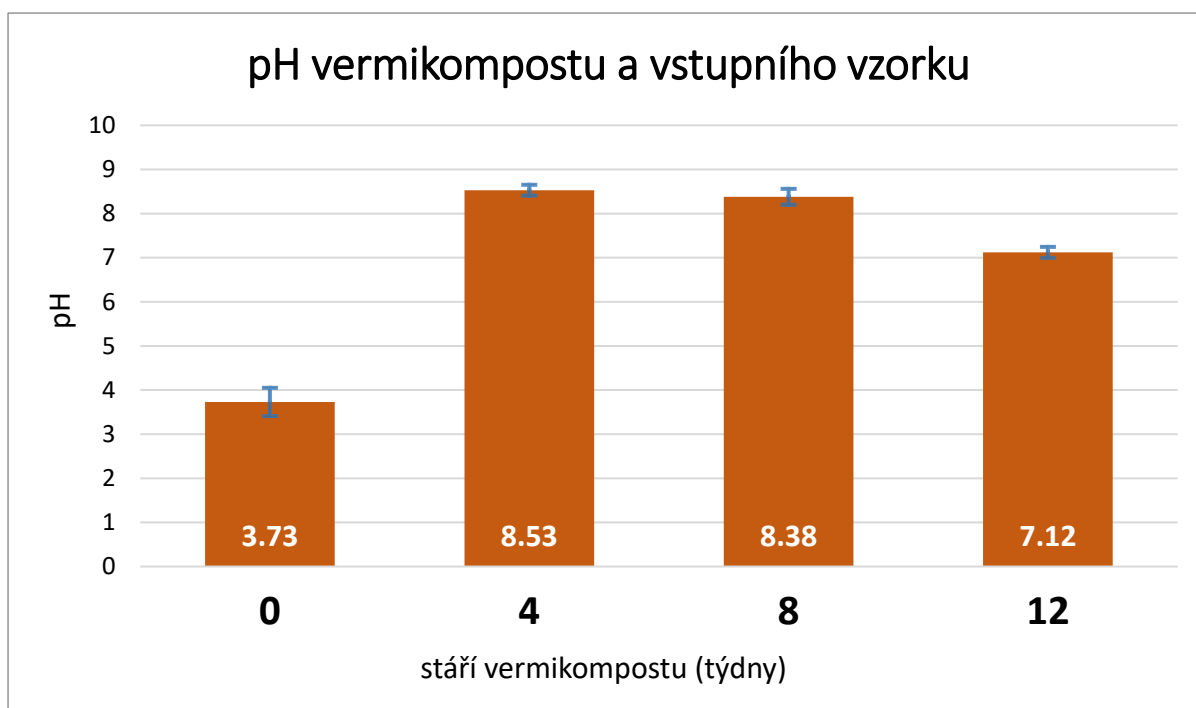
Úprava materiálu před vermikompostováním

Důležitým zjištěním ihned na začátku experimentu byl fakt, že prostředí čerstvých červených matolin vykazuje v uzavřeném systému boxového vermikompostéru akutní toxicitu pro použité žížaly. První násada žížal, která byla umístěna do třípatrového vermikompostéru naplněného relativně čerstvými matolinami, tak byla bohužel znehodnocena. Toto prostředí mohlo pro žížaly představovat vhodné podmínky z hlediska vlhkosti, ovšem koncentrace zbytkového alkoholu po lisování fermentovaných hroznů byla natolik vysoká, že žížaly usmrtila do 24 h. Počáteční pokus dokázal, že žížaly nemají dostatečnou toleranci na prostředí s přítomností zbytkového alkoholu z výroby vína. Pro pozdější násady do stejně připraveného vermikompostovacího zařízení byly použity matoliny, které byly ponechány několik týdnů bez jakékoliv manipulace. Pouze víka vermikompostérů byla odkryta, aby mohl ethanol samovolně odtékat a nepůsobil na žížaly toxicky.

Je také nutné rozlišovat, zda se jedná o odpad z výroby červeného nebo bílého vína. Jak vyplývá ze schématu na Obr. 1, při výrobě bílého vína matoliny nebudou obsahovat takové množství alkoholu, protože se v procesu oddělují ještě před zahájením fermentace (Fuhrman et al., 2001; Gómez-Brandón et al., 2019; Saranraj et al., 2017). Protože vermikompostování v plně provozním měřítku probíhá nejčastěji v pásových hromadách na volném prostranství a k příkrmování čerstvým substrátem dochází postupně, mají žížaly možnost migrovat do nově založené hromady až po uplynutí potřebné doby k odvětrání ethanolu (Hanč & Plíva, 2013). Pro urychlení odvětrání by bylo možné matoliny manuálně nebo strojově promíchávat, to ale zvyšuje náklady na zpracování odpadu. Případně je možné matoliny promíchat s jinými druhy bioodpadu. V případě tohoto experimentu byly matoliny ponechány stát několik týdnů. V tomto případě také vyrostla na vlhkých matolinách menší vrstva plísně, která žížalám a dalšímu průběhu experimentu nijak neškodila.

Hodnota pH vermikompostu

Průměrná hodnota pH ze čtyřech paralelních vzorků z každého sledovaného stádia vermikompostování je uvedena v Grafu 1.



Graf 1: Vývoj průměrného pH vermikompostu v závislosti na jeho stáří.

