



EPS biotechnology, s.r.o.

V Pastouškách 205

686 04 KUNOVICE

www.epsbiotechnology.cz

T A

Tento projekt je spolufinancován se státní podporou
Technologické agentury ČR a Ministerstva životního
prostředí v rámci **Programu Prostředí pro život 2.**

Č R

www.tacr.cz

www.mzp.cz

SS07020305

**„Využití mikrořas k redukci množství antibiotik,
rezistentních bakterií a genů rezistence v digestátu ze
zemědělských bioplynových stanic“**

ODBORNÁ ETAPOVÁ ZPRÁVA

Červenec 2026

výtisk č.

1	2	3	4
---	---	---	---

EPS biotechnology, s.r.o.

V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice

IČO: 26295059, DIČ: CZ26295059

Tel.: 572 503 019, e-mail: eps@epsbiotechnology.cz

<http://www.epsbiotechnology.cz>

Zapsána v OR vedeného u KS v Brně, oddíl C, vložka 42243





EPS biotechnology, s.r.o.

V Pastouškách 205

686 04 KUNOVICE

www.epsbiotechnology.cz

Akce: SS07020305, „Využití mikrořas k redukci množství antibiotik, rezistentních bakterií a genů rezistence v digestátu ze zemědělských bioplynových stanic“

Etapa: Odborná zpráva za 3. etapu projektu

Předkládá: **EPS biotechnology, s.r.o.**
Zapsána u KS v Brně v odd. C, vl. 42243
V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice
Tel./fax: +420 572 503 019
IČO: 26 29 50 59, DIČ: CZ 26 29 50 59
<http://www.epsbiotechnology.cz>

Další účastníci: ALS Czech Republic, s.r.o.
Univerzita Pardubice
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Vypracovali: Ing. Martina Siglová, Ph.D.
Ing. Alice Vagenknechtová, Ph.D.
Ing. Jiří Palarčík, Ph.D.
Prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.

Statutární zástupce EPS biotechnology, s.r.o.: Ing. Miroslav Minařík

V Kunicích, 10. 7. 2026

EPS biotechnology, s.r.o.

V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice

IČO: 26295059, DIČ: CZ26295059

Tel.: 572 503 019, e-mail: eps@epsbiotechnology.cz

<http://www.epsbiotechnology.cz>

Zapsána v OR vedeného u KS v Brně, oddíl C, vložka 42243



OBSAH:

1	ÚVOD	2
1.1	ETAPA 3 (01/2026 - 06/2026)	2
1.1.1	CÍLE NÁVRHU PROJEKTU	2
1.1.2	HLAVNÍ ČINNOSTI A CÍLE DLE NÁVRHU PROJEKTU NA ROK 2026	2
2	POPIS ŘEŠENÍ PROJEKTU	3
2.1	AKTIVITA T3.1, T3.2 A T3.3 - ODBĚR VZORKŮ DIGESTÁTŮ Z RŮZNÝCH BIOPLYNOVÝCH STANIC A JEJICH NÁSLEDNÁ ANALÝZA PO CHEMICKÉ, MIKROBIOLOGICKÉ A MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÉ STRÁNCE	3
2.2	AKTIVITA T3.4 OPTIMALIZACE A OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE PRO DOSAŽENÍ VÝSLEDKU SS07020305-V1	14
2.3	AKTIVITA T 3.5 DOKONČENÍ SBĚRU DAT DO DATABÁZE, JEJÍ ZVEŘEJNĚNÍ.....	22
2.4	AKTIVITA T 3.6 VYPRACOVÁNÍ PODKLADŮ PRO TECH. DOKUMENTACI VÝSLEDKU SS07020305-V1	22
2.5	SHRNUTÍ PLNĚNÍ AKTIVIT TŘETÍ ETAPY PROJEKTU	23
2.6	VÝSLEDKY PROJEKTU	23
3	VYNALOŽENÉ NÁKLADY NA PROJEKT	24
4	ŘEŠITELSKÉ TÝMY	26
5	NAPLŇOVÁNÍ PROGRAMU PPŽ	27
6	FINANCOVÁNÍ Z NPO	30

Rozdělovník

- 1 EPS biotechnology – archiv
- 2 ALS Czech Republic, s.r.o.
- 3 Univerzita Pardubice
- 4 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

1 ÚVOD

Tato výzkumná zpráva předkládá stručný a přehledný výčet prací provedených při řešení projektu SS07020305.

1.1 ETAPA 3 (01/2026 - 06/2026)

1.1.1 CÍLE NÁVRHU PROJEKTU

Hlavním cílem tohoto projektu je zjistit typy a koncentrace veterinárních antibiotik v surovém digestátu, v kultivačním médiu pro pěstování mikrořas vytvořeném na bázi digestátu a v kapalném effluentu z fotobioreaktoru. Dále pak porovnat hodnoty koncentrací těchto látek pro digestáty z různých bioplynových stanic. Totéž pro přítomnost rezistentních bakterií a obsah vybraných genů pro antibiotickou rezistenci. Dalšími cíli jsou pak:

- nalézt vhodnou recepturu živného média na bázi digestátu pro kultivaci vhodných mikrořas,
- nalézt vhodné mikrořasy s maximální dekontaminační schopností a zajistit vysokou výtěžnost biomasy,
- vyvinout technologii zpracování digestátu pomocí kultivace mikrořas s důrazem na minimalizaci výše uvedených kontaminantů,
- předpoklad využití vzniklé biomasy v procesu anaerobní digesce, v duchu oběhového hospodářství.

1.1.2 HLAVNÍ ČINNOSTI A CÍLE DLE NÁVRHU PROJEKTU NA ROK 2026

Třetí etapa projektu (01 – 06/2026) byla dle návrhu projektu zaměřena zejména na tyto činnosti:

Optimalizace parametrů technologie odstraňování mikropolutantů z digestátu ve čtvrtprovozním fotobioreaktoru, dosažení všech výsledků projektu.

Činnosti:

T3.1 Pokračování odběrů vzorků digestátu

T3.2 Pokračující chemické analýzy digestátů

T3.3 Mikrobiologické a molekulárně-biologické analýzy

T3.4 Optimalizace a ověření technologie pro dosažení výsledku SS07020305-V1

T3.5 Dokončení sběru dat do databáze, její zveřejnění

T3.6 Vypracování podkladů pro tech. dokumentaci výsledku SS07020305-V1

2 POPIS ŘEŠENÍ PROJEKTU

Na základě souhrnného vyhodnocení výsledků dosažených v I. a II. etapě řešení projektu byla na počátku třetí etapy provedena interní odborná reflexe dosavadního postupu řešení, včetně zhodnocení funkčnosti navržených experimentálních přístupů, kvality získaných dat a relevance dosažených výsledků ve vztahu k původně definovaným cílům projektu. Vyhodnocení probíhalo formou odborných konzultací mezi zapojenými řešitelskými pracovišti a zahrnovalo jak laboratorní, analytickou, tak i technologickou část řešení. Na základě této reflexe byly identifikovány klíčové poznatky, limitující faktory a rizika dalšího postupu, které byly následně zohledněny při optimalizaci plánovaných činností III. etapy projektu.

2.1 AKTIVITA T3.1, T3.2 A T3.3 - ODBĚR VZORKŮ DIGESTÁTŮ Z RŮZNÝCH BIOPLYNOVÝCH STANIC A JEJICH NÁSLEDNÁ ANALÝZA PO CHEMICKÉ, MIKROBIOLOGICKÉ A MOLEKULÁRNĚ-BIOLOGICKÉ STRÁNCE

V první polovině roku 2026 proběhlo poslední kolo odběrů digestátů na několika vybraných zemědělských bioplynových stanicích (dále jen BPS) a dále na jedné bioplynové stanici při městské ČOV. Byl realizován jarní odběr, kdy lze předpokládat, že je spotřeba antibiotik v zemědělských podnicích nižší. V rámci jarního odběru byly digestáty odebírány na zúženém počtu bioplynových stanic – konkrétně se jednalo o BPS označované v rámci našeho projektu číslem 1, 2, 6, 7 a 11 (z toho byly 4 zemědělské a 1 BPS při ČOV).

U všech digestátů byla provedena analýza fyzikálně-chemických parametrů relevantních pro plánovanou kultivaci řas.