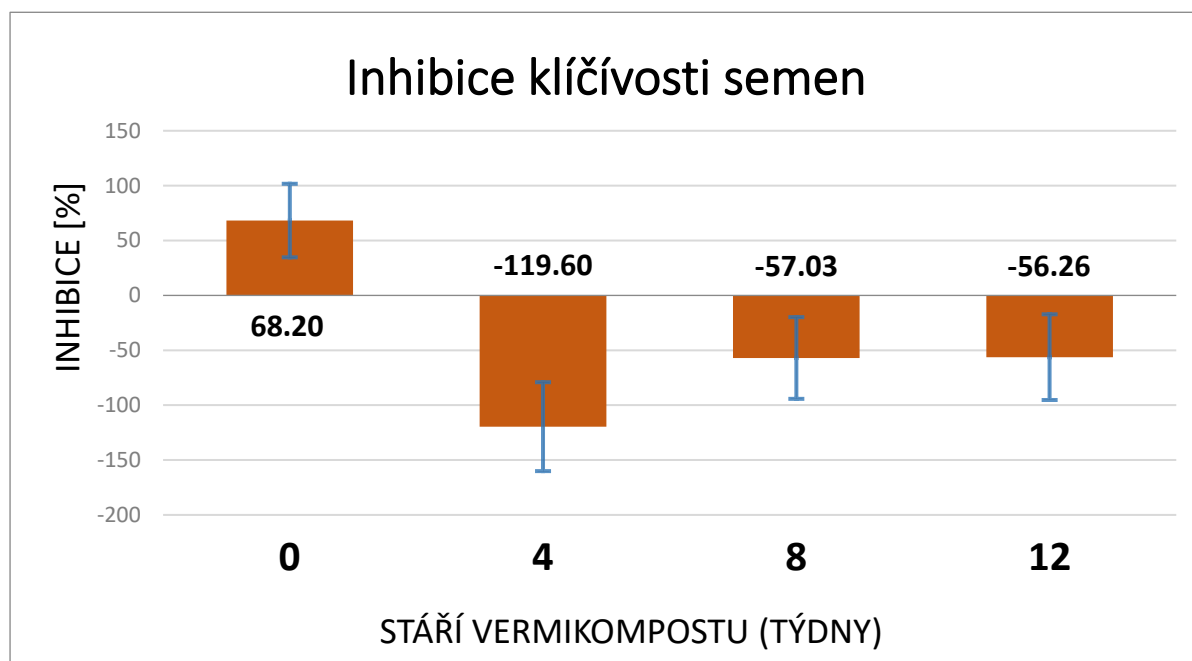
Laboratorním pH-metrem byla měřena hodnota pH výluhu vstupního vzorku V (stáří 0 týdnů) a u vzorků 1M (4 týdny), 2M (8 týdnů) a 3M (12 týdnů) (graf č. 1). Mezi průměrnou hodnotou pH vstupního vzorku a všech ostatních vzorků různě starých vermikompostů byl naměřen statisticky významný rozdíl ($p < 0,01$) (tabulka I). Dále byl pozorován mírně signifikantní rozdíl ($p < 0,05$) mezi průměrnou hodnotou pH vermikompostu starého 4 týdny a 12 týdnů starým (vzorek 1M a 3M). Z grafu vyplývá, že žížaly jsou evidentně schopné svým působením změnit kyselé prostředí vzniklé kvašením vína z průměrné hodnoty $3,73 \pm 0,32$ oblasti do oblasti alkalické (pH maximum $8,53 \pm 0,12$) během jednoho měsíce. Poté dochází k postupné stabilizaci kompostu a poklesu pH k neutrální oblasti.

Prudký nárůst pH pozorovaný v experimentu lze pravděpodobně připsat hlavně aeraci kyselého substrátu a souvisejícímu zvýšení mikrobiální aktivity (Sundberg & Jönsson, 2008). Žížaly si rychlou expanzí skrz nově zpřístupněný materiál vytváří chodbičky a zavádí tak do nich vzduch, díky čemuž mají mikroorganismy účastníci se aerobních rozkladných procesů větší přísun kyslíku. O relativně extrémních změnách pH, jako byly zaznamenány v tomto experimentu, existuje v kontextu vermikompostování velice málo dat. Sundberg a Jönsson ukázali ve své studii podobné zvýšení pH v řádu dnů, kterého docílili aerací kompostovací haldy. V některých měřeních dosáhlo pH podobně vysokých hodnot ($> 8,5$). Aerační vliv žížal na substrát je tedy minimálně obdobný mechanizované aeraci použité ve studii Sundberg a Jönsson. Napomáhá tomu skutečnost, že jsou žížaly schopné žít v materiálu s pH v rozmezí

4,5-9 (Ali et al., 2015). Vstupní matoliny měly pH o něco nižší – v průměru 3,73 – nicméně žížaly nebyly ihned vloženy přímo do matolin, ale bylo jim ze začátku dopřáno prostředí malého množství zralejšího kompostu, ze kterého měly možnost se postupně přesunout do matolin. Neutrální až alkalické pH pravděpodobně způsobuje celá řada mechanismů. Studie od Haimi a Huhta přisuzuje neutrální pH produkci amonných kationů při vermikompostování, které zvyšují jeho obsah dusíku, ale zároveň z něj vybírají H^+ kationy, které přispívají ke kyselému pH (Haimi & Huhta, 1987). Kale et al. popisují mechanismus, kterým vápenaté žlázy na povrchu žížal fixují oxid uhličitý ve formě uhličitanu vápenatého a předcházejí tak jeho rozpouštění ve vodě a snížení pH (Kale et al., 1982).

Dále je třeba vysvětlit neutralizaci pH vermikompostu z bazické hodnoty, na kterou se pH v prvním měsíci aerace a intenzivní aktivity žížal a mikroorganismů vyšplhalo. Snížení na finální hodnotu pohybující se okolo neutrálního pH 7 ukázalo několik dalších studií (Chaudhuri et al., 2000; Garg et al., 2006). Chaudhuri et al. zaznamenali změnu z pH 10 na pH 7,59 po 40 dnech vermikompostování. Garg et al. ukázali za dobu 12 týdnů mírnější posun z pH 8,0-7,2 na pH 7,1-6,3. Snížení pH při kompostování přisuzují obě studie tvorbě organických kyselin a CO_2 mikroorganismy, nicméně při srovnání vermikompostu a kontrolního kompostu poukazují Chaudhuri et al. na zřejmý významný příspěvek působení žížal. Jasněmu vysvětlení se nicméně vymyká hodnota pH 8,2, na kterou se vyšplhal čtyřměsíční vermikompost použitý v dodatečné chemické analýze kompostářských parametrů. Tato hodnota neodpovídá trendům pozorovaných ve studiích specificky zaměřených na vermikompostovací experimenty. Částečným vysvětlením by mohla být například klesající hmotnost žížal ve vermikompostéru, způsobená nižší nosnou kapacitou uzavřeného prostředí, ve kterém postupně vyčerpávají živiny (Gómez-Brandón et al., 2020). Spolu s tím by se snižovala i mikrobiální aktivita, která je silně vázaná na aciditu vermikompostu. Mikrobiální aktivita ale v tomto experimentu nebyla měřena, tudíž tato teorie nemůže být podpořena daty. Dalším možným faktorem je jiná metodika této části experimentu.