U všech digestátů byla provedena analýza fyzikálně-chemických parametrů relevantních pro plánovanou kultivaci řas, dále byl proveden mikrobiologický rozbor, a to jak klasickými kultivačními metodami, tak pokročilými molekulárně-genetickými metodami.

V následujících tabulkách jsou shrnuty jednotlivé vzorky digestátů typově a dále parametricky.

Tabulka 1 Značení digestátů a typ BPS

Číslo označení digestátu	Rok a četnost odběrů	Typ BPS	Vzorek	Substrát
1	2x2024, 2x2025, 1x2026	ČOV	Digestát	směs primárního a aktivovaného kalu
2	2x2024, 2x2025, 1x2026	zemědělská	Digestát	keřda prasat, kukuřice
3	2x2024	ČOV	Digestát	směs primárního a aktivovaného kalu
4	2x2024	zemědělská	Digestát	keřda skotu, hnůj, zbytky krmiv, odpady z výroby, kukuřice
5	2x2024	zemědělská	Digestát	keřda skotu, kukuřice
6	2x2024, 2x2025, 1x2026	zemědělská	Digestát	kravská keřda, kukuřičná siláž, travní senáž
7	2x2024, 2x2025, 1x2026	zemědělská	Digestát	kravská keřda, kukuřičná siláž, travní senáž, jádro
8	2x2024	zemědělská	Digestát	*
9	2x2024	ČOV	Digestát	směs primárního a aktivovaného kalu
10	2x2024	ČOV	Digestát	směs primárního a aktivovaného kalu, příležitostně externí substrát
11	2x2024, 2x2025, 1x2026	zemědělská	Digestát	*
12	1x2024	zemědělská	Digestát	kukuřice, siláž, senáž, kravský a koňský hnůj, biologický rozložitelný odpad
13	1x2024	zemědělská	fermentát	kukuřice, siláž, senáž, kravský a koňský hnůj, biologický rozložitelný odpad

Tabulka 2 Fyzikálně chemické parametry digestátů odebraných v roce 2026

Jarní odběr (květen 2026)									
Digestát č.	pH	vodivost (mS/cm)	CHSK (mg/l)	TOC (mg/l)	Cl ⁻ (mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	SO ₄ ²⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	N-NH ₄ ⁺ (mg/l)
1	7,7	4,9	351,4	89,8	180	172	20,3	42,9	487,4

2	8,2	19,9	11409	5367	1166,9	88,4	25,6	<10	2866,4
6	8,2	20,5	9849	3815	1255,7	30,4	62,9	<10	2200,3
7	8,1	21,2	11209	4439	1224,6	40,1	44,4	<10	2425
11	8,0	20,6	11509	4739	1152,8	57,6	25,2	<10	2230,8

Kovy

Koncentrace prvků v páté vzorkovací kampani digestátů (viz Tab. 3) opět potvrzují typické složení kapalně frakce digestátu, kde dominují makroprvky K, Mg a Na, zatímco stopové kovy se vyskytují v řádově nižších koncentracích. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány pro K (až $\sim 1.55 \times 10^5$ $\mu\text{g/kg}$), Mg (až $\sim 1.84 \times 10^5$ $\mu\text{g/kg}$) a Na (až $\sim 2.43 \times 10^4$ $\mu\text{g/kg}$), což odpovídá hodnotám uváděným ve studii Kadam et al.¹, která uvádí, že Fe, Cu, Zn a Ni jsou běžně přítomné ve významných koncentracích v digestátu a jejich výskyt je úzce spjat s použitým substrátem a průběhem anaerobní digesce. V této sérii Fe dosahuje až $\sim 2.7 \times 10^4$ $\mu\text{g/kg}$, Zn $\sim 10^3$ $\mu\text{g/kg}$ a Cu $\sim 10^3$ $\mu\text{g/kg}$, což dobře koresponduje s publikovanými daty. Rovněž přítomnost prvků jako Cr, Pb nebo As v řádu desítek až stovek $\mu\text{g/kg}$ odpovídá experimentálním studiím, například Baldasso et al.², kde byly tyto prvky identifikovány jako běžná součást digestátu. Variabilita mezi vzorky (např. Mg: 1.1×10^4 až 1.8×10^5 $\mu\text{g/kg}$) je opět v souladu s literaturou a odráží heterogenitu substrátu i procesních podmínek. Dosažené výsledky jsou přehledně znázorněny na Obrázcích 1 a 2. (Baldasso et al., 2023²; Kadam et al., 2022¹)

¹ Kadam, R., Khanthong, K., Jang, H., Lee, J., & Park, J. (2022). Occurrence, Fate, and Implications of Heavy Metals during Anaerobic Digestion: A Review. *Energies*, 15(22). <https://doi.org/10.3390/en15228618>

² Baldasso, V., Bonet-Garcia, N., Sayen, S., Guillon, E., Frunzo, L., Gomes, C. A. R., Alves, M. J., Castro, R., Mucha, A. P., & Almeida, C. M. R. (2023). Trace metal fate in soil after application of digestate originating from the anaerobic digestion of non-source-separated organic fraction of municipal solid waste. *Frontiers in Environmental Science*, Volume 10-2022. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.1007390>

Tabulka 3 Naměřené hodnoty vybraných prvků pomocí ICP-MS

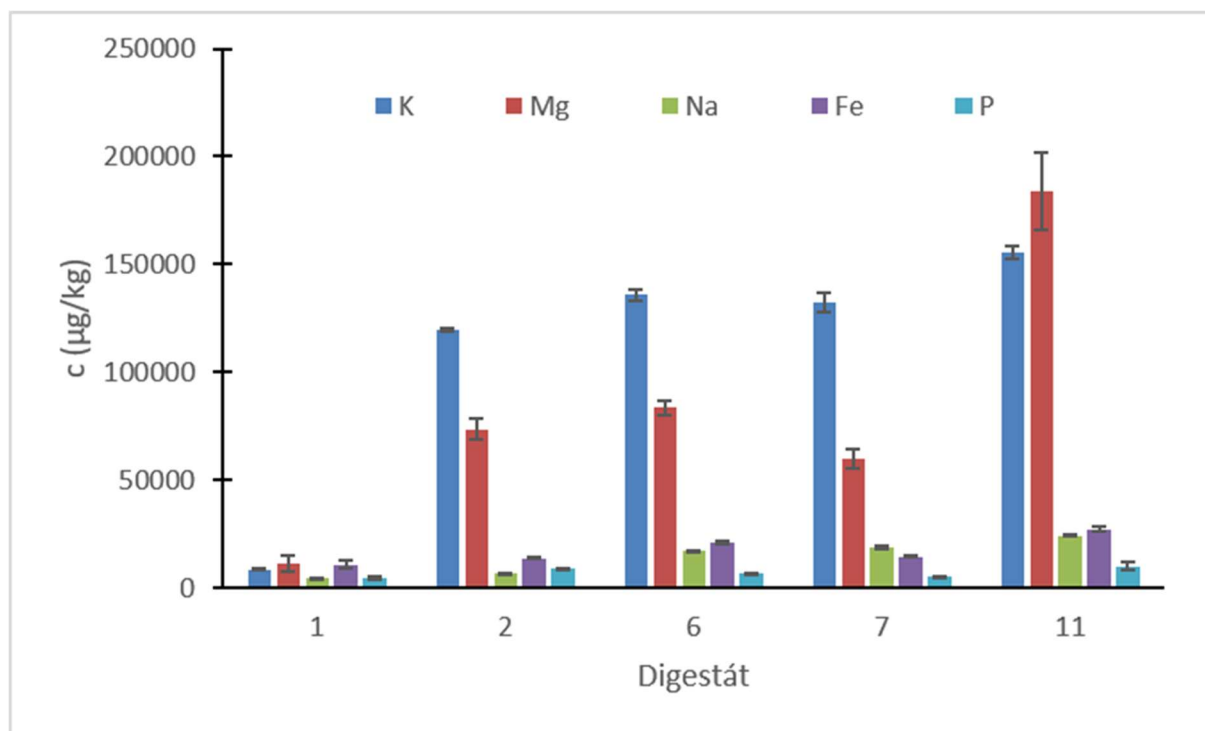
Digestát	1	SD	2	SD	6	SD	7	SD	11	SD
Série 5	(ng/g=µg/kg)									
7Li	44.89	9.7	50.9	1.0	39.9	2.2	50.4	2.2	80.7	3.9
9Be	0.88	0.6	0.6	0.0	0.5	0.0	0.9	0.1	1.4	0.2
11B	424.64	80.7	357.0	98.7	320.5	2.7	298.5	35.5	451.6	55.1
23Na	4232.04	205.5	7134.8	18.9	16963.6	197.4	18787.8	545.2	24309.1	402.9
24Mg	11255.6 3	3611.5	73651.4	4833. 8	83487.1	3253. 0	59768.4	4263. 0	183738. 4	18044. 3
27Al	38908.4 8	19767. 9	8139.3	219.6	8241.1	666.2	9311.6	1407. 7	16596.5	1772.6
31P	4675.15	920.2	8941.0	341.3	6840.3	324.6	5245.2	334.5	10103.1	1872.9
32S	1045.05	105.8	1120.4	26.9	1109.8	76.3	1015.8	21.1	1064.1	51.6
39K	8578.73	437.5	119716. 2	518.6	135874. 2	2726. 2	132243. 9	4278. 0	155498. 3	2872.5
40Ca	46.39	11.0	110.3	2.9	146.8	2.5	83.2	7.8	324.0	11.8
45Sc	49.54	13.3	76.3	15.5	54.4	11.0	55.7	3.3	67.2	14.9
48Ti	1209.34	496.6	1877.7	96.0	2074.1	145.4	1477.0	192.8	4688.4	431.7
51V	48.64	31.5	128.5	8.9	102.2	2.1	103.3	11.1	209.2	17.3
52Cr	169.42	37.8	193.0	8.1	159.0	4.8	177.2	25.8	207.7	29.4
55Mn	477.03	73.6	3812.0	80.1	3611.1	137.2	2629.4	297.4	5697.0	261.9
57Fe	10920.4 6	1553.0	13870.3	377.4	21093.1	853.5	14615.5	84.3	27125.6	1117.3
59Co	15.61	4.4	16.6	0.4	39.1	1.4	29.1	3.0	65.0	3.2
60Ni	154.26	40.4	194.0	7.6	191.6	9.9	216.7	146.7	496.3	51.0
63Cu	556.40	52.2	1611.6	77.0	1684.0	10.1	2060.5	182	1472.1	61.2
66Zn	384.29	174.7	1868.1	21.3	1257.9	96.9	881.6	38.6	1383.7	78.0
71Ga	10.48	5.2	4.9	0.3	5.2	0.3	5.7	0.8	8.8	1.2
73Ge	7.39	0.7	5.7	0.4	10.3	0.0	7.1	0.9	11.6	1.4
75As	13.23	4.1	54.0	2.3	77.0	8.8	49.8	10.6	134.4	0.8