Míra inhibice klíčivosti semen



Graf 2: Vývoj relativní inhibice/stimulace *H* klíčivosti semen hořčice bílé v závislosti na stáří vermikompostu.

Jak je patrné z Grafu 2, míra inhibice růstu kořene bílé se u vstupního vzorku signifikantně liší oproti jednotlivým vermikompostům 1M, 2M a 3M ($p < 0,01$) (tabulka II). Z Grafu 2 je patrné, že pouze u vstupního vzorku matolin je růst kořene inhibován oproti kontrole s destilovanou vodou. Vzorek vermikompostu po 4 týdnech procesu pak vykazuje nejvyšší míru stimulace, která s postupem času slábne. Vzájemné rozdíly mezi vzorky 1M až 3M statisticky významné už nejsou, nicméně se u nich stále projevuje velká míra stimulace klíčení semen, a tedy i podpora růstu rostliny. Z hodnoty korelačního koeficientu mezi naměřenými hodnotami pH a míry stimulace/inhibice růstu kořene semen *Sinapis alba* -0,99875 vyplývá, že inhibice, resp. stimulace klíčivosti úzce negativně koreluje s hodnotou pH. Tento parametr je tedy pravděpodobně jednou z hlavních příčin inhibičního vlivu matolin na růst kořene hořčice bílé.

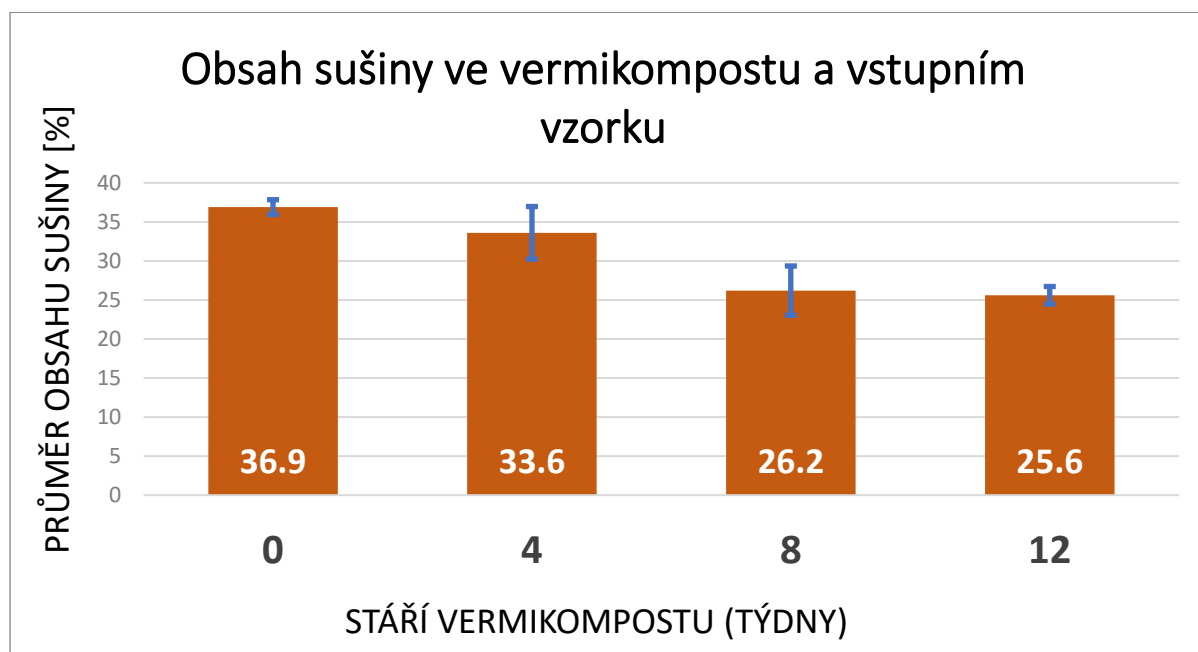
Fytotoxický vliv kyselosti na klíčení a růst rostlin, zvláště lučních a polních druhů (jichž je příkladem *Sinapis alba*) je prokázán studií od Deska et. al., ve které zkoumali vliv kyselého roztoku s podobným pH (okolo 4,0), jako měly matoliny v tomto experimentu (Deska et al., 2011). Postupným poklesem pH do neutrální oblasti tato stimulace také začala klesat. To je jev, který by zasloužil detailnější zkoumání. Případně by bylo zajímavé zopakovat experiment s tím rozdílem, že pH materiálu bude na začátku pokusu vhodným způsobem

upraveno do neutrální oblasti, aby bylo zřejmé, jestli je za původní, silně inhibiční vliv výluhu surových matolin zodpovědná pouze nízká hodnota pH, či se jedná o účinek dalších látek, které jsou v průběhu vermikompostovacího procesu eliminovány.

Podle dostupných studií jsou jednou z hlavních příčin toxického vlivu matolin na rostliny polyfenolické látky ze slupek a semen hroznů (Nogales et al., 2005). Za zmínku stojí i nežádoucí antimikrobiální efekt polyfenolů, kterým snižují mikrobiální aktivitu v půdě (Schmidt et al., n.d.). Mikrobiální aktivita je jedním z klíčových indikátorů kvality půdy (Chen et al., n.d.). V experimentech provedených Nogales et al. a Gómez-Brandón et al. dokázaly žížaly v podobném časovém rozmezí podstatně snížit obsah polyfenolů (Gómez-Brandón et al., 2020; Nogales et al., 2005). Gómez-Brandón et al. ukázali snížení na zhruba třetinovou hodnotu po dvou měsících vermikompostování. Nogales et al. měřili obsah polyfenolů po dobu 4 měsíců u tří různých směsí organických odpadů z výroby vína. Z těch měly matoliny nejnižší obsah polyfenolů. Z hodnoty 2,9 g/kg se snížil obsah na 1,7 g/kg, tedy na zhruba poloviční hodnotu. Je tedy pravděpodobně na místě předpoklad, že by v tomto experimentu bylo možné sledovat podobný vývoj a že by výsledkem byl vermikompost zbavený většiny obsahu polyfenolů.

Polyfenoly mají velký podíl na fytotoxicitě biologického odpadu z vinařství a v této práci nebyly zkoumány. Navazující výzkum (například formou diplomové práce) by se měl tedy zaměřit na zhodnocení vlivu polyfenolických látek na fytotoxicitu vermikompostu, jejich průběžnou analýzu a porovnání průběhu vermikompostovacího procesu a výsledného produktu při zpracování matolin z bílého a červeného vína, které se liší jak vstupním obsahem polyfenolů, tak etanolu – fermentované matoliny z červeného vína mívají více polyfenolů než z bílého (Deng et al., 2011; Victoria et al., n.d.). Vermikompostování snížilo fytotoxické vlastnosti matolin natolik, že vermikompost dokázal prokazatelně stimulovat klíčení semen. Je tudíž možné předpokládat, že se žížalám podařilo současně s optimalizací hodnoty pH významně snížit obsah polyfenolů v matolinách. Dalším faktorem hodným navazujícího výzkumu je průběh mikrobiální aktivity ve zrajícím vermikompostu. U mikrobiální aktivity se předpokládá silná vazba na dostupný kyslík v substrátu, pH substrátu a koncentraci nemineralizovaných organických látek. Mikrobiální aktivita by měla mít podobný průběh jako pH a stimulace růstu kořenů, tedy znatelné zvýšení v prvních několika týdnech (spojené se zvýšeným pH a lepším provzdušněním substrátu) a následný postupný pokles (zapříčiněný menší dostupností živin) (Gómez-Brandón et al., 2020).

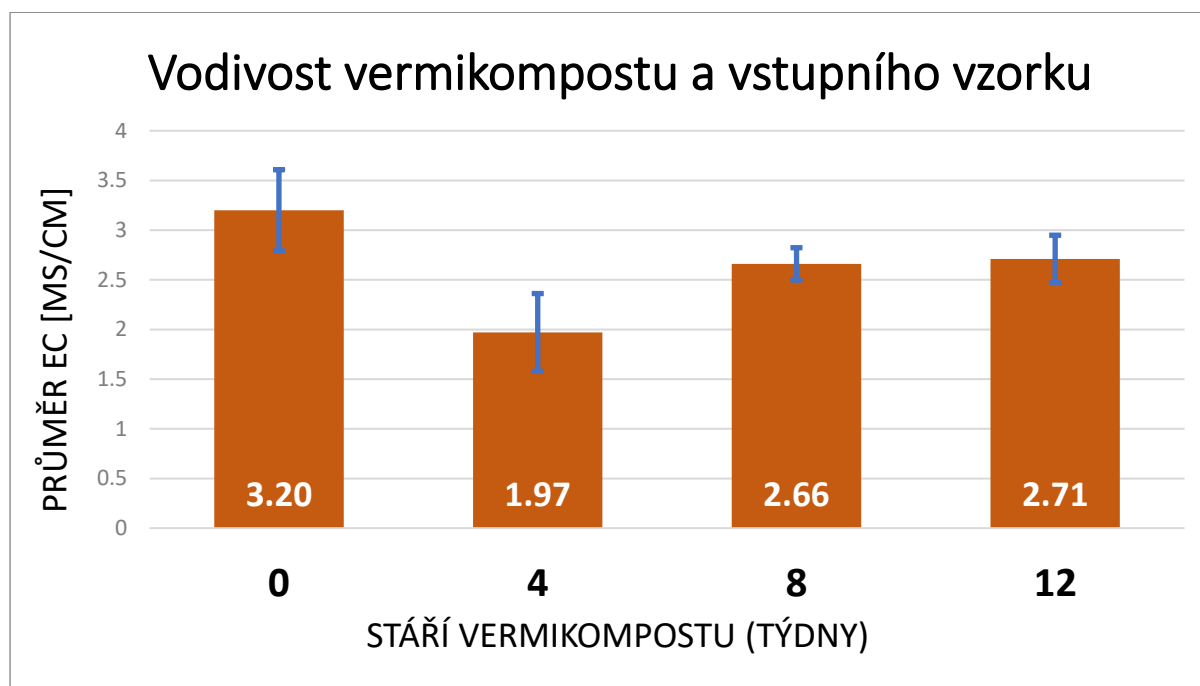
Sušina ve vermikompostu



Graf 3: Průměrné procentuální zastoupení sušiny ve vermikompostu v závislosti na jeho stáří.

Na začátku experimentu byl obsah vermikompostéru vždy zvlhčen 2 l vody. Je logické, že bez další dotace vody do systému hmotnostní procento obsahu sušiny ve vermikompostu s jeho stářím postupně klesá (viz. Graf 3). Mezi páry vzorků s rozdílem alespoň 8 týdnů (tedy V/2M, V/3M a 1M/3M) je rozdíl vždy signifikantní. Největší posun v obsahu sušiny nastal mezi jeden měsíc starým a dva měsíce starým vermikompostem, což je také jediný pár vzorků s tímto časovým rozdílem, který má alespoň slabě signifikantní rozdíl v sušině.