82Se	92.43	41.7	206.1	7.4	109.8	14.9	143.8	19.1	124.4	21.2
	1	SD	2	SD	6	SD	7	SD	11	SD
88Sr	492.41	164.9	872.7	46.2	1176.8	57.6	723.5	86.0	2216.8	122.2
89Y	9.54	5.5	40.2	1.5	11.5	0.9	9.6	1.7	48.5	3.8
90Zr	96.40	48.5	34.1	3.9	16.9	2.6	23.1	0.8	60.2	9.7
95Mo	8.54	2.4	38.4	1.4	30.2	1.3	21.6	1.4	25.4	0.1
103Rh	0.12	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.2	0.1	0.6	0.0
107Ag	61.12	75.4	2.5	1.3	2.1	0.2	2.2	1.1	3.1	0.6
111Cd	7.37	3.3	4.5	0.7	6.2	2.5	21.1	24.1	24.2	21.7
115In	-0.01	0.3	0.7	1.5	0.2	0.5	0.2	0.6	0.3	0.5
118Sn	63.09	43.6	0.6	2.9	6.9	7.4	15.8	19.9	28.6	11.1
121Sb	6.22	2.0	0.7	0.3	6.3	0.5	2.0	1.5	3.1	1.4
133Cs	3.37	1.6	4.5	0.1	8.7	0.3	17.7	1.2	6.2	0.3
137Ba	105.77	35.2	86.6	6.6	221.9	38.6	132.2	28.2	158.4	19.3
140Ce	23.47	12.6	31.0	1.8	22.0	2.1	24.3	2.0	84.3	9.7
159Tb	0.47	0.3	1.0	0.1	0.5	0.1	0.5	0.0	1.9	0.3
165Ho	0.41	0.2	1.2	0.1	0.4	0.0	0.4	0.1	1.6	0.1
181Ta	5.36	0.3	2.8	0.8	1.7	0.1	5.7	1.5	4.6	0.0
202Hg	54.47	15.0	30.9	20.0	172.8	204.0	49.2	37.8	26.8	13.2
205Tl	0.96	0.5	1.5	0.1	2.1	0.0	2.6	0.5	2.8	0.3
208Pb	90.34	19.7	53.7	10.0	88.9	27.6	150.1	129.3	396.3	70.3
209Bi	15.02	10.2	-0.7	0.1	6.5	1.4	1.5	0.5	11.3	0.0
238U	10.56	5.7	4.3	0.1	13.5	0.8	18.7	1.3	7.5	0.8

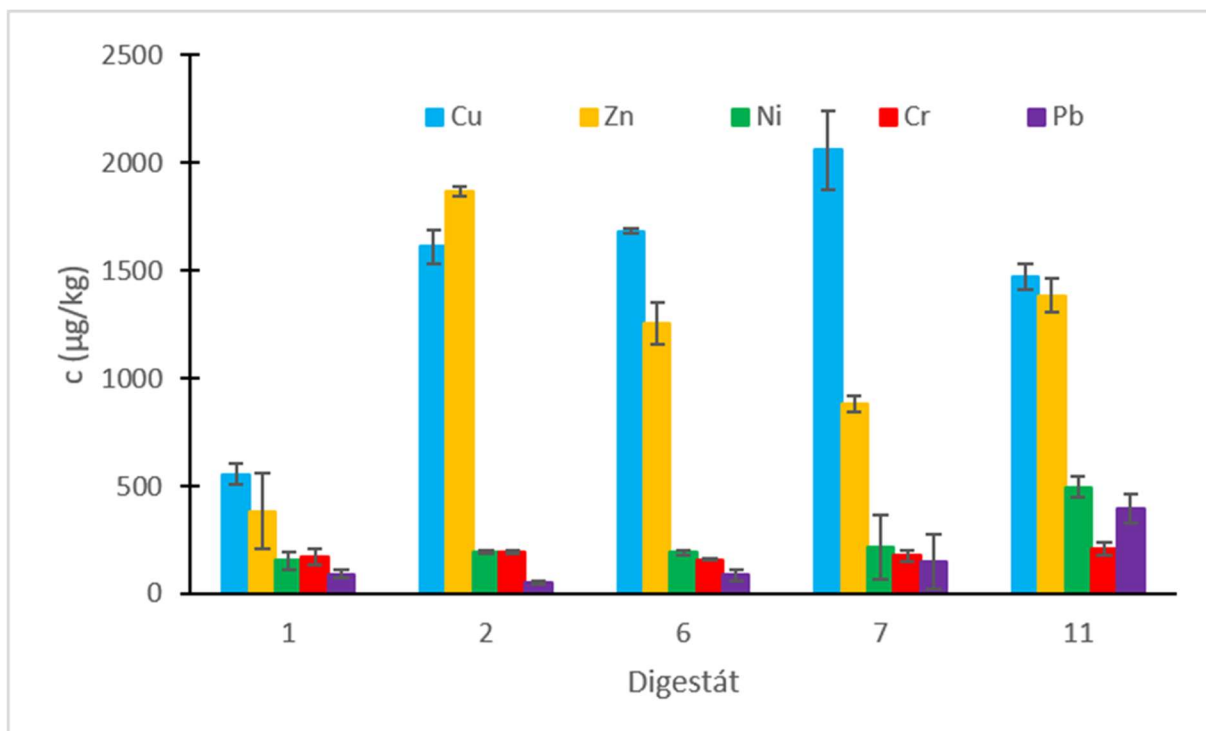
Koncentrace sledovaných prvků v digestátech vykazovaly výraznou variabilitu mezi jednotlivými bioplynovými stanicemi, což odráží rozdíly ve složení vstupních surovin. U makroprvků byly ve všech sériích dominantní zejména K, Mg a P, přičemž například koncentrace K dosahovala až ~190 000 µg/kg (vzorek 7, série 3), zatímco u vzorku 1 nepřesahovala ~12 000 µg/kg. Podobný trend byl pozorován i pro Mg, kde se hodnoty pohybovaly od ~34 000 do ~222 000 µg/kg. Tyto rozdíly potvrzují, že digestáty z rostlinných a kejdových vstupů vykazují výrazně vyšší obsah mobilních živin oproti materiálům s vyšším

podílem minerálních příměsí. Tento charakter odpovídá obecně popisovanému složení digestátů, které jsou bohaté na živiny, ale jejich chemické složení silně závisí na typu zpracovávané biomasy. (Baldasso et al., 2023)²

U stopových a potenciálně rizikových prvků byly zjištěny výraznější rozdíly mezi jednotlivými vzorky. Například koncentrace Pb dosahovala až ~1900 µg/kg (vzorek 11, odběr č. 3), zatímco v dalších sériích se pohybovala přibližně mezi ~100–500 µg/kg. Podobně byly zvýšené koncentrace As ve vybraných vzorcích (~300–330 µg/kg při odběru č. 3), zatímco v jiných případech nepřekračovaly ~10–50 µg/kg. U prvků typických pro zemědělské digestáty (Cu, Zn) byly hodnoty relativně stabilnější, např. Zn se pohyboval přibližně v rozmezí 2000–2900 µg/kg (odběr 3), zatímco při odběru č. 5 byly zjištěny nižší koncentrace (~400–1800 µg/kg). Tyto výsledky potvrzují, že těžké kovy v digestátech mají jak přirozený původ (krmiva, minerální složky), tak mohou odrážet specifické kontaminace související s typem vstupního materiálu. (Kadam et al., 2022)¹



Obrázek 1 Stanovené koncentrace vybraných prvků (µg/kg) v digestátech 1, 2, 6, 7 a 11 – 5. odběr vzorků (jaro 2026).



Obrázek 2 Stanovené koncentrace stopových prvků (µg/kg) ve vybraných digestátech – 5. odběr vzorků (jaro 2026).

Mikrobiologické analýzy

Kromě těchto stanovení byla pozornost věnována také mikrobiologickým analýzám. Ve vzorcích vybraných digestátů byl dále kultivačně stanoven parametr celkový počet mikroorganismů (CPM) a počty rezistentních aerobních bakterií na antibiotika z těchto skupin:

- ✓ amfenikoly (chloramfenikol, dále jen CMP, 20 µg/ml);
- ✓ aminoglykosidy (streptomycin, dále jen STM, 20 µg/ml);
- ✓ glykopeptidová antibiotika (vankomycin, dále jen VAN, 2 µg/ml);
- ✓ chinolony (ciprofloxacin, dále jen CIP, 1 µg/ml);
- ✓ makrolidy (erytromycin, dále jen ERY, 20 µg/ml);
- ✓ peniciliny (ampicilin, dále jen AMP, 20 µg/ml);
- ✓ sulfonamidy (sulfametoxazol, dále jen SMX, 40 µg/ml);
- ✓ tetracykliny (tetracyklin, dále jen TET, 10 µg/ml).

Kultivační stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) poskytuje základní orientaci v množství aktivních bakterií v digestátu. Paralelní kultivace na antibiotických médiích umožnila popsat prevalenci fenotypově rezistentních bakterií u vybraných antibiotik, včetně porovnání rozdílů mezi odběrovými obdobími.

Výsledky stanovení

Výsledné hodnoty celkového počtu přítomných mikroorganismů, vyjádřené jako log CFU/ml digestátu, ve všech 5 odběrech digestátů provedených v rámci celého projektu jsou uvedeny v Tab. 4.

Dále bylo vypočítáno procentuální zastoupení rezistentních bakterií z každé skupiny antibiotik vztažených k parametru CPM (viz tab. 4 a 5).

Tabulka 4: Celkový počet mikroorganismů (CPM) vyjádřené jako log CFU/mL digestátu – červen 2024 (06-24), prosinec 2024 (12-24), květen 2025 (05-25), prosinec 2025 (12-25) a květen 2026 (05-26).

Číslo vzorku	CPM (log CFU/ml)				
	06-24	12-24	05-25	12-25	05-26
1	6,90	5,38	5,99	6,45	8,46
2	7,00	6,41	6,79	7,56	7,95
3	6,78	X	X	X	X
4	7,23	7,15	X	X	X
5	7,48	6,38	X	X	X
6	7,30	6,06	7,25	7,63	7,91
7	7,38	6,11	7,48	7,22	7,91
8	7,23	6,41	X	X	X
9	7,04	X	X	X	X
10	7,18	X	X	X	X
11	7,08	6,18	6,32	6,00	8,40
12	8,11	X	X	X	X
13	7,60	X	X	X	X

Z naměřených hodnot počtu bakterií (LogCFU/mL) bylo vypočítáno procentuální zastoupení bakterií schopných růst v přítomnosti daných antibiotik vztažených k parametru CPM (Tab. 5). Nejvyšší míru zastoupení mají bakterie rostoucí v přítomnosti sulfametoxazolu, ampicilinu a vankomycinu.

Tabulka 5 Procentuální zastoupení (%) rezistentních bakterií vztažené k celkovému počtu mikroorganismů v digestátech bioplynových stanic č. 1, 2, 6, 7 a 11 v květnu 2026.

	AMP	CIP	ERY	CMP	STM	SMX	TET	VAN
digestát 1	1,90	0	0,20	0	0,12	0,18	0,08	11,34
digestát 2	3,7	0	0,13	0,03	2,62	41,70	0,21	3,01
digestát 6	3,3	0	0,41	0,07	3,59	6,85	0	6,56
digestát 7	18,8	0	0,33	0,26	7,93	48,20	1,55	3,45
digestát 11	1,5	0	1,25	0	1,25	2,66	0,04	13,86

Výsledky potvrzují, že digestáty z analyzovaných bioplynových stanic obsahují populace bakterií s rozdílnou mírou antibiotické rezistence. Nejvýznamnější zastoupení bylo opakovaně zaznamenáno u rezistence vůči sulfametoxazolu, ampicilinu a vankomycinu, což naznačuje přetrvávání těchto rezistentních mikroorganismů v anaerobně zpracovávaných materiálech. Současně byly mezi jednotlivými bioplynovými stanicemi pozorovány výrazné rozdíly, které mohou souviset s rozdílným složením vstupních substrátů a provozními podmínkami anaerobní digesce.

Molekulárně-biologické analýzy antibiotické rezistence a mikrobiálních komunit v digestátech

Stejně tak molekulárně-biologické analýzy prováděné v rámci 3. etapy byly zaměřeny na zhodnocení antibiotické rezistence v odebraných vzorcích digestátů. U vzorků z bioplynových stanic č. 1, 2, 6, 7 a 11 bylo provedeno také kultivační posouzení výskytu bakterií rezistentních vůči vybraným antibiotikům. Celkový počet kultivovatelných aerobních mikroorganismů se pohyboval v rozmezí 7,91–8,46 log CFU/ml digestátu, což potvrzuje vysokou mikrobiální abundanci sledovaných digestátových matric. Podíl kultivovatelných bakterií schopných růstu v přítomnosti antibiotik se mezi jednotlivými digestáty výrazně lišil. Nejvyšší relativní zastoupení bylo zjištěno u rezistence vůči sulfametoxazolu, zejména u digestátu č. 7 (48,2 %) a digestátu č. 2 (41,7 %), dále u rezistence vůči ampicilinu u digestátu č. 7 (18,8 %) a vůči vankomycinu u digestátu č. 11 (13,9 %) a digestátu č. 1 (11,3 %). Naproti tomu podíl bakterií rostoucích v přítomnosti ciprofloxacinu a tetracyklinu byl ve všech hodnocených digestátech nízký, většinou v řádu desetin procent nebo nižší. Výsledky potvrzují, že zemědělské digestáty představují mikrobiálně aktivní a mezi jednotlivými BPS výrazně heterogenní matici, ve které se mohou vyskytovat kultivovatelné populace bakterií s fenotypovou rezistencí vůči vybraným

antibiotikům. Zjištěné rozdíly pravděpodobně souvisejí se složením vstupních substrátů, historií zatížení živočišných vstupů antimikrobiálními látkami a provozními podmínkami jednotlivých bioplynových stanic.