Vodivost vermikompostu



Graf 4: Průměrná naměřená hodnota vodivosti v závislosti na stáří vermikompostu.

Vybrané kompostářské parametry vermikompostu

Z grafu 4 vyplývá, že hodnota vodivosti výluhu matolin, respektive vermikompostu z tohoto odpadu měřená v mS/cm, prošla vývojem velice se lišícím od ostatních měřených parametrů. Po prvním měsíci klesla vodivost zhruba na polovinu (slabě signifikantní rozdíl s hladinou $p < 0,05$, za další měsíc se ale vrátila vodivost na asi 80 % původní hodnoty (jediný signifikantní rozdíl, s hladinou $p < 0,01$). Vodivost postupně po třech měsících vermikompostování opět vzrostla téměř na původní hodnotu vstupních matolin.

V tabulce 1 jsou shrnuty naměřené hodnoty vybraných parametrů, které jsou uváděny jako jakostní znaky vermikompostu. U zralého čtyřměsíčního matolinového vermikompostu byl naměřen přibližně poloviční poměr C:N oproti vstupnímu materiálu. Hodnota pH po čtyřech měsících byla 8,2. Důvod tohoto odlišného výsledku než u předchozí části experimentu, je pravděpodobně jiná metodika měření. U všech sledovaných parametrů, kromě obsahu oxidovatelného uhlíku (spalitelné látky), se jejich obsah zvýšil, což je indikátor mineralizace organických látek a stabilizace substrátu. Při srovnání výsledků s hodnotami doporučenými pro vermikompost technickou normou ČSN 465736 se jeví všechny stanovované hodnoty jako přijatelné, s výjimkou parametrů popisujících obsah celkového dusíku (N_{celk}) a poměr C:N (viz tabulka č. 1). S delší dobou vermikompostování by se tyto dva parametry pravděpodobně více přiblížily doporučené hodnotě. Nedostatek dusíku ve

vermikompostu ovšem nemusí velký problém pro zemědělské využití, existuje totiž velká řada způsobů, jak dopravit do půdy dusíkaté sloučeniny, počínaje dusíkatými hnojivy a konče rostlinami schopnými fixovat vzdušný dusík (např. leguminózy).

Tabulka 1: Výsledky chemické analýzy vstupních matolin a čtyřměsíčního vermikompostu. Sloupec „Doporučená hodnota“ odpovídá doporučeným hodnotám měřených kvalitativních znaků dle technické normy ČSN 465736. Zeleně značené hodnoty splňují normu, červeně značené hodnoty normu nesplňují.

Parametr	Jednotka	Vstup	Výstup	Doporučená hodnota
Sušina	%	42,9 ± 0,8	25,5 ± 0,7	-
pH	-	3,9 ± 0,0	8,2 ± 0,05	6,0-9,0
Oxid fosforečný (P ₂ O ₅)	mg/kg suš.	4 480 ± 90	12 800 ± 327	≥ 6000
Oxid draselný (K ₂ O)	mg/kg suš.	14 550 ± 350	34 767 ± 818	≥ 10 000
Dusík celkový (N _{celk})	mg/kg suš.	3 360 ± 70	6 683 ± 245	≥ 10 000
Nerozložitelné příměsi	%	< 2	< 2	≤ 2
Spalitelné látky	%	91,3 ± 1,05	89,8 ± 0,2	≥ 35,0
Poměr C:N	-	136 ± 1	66,9 ± 2	≤ 30
Vodivost	mS/m	85,4 ± 4,5	63,2 ± 5,2	-
Amoniakální dusík (N-NH ₄ ⁺)	mg/kg suš.	0,3 ± 0,1	27,1 ± 33,2	-
Dusičnanový dusík (N-NO ₃ ⁻)	mg/kg suš.	< 1,0	288,3 ± 63	-

Závěr

V rešeršní části práce byla popsána problematika nakládání s odpady vznikajícími při výrobě vína, zvláště pak s matolinami, které vznikají při lisování vinných hroznů. Experiment, na kterém tato práce stojí, měl za účel zjistit časovou náročnost vermikompostování matolin. Záměrem bylo zjistit, za jak dlouhou dobu budou matoliny z výroby červeného vína vermikompostováním transformovány z potenciálně toxického odpadu na hodnotné hnojivo.

Po umístění první násady žížal do vermikompostéru došlo k úhynu všech jedinců vlivem přítomného etanolu. Je to dáno tím, že matoliny z výroby červeného vína vznikají lisováním již zfermentovaných hroznů. Matoliny z výroby červeného vína je tedy nutné ponechat několik týdnů odkryté, aby byly zbaveny zbytkového alkoholu z výroby vína. Poté je odpad bez problémů osídlen žížalami a již po jednom měsíci vermikompostování došlo k signifikantnímu zvýšení pH materiálu z výrazně kyselého na slabě alkalické a mladý vermikompost vykazoval namísto původní inhibice klíčivosti semen hořčice bílé naopak výraznou stimulaci. Na mitigaci fyto toxických vlastností matolin tedy stačí jeden měsíc vermikompostování. Po třech měsících vermikompostování měl vermikompost téměř neutrální pH a stále vykazoval efekt stimulace klíčení semen. Dle dostupné literatury jsou tři měsíce také dostačující pro významné snížení obsahu polyfenolů ve vermikompostu. Navazující diplomová práce by ověřila tento předpoklad laboratorním měřením obsahů polyfenolů. Čtyři měsíce starý vermikompost v dodatečné chemické analýze vykazoval ve srovnání s vstupními matolinami vyšší obsah všech měřených makronutrientů a nižší poměr C:N. Vermikompost tři až čtyři měsíce starý je tedy již pravděpodobně použitelný jako nezávadné a na živiny bohaté organické hnojivo.

Seznam použité literatury

- Ali, U., Sajid, N., Khalid, A., Riaz, L., Rabbani, M. M., Syed, J. H., & Malik, R. N. (2015). A review on vermicomposting of organic wastes. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 34(4), 1050–1062. <https://doi.org/10.1002/EP.12100>
- Álvarez-Casas, M., García-Jares, C., Llompарт, M., & Lores, M. (2014). Effect of experimental parameters in the pressurized solvent extraction of polyphenolic compounds from white grape marc. *Food Chemistry*, 157, 524–532. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.02.078>
- Arancon, N. Q., Galvis, P., Edwards, C., & Yardim, E. (2003). The trophic diversity of nematode communities in soils treated with vermicompost: The 7th international symposium on earthworm ecology · Cardiff · Wales · 2002. *Pedobiologia*, 47(5–6), 736–740. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00752>
- Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., & Mavromatis, A. (2006). Wine waste treatment methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(10), 1117–1151. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2005.01112.X>

- Barbera, A. C., Maucieri, C., Cavallaro, V., Ioppolo, A., & Spagna, G. (2013). Effects of spreading olive mill wastewater on soil properties and crops, a review. *Agricultural Water Management*, 119, 43–53. <https://doi.org/10.1016/J.AGWAT.2012.12.009>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R. V., Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.07.017>
- Biruntha, M., Karmegam, N., Archana, J., Karunai Selvi, B., John Paul, J. A., Balamuralikrishnan, B., Chang, S. W., & Ravindran, B. (2020). Vermiconversion of biowastes with low-to-high C/N ratio into value added vermicompost. *Bioresource Technology*, 297. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.122398>
- Bustamante, M., Said-Pullicino, D., Management, C. P.-W., & 2010, undefined. (n.d.). Influences of winery–distillery waste compost stability and soil type on soil carbon dynamics in amended soils. *Elsevier*. Retrieved 12 August 2023, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X10001819>
- Chaudhuri, P. S., Pal, T. K., Bhattacharjee, G., & Dey, S. K. (2000). Chemical changes during vermicomposting (*Perionyx excavatus*) of kitchen wastes. *Tropical Ecology*, 41(1), 107–110.
- Chen, G., Zhu, H., microbiology, Y. Z.-R. in, & 2003, undefined. (n.d.). Soil microbial activities and carbon and nitrogen fixation. *Elsevier*. Retrieved 11 August 2023, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250803000822>
- Christ, K., Production, R. B.-J. of C., & 2013, undefined. (n.d.). Critical environmental concerns in wine production: an integrative review. *Elsevier*. Retrieved 12 August 2023, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652613002084>
- Deng, Q., Penner, M. H., & Zhao, Y. (2011). Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International*, 44(9), 2712–2720. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.05.026>
- Deska, J., Jankowski, K., ... A. B.-A. S., & 2011, undefined. (2011). Effect of growing medium pH on germination and initial development of some grassland plants. *Agro.Icm.Edu.PLJ Deska, K Jankowski, A Bombik, J JankowskaActa Scientiarum*

- Polonorum. Agricultura, 2011•agro.Icm.Edu.Pl, 10(4), 45–56.*
<https://agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-f3b6c471-94bb-4cb2-b44f-eabef0a5e91e>
- Devesa-Rey, R., Vecino, X., Varela-Alende, J. L., Barral, M. T., Cruz, J. M., & Moldes, A. B. (2011). Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste Management, 31(11), 2327–2335.* <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.06.001>
- Domínguez, J., Aira, M., & Gómez-Brandón, M. (2010). Vermicomposting: Earthworms enhance the work of microbes. *Microbes at Work: From Wastes to Resources, 93–114.* https://doi.org/10.1007/978-3-642-04043-6_5/COVER
- Edwards, C. A., & Arancon, N. Q. (2022). The Use of Earthworms in Organic Waste Management and Vermiculture. *Biology and Ecology of Earthworms, 467–527.* https://doi.org/10.1007/978-0-387-74943-3_14
- Eisenhauer, N. (2010). The action of an animal ecosystem engineer: Identification of the main mechanisms of earthworm impacts on soil microarthropods. *Pedobiologia, 53(6), 343–352.* <https://doi.org/10.1016/J.PEDOBI.2010.04.003>
- Encinar, J. M., Beltrán, F. J., Bernalte, A., Ramiro, A., & González, J. F. (1996). Pyrolysis of two agricultural residues: Olive and grape bagasse. Influence of particle size and temperature. *Biomass and Bioenergy, 11(5), 397–409.* [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(96\)00029-3](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(96)00029-3)
- FAO. (2021). World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021. In *FAO Statistical Yearbook – World Food and Agriculture*. FAO. <https://doi.org/10.4060/CB4477EN>
- Fontana, A., Antonioli, A., and, R. B.-J. of agricultural, & 2013, undefined. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *ACS Publications, 61(38), 8987–9003.* <https://doi.org/10.1021/jf402586f>
- Fontana, A. R., Antonioli, A., & Bottini, R. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(38), 8987–9003.* https://doi.org/10.1021/JF402586F/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2013-02586F_0003.GIF