Chemické analýzy obsahu antibiotik ve vzorcích digestátů metodou LCMS

V roce 2026 bylo prostřednictvím laboratoří ALS Czech Republic, s.r.o. ve vzorcích sledováno celkem 48 antibiotik z těchto skupin: amfenikoly (1), chinolony (10), linkosamidy (3), makrolidy (6), peniciliny (2), sulfonamidy (17), tetracykliny (5) a ostatní antibiotika (4). Společnost ALS Czech Republic, s.r.o. v rámci 3. etapy projektu jednak dále optimalizovala postupy úprav komplikovaných vzorků typu digestát před vlastní analýzou a dále optimalizovala a verifikovala nastavení podmínek LC/MS analýzy, a to s cílem zakoncentrovat analyty a v maximální možné míře odstranit matriční efekty. Nálezy antibiotik v surových digestátech z jarního odběru roku 2026 jsou k nalezení v následující tabulce.

Tabulka 6 Nálezy sledovaných antibiotik ve vzorcích surového digestátu z jarního odběru 2026.

číslo vzorku	1	2	6	7	11
Azithromycin	2,105	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzylpenicillin	*	*	*	*	*
Ciprofloxacin	64,80	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Clarithromycin	0,2965	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Clindamycin	0,1746	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cloxacillin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Doxycycline	14,31	1303	0,1340	0,1208	0,1766
Enoxacin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Enrofloxacin	0,1072	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Erythromycin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Flumequine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Chloramphenicol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Chlortetracycline	n.d.	0,3606	1,424	0,1452	2,310
Lincomycin	0,0326	1,206	0,0169	0,0594	n.d.
Lomefloxacin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Metacycline	<i>n.d.</i>	0,6291	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Metronidazole	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Nalidixic Acid	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
N-desmethylazithromycin	0,2358	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Norfloxacin	2,235	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Ofloxacin	7,325	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Ormetoprim	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Ornidazole	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Oxolinic Acid	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Oxytetracycline	0,1239	0,2892	0,2070	0,1155	1,692
Roxithromycin	0,0020	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sarafloxacin	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfadiazine	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfadimethoxime	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfadoxine	<i>n.d.</i>	0,0382	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfachlorpyridazine	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamerazine	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamethazine	0,0116	0,0241	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamethizole	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamethoxazole	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamethoxypyridazine	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamonomethoxine	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfamoxol	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfapyridine	1,658	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfaquinoxaline	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfathiazole	0,060	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Sulfisoxazole	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Tetracycline	1,347	0,0552	0,3519	<i>n.d.</i>	0,3498
Tiamulin	<i>n.d.</i>	0,4781	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Trimethoprim	0,0085	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>

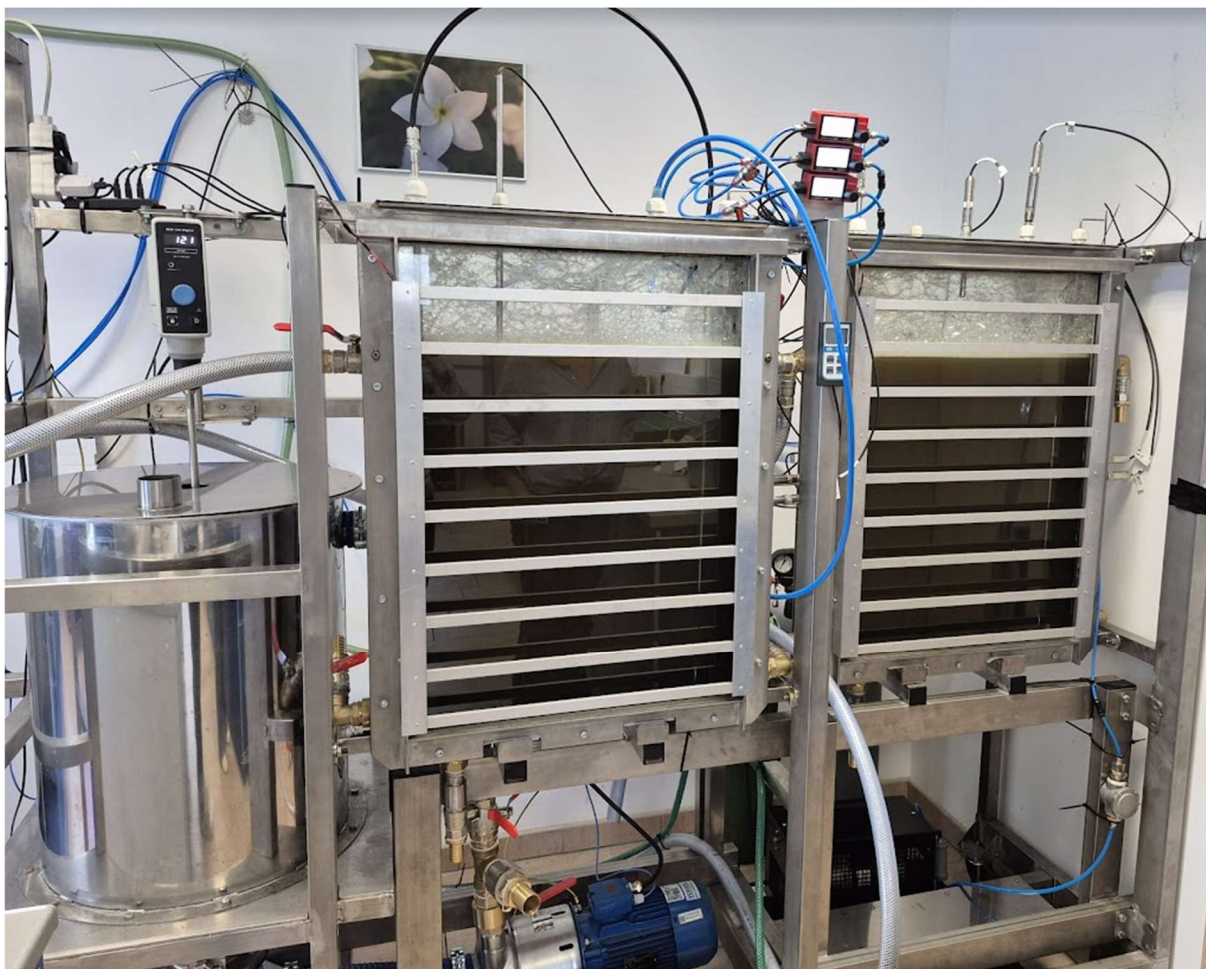
Tylosin	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Vancomycin	0,0329	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
Clindamycin sulfoxide	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>

hodnoty pod limitem kvantifikace

parametry stěžejní pro projekt

2.2 AKTIVITA T3.4 OPTIMALIZACE A OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE PRO DOSAŽENÍ VÝSLEDKU SS07020305-V1

V roce 2025 bylo v EPS biotechnology, s.r.o. sestrojeno a zprovozněno pilotní zařízení pro čtvrtprovozní testování dekontaminační technologie na bázi zelených mikrořas. Zařízení bylo vyvíjeno v roce 2024 ve spolupráci se strojírenskou fakultou ČVUT přímo pro potřeby tohoto projektu SS07020305. Na níže uvedeném obrázku je uvedené zařízení v reálu v průběhu optimalizačních testů.



Obrázek 3 Pohled na čtvrtprovozní fotobioreaktor pro pěstování zelených mikrořas naplněný digestátovým kultivačním médiem.