- Fuhrman, B., Volkova, N., Suraski, A., & Aviram, M. (2001). White wine with red wine-like properties: Increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3164–3168.
<https://doi.org/10.1021/JF001378J/ASSET/IMAGES/LARGE/JF001378JF00003.JPEG>
- Garg, V. K., Kaushik, P., & Dilbaghi, N. (2006). Vermiconversion of wastewater sludge from textile mill mixed with anaerobically digested biogas plant slurry employing *Eisenia foetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65(3), 412–419.
<https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2005.03.002>
- Gómez-Brandón, M., Lores, M., Insam, H., & Domínguez, J. (2019). Strategies for recycling and valorization of grape marc. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(4), 437–450.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1555514>
- Gómez-Brandón, M., Lores, M., Martínez-Cordeiro, H., & Domínguez, J. (2020). Effectiveness of vermicomposting for bioconversion of grape marc derived from red winemaking into a value-added product. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(27), 33438–33445. <https://doi.org/10.1007/S11356-019-04820-Z/FIGURES/3>
- Haimi, J., & Huhta, V. (1987). Comparison of composts produced from identical wastes by “vermistabilization” and conventional composting. *Pedobiologia*, 30(2), 137–144.
[https://doi.org/10.1016/S0031-4056\(23\)00364-5](https://doi.org/10.1016/S0031-4056(23)00364-5)
- Hanč, A., & Plíva, P. (2013). *Vermikompostování bioodpadů - Certifikovaná metodika*.
<https://metodiky.agrobiologie.cz/PDF/KAVR/VERMIKOMPOSTOVANI-BIOODPADU.pdf>
- Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(6), 238–243.
[https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)01861-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)01861-9)
- Insam, H., Gómez-Brandón, M., Biochemistry, J. A.-S. B. and, & 2015, undefined. (n.d.). Manure-based biogas fermentation residues—friend or foe of soil fertility? *Elsevier*. Retrieved 14 August 2023, from
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071715000516>

- Kale, R., Bano, K., & RV, K. (1982). *Potential of Perionyx excavatus for utilizing organic wastes*. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCALZOO LINEINRA83X0078260>
- Kameyama, K., Miyamoto, T., Shiono, T., & Shinogi, Y. (2012). Influence of Sugarcane Bagasse-derived Biochar Application on Nitrate Leaching in Calcaric Dark Red Soil. *Journal of Environmental Quality*, 41(4), 1131–1137. <https://doi.org/10.2134/JEQ2010.0453>
- Kammerer, D. R., Schieber, A., & Carle, R. (2005). Characterization and recovery of phenolic compounds from grape pomace - A review. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 79(3), 189–196.
- Lapuerta, M., Hernández, J. J., Pazo, A., & López, J. (2008). Gasification and co-gasification of biomass wastes: Effect of the biomass origin and the gasifier operating conditions. *Fuel Processing Technology*, 89(9), 828–837. <https://doi.org/10.1016/J.FUPROC.2008.02.001>
- Liew, C. S., Yunus, N. M., Chidi, B. S., Lam, M. K., Goh, P. S., Mohamad, M., Sin, J. C., Lam, S. M., Lim, J. W., & Lam, S. S. (2022). A review on recent disposal of hazardous sewage sludge via anaerobic digestion and novel composting. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 126995. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.126995>
- Moujahed, N., Kayouli, C., Thewis, A., ... Y. B.-A. feed science and, & 2000, undefined. (2000). Effects of multinutrient blocks and polyethylene glycol 4000 supplies on intake and digestion by sheep fed *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage-based diets. *Elsevier*, 88. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037784010000211X>
- Muhlack, R. A., Potumarthi, R., & Jeffery, D. W. (2018). Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. *Waste Management*, 72, 99–118. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.11.011>
- Munroe, G. (2007). Manual of on-farm vermicomposting and vermiculture. *Organic Agriculture Centre of Canada*. https://www.wormfarmingsecrets.com/downloads/Vermiculture_FarmersManual_gm.pdf

- Negro, C., Tommasi, L., & Miceli, A. (2003). Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, 87(1), 41–44.
[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00202-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00202-X)
- Nogales, R., Cifuentes, C., & Benítez, E. (2005). Vermicomposting of winery wastes: A laboratory study. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 40(4), 659–673.
<https://doi.org/10.1081/PFC-200061595>
- OIV. (2022). *World Wine Production Outlook - OIV First Estimates*.
https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/EN_OIV_2022_World_Wine_Production_Outlook_1.pdf
- Ros, C. Da, Cavinato, C., Bolzonella, D., Bioenergy, P. P.-B. and, & 2016, undefined. (n.d.). Renewable energy from thermophilic anaerobic digestion of winery residue: Preliminary evidence from batch and continuous lab-scale trials. *Elsevier*. Retrieved 14 August 2023, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953416301696>
- Santana, N. A., Jacques, R. J. S., Antonioli, Z. I., Martínez-Cordeiro, H., & Domínguez, J. (2020). Changes in the chemical and biological characteristics of grape marc vermicompost during a two-year production period. *Applied Soil Ecology*, 154.
<https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2020.103587>
- Saranraj, P., Sivasakthivelan, P., & Naveen, M. (2017). *Fermentation of fruit wine and its quality analysis: A review*. www.aujst.com
- Schmidt, M., Kreinberg, A., ... J. G.-P. physiology and, & 2013, undefined. (n.d.). Soil microbial communities respond differently to three chemically defined polyphenols. *Elsevier*. Retrieved 11 August 2023, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942813000880>
- Senapati, B. K., & Julka, J. M. (1993). Selection of suitable vermicomposting species under Indian conditions. *Zoological Survey of India*, 113–115.
<https://faunaofindia.nic.in/PDFVolumes/spb/022/index.pdf#page=118>
- Simsek-Ersahin, Y. (2010). *The Use of Vermicompost Products to Control Plant Diseases and Pests* (A. Karaca, Ed.; pp. 191–213). https://doi.org/10.1007/978-3-642-14636-7_12

Sundberg, C., & Jönsson, H. (2008). Higher pH and faster decomposition in biowaste composting by increased aeration. *Waste Management*, 28(3), 518–526.

<https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2007.01.011>

Victoria, A., Bratu, M. M., Popoviciu, D. R., Artem, V., Negreanu-Pirjol, T., Ranca, A., Ciobanu, C., Moldovan, L., Vasile, M., & Negreanu-Pirjol, B.-S. (n.d.). Total phenolic content correlated with antioxidant activity of some grape pomace biomass hydroalcoholic extracts, white and red varieties. *Researchgate.Net*, 83(3), 2021. Retrieved 14 August 2023, from https://www.researchgate.net/profile/Dan-Razvan-Popoviciu/publication/354312888_TOTAL_PHENOLIC_CONTENT_CORRELATED_WITH_ANTIOXIDANT_ACTIVITY_OF_SOME_GRAPE_POMACE_BIOMASS_HYDROALCOHOLIC_EXTRACTS_WHITE_AND_RED_VARIETIES/links/6130a3e02b40ec7d8bdcf36f/TOTAL-PHENOLIC-CONTENT-CORRELATED-WITH-ANTIOXIDANT-ACTIVITY-OF-SOME-GRAPE-POMACE-BIOMASS-HYDROALCOHOLIC-EXTRACTS-WHITE-AND-RED-VARIETIES.pdf

Wang, L., Weller, C. L., Jones, D. D., & Hanna, M. A. (2008). Contemporary issues in thermal gasification of biomass and its application to electricity and fuel production. *Biomass and Bioenergy*, 32(7), 573–581.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2007.12.007>

WINET. (2018). *Wine Sector in the Republic of Moldova*. https://blacksea-cbc.net/wp-content/uploads/2020/02/BSB638_WINET_Study-on-the-wine-sector-in-the-Republic-of-Moldova_EN.pdf

Internetové zdroje

How are Worm Tea and Worm Leachate Different? (2023, April 4). Uncle Jim's Worm Farm. <https://unclejimswormfarm.com/how-are-worm-tea-and-worm-leachate-different/>

Sherman, R. (2021, September 28). *Raising Earthworms (Eisenia fetida) for a Commercial Enterprise*. NC State Extension Publications. <https://content.ces.ncsu.edu/raising-earthworms-successfully>

Pernica, J. (2016, October 29). *Výroba vína krok za krokem - Vinovníci.cz*. Vinovnici.Cz. <https://www.vinovnici.cz/clanek/30-vyroba-vina-krok-za-krokem>

Přílohy

Tabulky

Tabulka I: Statistické srovnání měření pH vermikompostu různého stáří.

Srovnávané vzorky		Signifikance rozdílu
V	1M	0,0010053
V	2M	0,0010053
V	3M	0,0010053
1M	2M	0,7862579
1M	3M	0,0155943
2M	3M	0,0540603

Tabulka I: Signifikance rozdílu hodnot pH z jednotlivých měření, získaná post-hoc Tukeyho testem. Srovnávané vzorky jsou značené V (vstupní vzorek matoliny) a 1M/2M/3M (vzorky vermikompostu staré jeden, dva a tři měsíce).

Srovnávané vzorky		Signifikance rozdílu
V	1M	0,0010053
V	2M	0,0010053
V	3M	0,0024896
1M	2M	0,8999947
1M	3M	0,1408566
2M	3M	0,1684684

Tabulka III: Signifikance rozdílu hodnot pH z jednotlivých měření, získaná post-hoc Tukeyho testem. Srovnávané vzorky jsou značeny V (vstupní vzorek matoliny) a 1M/2M/3M (vzorky vermikompostu staré jeden, dva a tři měsíce).

Srovnávané vzorky		Signifikance rozdílu
V	1M	0,3287345
V	2M	0,0010053
V	3M	0,0024896
1M	2M	0,0157681
1M	3M	0,0095014
2M	3M	0,8999947

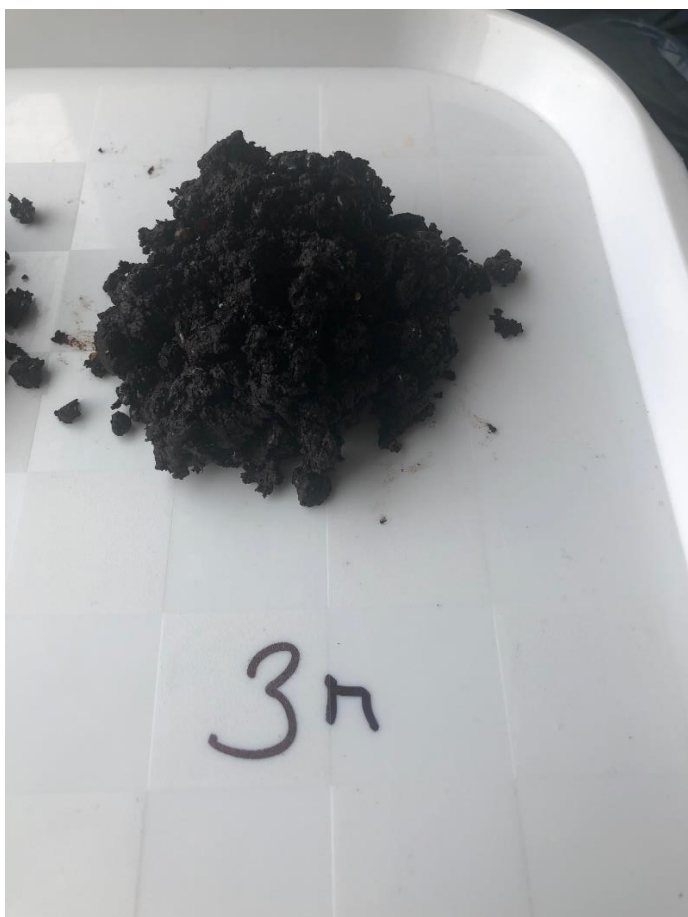
Tabulka IV: Signifikance rozdílu hodnot EC z jednotlivých měření, získaná post-hoc Tukeyho testem. Srovnávané vzorky jsou značeny V (vstupní vzorek matoliny) a 1M/2M/3M (vzorky vermikompostu staré jeden, dva a tři měsíce).

Srovnávané vzorky		Signifikance rozdílu
V	1M	0,0062519
V	2M	0,8860724
V	3M	0,2412409
1M	2M	0,0156007
1M	3M	0,1035985
2M	3M	0,5507138

Fotografie



Obrázek I: Vzorek vstupních matolin z výroby červeného vína



Obrázek II: Vzorek tři měsíce starého vermikompostu



Obrázek III: Tři vermikompostovací soustavy s různým stářím vermikompostu