Modelová technologie se skládá ze dvou deskových fotobioreaktorů o objemu pracovního prostoru 25 l a akumulární nádoby o objemu 50 l pracovního prostoru. Celkem je tedy objem pilotního zařízení 100 l. Oběh zpracovávaného kapalného média zajišťuje čerpadlo. Zpracovávaná plynná směs, která má simulovat bioplyn z bioplynové stanice nebo emisní proud z kogenerační stanice BPS, je připravována pomocí technických plynů skladovaných v tlakových láhvích a vzduchovým kompresorem. Efektivní homogenizace plynné směsi je zajištěna směšovačem plynů. Pomocí řídicích ventilů bylo nastavováno zapojení technologie do různých provozních režimů v průběhu optimalizačních zkoušek. Konkrétně se jednalo o režimy nájezdu, vlastního provozu a odstavení. Provozní režimy byly upravovány dle požadavků experimentálních měření. Technologie je přizpůsobitelná různým provozním

režimům. Fotobioreaktory byly vzájemně propojeny se zásobní nádrží. Vstupující CO₂ byl dávkován přímo do prostoru bioreaktorů. Průtok kapalného média ve fotobioreaktorech byl nastavován společně s tlakem v pracovním prostoru, který je ovlivňován nastavením výstupního tlaku z komor fotobioreaktorů pomocí příslušných ventilů.

Pilotní testování technologického postupu bylo prováděno s reálnými vzorky digestátového média. To bylo vyrobeno z dovezených vzorků digestátů, jež prošly zpracováním dle postupu pro přípravu digestátového média, který je uveden ve výsledku SS07020305-V3 (užitný vzor). Tento postup funguje napříč digestáty z různých zemědělských stanic: z digestátu se nejprve odstraní hrubé pevné částice, zbytky rostlinných vláken, nerozložené či nerozpustné části vstupního substrátu a další pevné podíly digestátu, a to jeho postupným prosíváním přes řadu sít s velikostí ok 5 mm, 1 mm, 0,5 mm a 0,2 mm. Poté následuje centrifugování při 3000 až 5000 ot./min po dobu 5 až 10 minut, kterým se z takto předupraveného digestátu dále odstraní jemná suspendovaná pevná fáze, zejména jemné flokulované částice a nerozpustné pevné složky. Tímto postupem se odstraní minimálně 99 % pevných částic o průměru nad 0,05 mm. Mikrofiltrace není nutná. Takto připravený koncentrát se následně naředil vodou v hmotnostním poměru koncentrát:voda 1:50, čímž se připraví kapalně kultivační médium pro kultivaci mikrořas. Takto připravená média, která byla používána v průběhu optimalizačních a verifikačních experimentů měla pH od 7,4 do 8,3, chemickou spotřebu kyslíku stanovenou metodou s dichromanem draselným (CHSK-Cr) 300 až 911 mg/l, obsahovala celkový organický uhlík (TOC) v množství 81 až 153 mg/l, dusík v množství 30,6 až 77,3 mg/l, z toho amonný dusík v množství 22 až 77,3 mg/l a fosfor v množství 8,34 až 9,54 mg/l, z toho orthofosforečnan jako P v množství 5,19 až 7,12 mg/l (rozptyl hodnot je dán kvalitou surového digestátu).

Tabulka 7 Příklad rozboru složení digestátového média – digestát č. 2, 1. odběr z června roku 2024.

		Digestát 2 (06/2024) - 50x ředěný
celkový organický uhlík (TOC)	mg/l	81,2
CHSK-Cr	mg/l	567
Dusičnanový dusík jako N-NO ₃	mg/l	<0,060

amoniak a amonné ionty jako NH ₄	mg/l	78,7
amoniakální dusík	mg/l	61,1
celkový dusík	mg/l	77,3
celkový fosfor	mg/l	8,34
celkový fosfor jako P ₂ O ₅	mg/l	19,1
celkový fosfor jako PO ₄ 3-	mg/l	25,6
dusičnany	mg/l	<0,27
orthofosforečnany	mg/l	15,9
orthofosforečnany jako P	mg/l	5,19

Do takto připravených digestátových médií bylo naočkováno čtyřdruhé směsné inkulum sestávající z taxonů 250 (CCALA) *Parachlorella kessleri* a 453 (CCALA) *Scenedesmus obliquus* a směsné populace (pracovně označované jako E) *Chlorella vulgaris* a *Pseudokirchneriella subcapitata*. Objem inkula činil 10 obj. %. Následovaly kontrolované kultivace ověřující navrhovanou technologii. V průběhu třetí etapy byly provedeny tři, více jak měsíc dlouhé, kultivační experimenty v pilotním fotobioreaktoru na digestátech ze 3 různých BPS využívajících technologii mokré fermentace. Pouze dva experimenty byly však hodnoceny detailně. Třetí kultivační zkouška utrpěla celou řadu technických problémů z důvodů opakovaných výpadků elektrického proudu, protože v okolí EPS biotechnology probíhala stavba a tato přerušování byla sice dopředu oznámena kvůli probíhající výstavbě v okolí, nicméně posléze (i po dokončení stavby) docházelo k neoznámeným výpadkům proudu, které velmi negativně ovlivnily průběh celého experimentu, proto byla data z tohoto testu z dokumentace ověřené technologie vyřazena.

Digestáty z vybraných BPS (č. 2 a 11), které byly vybrány k finální optimalizaci a verifikaci technologie obsahovaly antibiotika v sumární koncentraci (koncentrace v již naředěném digestátovém médiu) 0,14 µg/l (digestát 11) až 3,1 µg/l (digestát č. 2). To znamená, že v původním surovém digestátu se pohybovala sumární koncentrace antibiotik kolem 7 µg/l (digestát 11) a 155 µg/l (digestát č. 2). V digestátech byla zjištěna přítomnost 5 různých antibiotik v digestátu č. 11 a 7 typů antibiotik v digestátu č. 2. Shodně se v obou digestátech vyskytovaly: doxycyklin, chlortetracyklin, oxytetracyklin a tetracyklin. Jedná se o širokospektrá antibiotika z rodiny tetracyklinů, používaná ve veterinární medicíně, zejména v chovech hospodářských zvířat, odkud se mohou prostřednictvím kejdy, hnoje a dalších živočišných substrátů dostávat do anaerobních fermentorů zemědělských bioplynových stanic. Jejich

přítomnost v digestátu proto nelze považovat za ojedinělý nebo překvapivý nález, ale za výsledek odpovídající literárně popsanému výskytu reziduí veterinárních léčiv v digestátech a digestátových frakcích. Nad rámec tetracyklinových antibiotik detekovaných ve všech sledovaných digestátech byly v některých vzorcích zaznamenány také další antibiotické látky. V digestátu č. 11 byly navíc zjištěny stopové koncentrace clarithromycinu, tedy makrolidového antibiotika. Makrolidy jsou významnou skupinou antimikrobiálních látek využívaných v humánní i veterinární medicíně. V chovech hospodářských zvířat jsou používány zejména k léčbě respiračních a dalších bakteriálních infekcí, přičemž jejich environmentální význam spočívá také v možnosti vzniku makrolidové rezistence.

V digestátu č. 2 byl kromě látek tetracyklinové řady zjištěn také lincomycin, metacyklin a tiamulin. Lincomycin patří mezi linkosamidy, tedy látky mechanismem účinku a rezistenčními vazbami blízké makrolidům; podle EMA (European Medicines Agency) jsou makrolidy a linkosamidy používány u potravinových zvířat, mimo jiné u prasat a drůbeže, přičemž jejich používání je spojeno s rizikem rozvoje a přenosu rezistence. Tiamulin patří mezi pleuromutiliny a je rovněž typicky veterinárně relevantním antibiotikem, zejména v souvislosti s léčbou infekcí u prasat a drůbeže. Metacyklin je strukturálně příbuzný tetracyklinovým antibiotikům, a jeho detekce v digestátu č. 2 proto dále podporuje závěr, že tento vzorek vykazuje širší zatížení látkami tetracyklinové skupiny.

Z hlediska projektu je podstatné, že nález potvrzuje heterogenitu zemědělských digestátů a podporuje potřebu technologie, která nebude cílit pouze na jednu modelovou látku, ale na širší spektrum reziduí antibiotik a souvisejících markerů antibiotické rezistence.

V průběhu ověřovacích testů byly realizovány opakované časové odběry, které umožnily sledovat dynamiku změn koncentrací antibiotik v kultivačním systému v čase. Výsledky ukázaly, že u části sledovaných látek docházelo v průběhu provozu k významnému poklesu koncentrací, zejména u tetracyklinu, oxytetracyklinu, chlortetracyklinu, metacyklinu a tiamulinu. U některých látek byl na konci sledování zaznamenán pokles pod mez detekce. Účinnost odstranění se však lišila podle konkrétního antibiotika, vstupní koncentrace a průběhu kultivace. U doxycyklinu byla pozorována vyšší variabilita ve výsledcích, a proto je třeba jeho odstranění hodnotit opatrněji. Tyto výsledky potvrzují, že technologie má potenciál

snižovat zatížení digestátového média vybranými antibiotiky, současně však ukazují nutnost další optimalizace provozních podmínek a individuálního hodnocení jednotlivých skupin látek.

Při hodnocení průběžných odběrů z ověřovacích kultivačních testů bylo sumární zatížení antibiotiky stanoveno jako součet koncentrací všech detekovaných antibiotik v daném odběru. Hodnoty pod mezí detekce byly pro účely této bilance uvažovány jako nulové. V první sledované sérii s digestátem č. 2 činila počáteční suma detekovaných antibiotik cca 3,1 µg/l a na konci testu 0,687 µg/l, což odpovídá poklesu sumárního zatížení o 77,8 %. Z hlediska množství byl na počátku testu jednoznačně dominantní doxycyklin, který tvořil hlavní část celkové koncentrace; jeho koncentrace klesla z 3,005 na 0,647 µg/l, tedy o 78,5 %. Výrazný pokles byl dále zaznamenán u tetracyklinu z 0,00461 na 0,00063 µg/l (86,3 %), oxytetracyklinu z 0,00560 na 0,00114 µg/l (79,6 %) a chlortetracyklinu z 0,03615 na 0,01314 µg/l (63,7 %). Metacyklin a tiamulin byly v první části testu detekovány pouze přechodně a v závěrečném odběru již nebyly detekovány.

Ve druhé sledované sérii byla počáteční suma detekovaných antibiotik v digestátu č. 11 výrazně nižší, a to 0,14 µg/l, přičemž na konci testu poklesla na 0,030 µg/l. To odpovídá poklesu sumárního zatížení o 77,9 %. V této sérii byly na počátku kvantitativně nejvýznamnější chlortetracyklin (0,0765 µg/l), oxytetracyklin (0,0295 µg/l), doxycyklin (0,0196 µg/l) a tetracyklin (0,0100 µg/l). Chlortetracyklin a stopově zachycený clarithromycin nebyly v závěrečném odběru detekovány, oxytetracyklin poklesl o 92,8 % a tetracyklin o 93,4 %. U doxycyklinu byla v této sérii pozorována vyšší variabilita a konečná koncentrace byla mírně vyšší než počáteční, proto je jeho odstranění hodnoceno jako nejednoznačné. Celkově však oba průběžné testy potvrzují výrazné snížení sumárního antibiotického zatížení digestátového média, zejména u látek tetracyklinové skupiny.

Výsledky průběžných časových odběrů z roku 2026 dobře navazují na souhrnné výsledky předchozí etapy uvedené v etapové zprávě z roku 2025 na obr. 9–11 a v tab. 8. První průběžná série byla v roce 2025 provedena s digestátem č. 2, který byl již v předchozím vyhodnocení identifikován jako nejvíce zatížený digestát z hlediska sumární koncentrace antibiotik i počtu detekovaných látek. U tohoto digestátu byla v souhrnném vyhodnocení stanovena průměrná účinnost odstranění antibiotik 76 % a maximální účinnost 91 %. Časové sledování v roce 2026

tento výsledek prakticky potvrdilo, protože suma detekovaných antibiotik poklesla z 3,090 na 0,687 $\mu\text{g/l}$, tj. o 77,8 %.

Druhá průběžná série odpovídá digestátu č. 11, který byl v předchozím vyhodnocení v roce 2025 hodnocen jako digestát s velmi dobrou průměrnou účinností odstranění antibiotik, přibližně 93 %, s maximem 97 %. V roce 2026 byla u tohoto digestátu počáteční suma antibiotik výrazně nižší než u digestátu č. 2, konkrétně 0,136 $\mu\text{g/l}$, a na konci testu poklesla na 0,030 $\mu\text{g/l}$, což odpovídá poklesu sumárního zatížení o 77,9 %. Celkové procento poklesu je tedy nižší než ve starším souhrnném vyhodnocení pro digestát č. 11, nicméně na úrovni jednotlivých látek zůstává trend velmi dobře srovnatelný: chlortetracyklin a stopově zachycený clarithromycin nebyly v závěrečném odběru detekovány, oxytetracyklin poklesl o 92,8 % a tetracyklin o 93,4 %. Nižší celkový pokles sumárního zatížení byl ovlivněn zejména doxycyklinem, jehož koncentrace v této sérii kolísala na nízké úrovni a v závěrečném odběru byla mírně vyšší než na počátku.

Při interpretaci výsledků u digestátu č. 11 je tedy vhodné ještě samostatně zohlednit chování doxycyklinu, jehož koncentrace se v průběhu testu chovala nestandardně. Při citlivostním vyhodnocení bez doxycyklinu, tedy pouze pro ostatní detekovaná antibiotika, poklesla suma koncentrací z 0,11642 $\mu\text{g/l}$ na 0,00280 $\mu\text{g/l}$, což odpovídá účinnosti snížení 97,6 %. Tento výsledek velmi dobře odpovídá předchozímu souhrnnému vyhodnocení, kde byl digestát č. 11 hodnocen jako matrice s nejvyšší průměrnou účinností odstranění antibiotik. Zároveň ukazuje, že nižší hodnota sumárního poklesu při zahrnutí všech látek byla ovlivněna především nestandardním chováním doxycyklinu, nikoli nízkou účinností technologie vůči ostatním sledovaným antibiotikům.

Celkově tedy letošní výsledky potvrzují závěry předchozí etapy: technologie vykazuje nejlepší a nejstabilnější účinnost zejména u vybraných zástupců tetracyklinové skupiny a u tiamulinu, zatímco u doxycyklinu a některých stopově přítomných antibiotik je odezva variabilnější a musí být interpretována opatrně, zejména při koncentracích blízkých detekčním limitům.

Součástí verifikace technologie nebylo pouze sledování poklesu koncentrací vybraných antibiotik, ale také posouzení změn mikrobiální komunity, kultivovatelných rezistentních bakterií a vybraných genů antibiotické rezistence. Vzorky z časových odběrů fotobioreaktoru s digestátem č. 11 byly analyzovány spoluřešitelem projektu UTB. Kultivační stanovení

ukázalo pokles celkového počtu kultivovatelných aerobních mikroorganismů z 8,62 log CFU/ml ve vstupním vzorku na 6,79 log CFU/ml v závěrečném odběru, tedy přibližně o 1,8 řádu. Vývoj jednotlivých skupin rezistentních mikroorganismů nebyl zcela jednotný. U některých skupin byl zaznamenán počáteční nárůst relativního zastoupení následovaný poklesem v pozdější fázi experimentu. Nejzřetelnější dlouhodobější pokles byl pozorován u bakterií schopných růstu v přítomnosti sulfametoxazolu.

Molekulárně-biologická analýza qPCR současně prokázala výrazný pokles vybraných markerů antibiotické rezistence. U genu *tetW*, spojeného s tetracyklinovou rezistencí, byl v závěrečném odběru zaznamenán pokles o 97 % oproti vstupnímu vzorku. U genu *ermB*, reprezentujícího rezistenci k makrolidům, byl výrazný pokles patrný již po 5 dnech kultivace a v závěru experimentu dosahovalo jeho relativní zastoupení pouze jednotek procent původní úrovně. U genu *sul2*, spojeného se sulfonamidovou rezistencí, byl pokles vyšší než 99 % již od prvního odběru a přetrvával i v dalších časových bodech. Marker *floR* nebyl ve vstupním ani průběžných vzorcích detekován a u genu *parC* nebyl pozorován jednoznačný trend. Významné je, že pokles vybraných genů rezistence byl výraznější než pokles markeru celkové bakteriální populace 16S rRNA, který v závěrečném odběru činil přibližně 64 %. To naznačuje, že pozorované změny nelze vysvětlit pouze celkovým poklesem bakteriální biomasy, ale pravděpodobně také změnou struktury mikrobiální komunity a snížením zastoupení mikroorganismů nesoucích sledované determinanty rezistence.

Tyto výsledky podporují závěr, že ověřovaná technologie může vedle snížení koncentrací vybraných antibiotik přispívat také ke změně mikrobiálního a rezistenčního profilu digestátového média. Nejlépe doložený efekt byl v časovém testu s digestátem č. 11 pozorován u markerů tetracyklinové, makrolidové a sulfonamidové rezistence, zatímco u některých kultivačních ukazatelů a u markeru *parC* byla odezva variabilní.

Detailní vyhodnocení těchto mikrobiologických a molekulárně-biologických výsledků je uvedeno v dokumentaci ověřené technologie. Stejně tak podrobný popis konstrukce zařízení, provozních režimů, způsobu přípravy digestátového média, průběhu ověřování, analytických výsledků a vyhodnocení účinnosti je uvedeno v samostatné technické dokumentaci výsledku SS07020305-V1 – Ověřená technologie a příslušných přílohách.

2.3 AKTIVITA T 3.5 DOKONČENÍ SBĚRU DAT DO DATABÁZE, JEJÍ ZVEŘEJNĚNÍ

Společnost ALS Czech Republic, s.r.o. se současně s analýzami vzorků digestátů zabývala v rámci této etapy konečnou aktualizací databáze antibiotik, která slouží jako přehledné úložiště vybraných výsledků celého projektu. Databáze je vytvořena jako kontingenční tabulka, obsahující všechny relevantní informace. Pro řešitele projektu je databáze přístupná v editovatelné formě, pro veřejnost pak pouze elektronicky pro čtení. Výsledek byl plně dokončen, tak jak bylo plánováno (06/2026). V průběhu roku 2026 byl dokončen sběr dat, jejich roztrídění a zanesení do kontingenční tabulky, což je zcela v souladu s informacemi v projektové přihlášce. Databáze je v tuto chvíli připravena k jejímu plnému využití odbornou veřejností. Databáze je umístěna v zde:

<https://www.alsglobal.com/cs/Ceska-Republika/zivotni-prostredi/digestat>

2.4 AKTIVITA T 3.6 VYPRACOVÁNÍ PODKLADŮ PRO TECH. DOKUMENTACI VÝSLEDKU SS07020305-V1

V rámci aktivity T3.6 byly v průběhu třetí etapy projektu průběžně shromažďovány, tříděny a vyhodnocovány podklady nezbytné pro zpracování technické dokumentace výsledku SS07020305-V1 – Technologie zpracování digestátu spojená s využitím mikrořas k redukci množství antibiotik, rezistentních bakterií a genů rezistence v něm obsažených. Jedná se zejména o podklady popisující konstrukční a provozní uspořádání pilotního fotobioreaktoru, přípravu digestátového kultivačního média, použité mikrořasové inokulum, průběh ověřovacích kultivačních experimentů, analytické sledování koncentrací antibiotik, kultivovatelných rezistentních bakterií a vybraných genů antibiotické rezistence. Součástí shromážděných podkladů jsou rovněž výsledky chemických, mikrobiologických a molekulárně-biologických analýz, provozní záznamy, fotodokumentace zařízení a experimentů a dílčí vyhodnocení účinnosti technologie. Tato aktivita tak vytvořila věcný a datový základ pro samostatný dokument ověřené technologie, který obsahuje detailní technický popis technologie, zprávu o průběhu ověřování, vyhodnocení dosažených výsledků a podklady k jejímu následnému uplatnění.

2.5 SHRUTÍ PLNĚNÍ AKTIVIT TŘETÍ ETAPY PROJEKTU

V průběhu třetí etapy projektu (01/2026–06/2026) byly realizovány a splněny všechny plánované aktivity v souladu s návrhem projektu. Konkrétně:

T3.1 Pokračování odběrů vzorků digestátu - **splněno**

T3.2 Pokračující chemické analýzy digestátů - **splněno**

T3.3 Mikrobiologické a molekulárně-biologické analýzy - **splněno**

T3.4 Optimalizace a ověření technologie pro dosažení výsledku SS07020305-V1 - **splněno**

T 3.5 Dokončení sběru dat do databáze, její zveřejnění - **splněno**

T 3.6 Vypracování podkladů pro tech. dokumentaci výsledku SS07020305-V1 - **splněno**

Třetí etapa projektu tak byla naplněna v plánovaném věcném rozsahu a vytvořila klíčový základ pro závěrečnou fázi řešení projektu.

2.6 VÝSLEDKY PROJEKTU

Dosažené výsledky projektu jsou v souladu s původním věcným zaměřením, harmonogramem a deklarovanými výstupy projektu. Projekt byl od počátku koncipován jako komplexní ověření možnosti využití mikrořas pro zpracování digestátu ze zemědělských bioplynových stanic se zaměřením na snížení obsahu antibiotik, rezistentních bakterií a genů antibiotické rezistence. V průběhu řešení byly postupně naplněny všechny plánované výsledky projektu. V předchozí etapě byl dosažen výsledek SS07020305-V3 – Kapalné kultivační médium pro kultivaci mikrořas, který byl v návrhu projektu plánován jako výsledek typu Fuzit – užitný vzor. Užitný vzor byl zapsán pod číslem 39235 dne 16. 3. 2026. Osvědčení o zápisu je v projektových přílohách. Tento výsledek vytvořil nezbytný technologický základ pro navazující ověřovací práce ve čtvrtprovozním fotobioreaktoru. Ve třetí etapě pak byly v souladu s plánem dále dokončeny práce vedoucí k dosažení výsledku SS07020305-V1 – Technologie zpracování digestátu spojená s využitím mikrořas k redukci množství antibiotik, rezistentních bakterií a genů rezistence v něm obsažených, typu Ztech – ověřená technologie, dále výsledku SS07020305-V2 – Specializovaná databáze a výsledku SS07020305-V4 – Souhrnná výzkumná zpráva. Projekt byl zakončen včetně dosažení všech výsledků.

3 VYNALOŽENÉ NÁKLADY NA PROJEKT

EPS biotechnology, s.r.o.

V kategorii osobní náklady bylo čerpáno (včetně povinných odvodů) 1 102 024,- Kč na platy členů řešitelského týmu dle úvazku na projektu. Nepřímé (režijní) náklady činily 50 967,- Kč. Další přímé náklady 275 509,- Kč byly vynaloženy na nákup spotřebního materiálu (především laboratorní materiál a materiál v souvislosti s provozem fotobioreaktoru, vybavení, kalibrace, servis přístrojového vybavení) nezbytného k realizaci projektu. Subdodávky nakonec nebyly uplatněny.

V souladu s podmínkami poskytovatele, konkrétně verzí č. 7 Všeobecných podmínek (oddíl E, článek 19 a směrnicí SME-07), byl proveden přesun finančních prostředků mezi nákladovými skupinami bez změny v celkové výši rozpočtu. Konkrétně se jednalo o přesun 113 950,- Kč ze skupiny Náklady na subdodávky ve prospěch skupiny především Osobní náklady (navýšení o 67 474,- Kč), v prospěch ostatních přímých nákladů (navýšení o 45 509,- Kč) a nepatrně také ve prospěch nepřímých nákladů (navýšení o 967,- Kč) – viz následující tabulka.

Čerpání projektu za rok 2026	rozpočet	čerpání
osobní náklady	1 034 550 Kč	1 102 024 Kč
náklady na subdodávky	113 950 Kč	0 Kč
ostatní přímé náklady	230 000 Kč	275 509 Kč
nepřímé náklady	50 000 Kč	50 967 Kč
Celkem na rok 2026	1 428 500 Kč	1 428 500 Kč

Zdroje	rozpočet	čerpání
Podpora - dotace	928 525 Kč	928 525 Kč
Neveřejné zdroje - vlastní	499 975 Kč	499 975 Kč
Zdroje celkem rok 2026	1 428 500 Kč	1 428 500 Kč

Náklady na subdodávky nebyly nezbytné, neboť požadovaného cíle bylo dosaženo vlastní činností řešitelského týmu (osobní náklady v souvislosti se zvýšeným rozsahem výzkumných, analytických, zprovoznovacích, optimalizačních i vyhodnocovacích pracích) a pořízením nezbytného materiálního vybavení oproti předpokladu. Navýšení finančních prostředků ve skupině Osobní náklady bylo způsobeno také vyšší mzdou u některých pracovníků, než bylo předpokládáno v projektové přihlášce (růst mezd, inflace).

ALS Czech Republic, s.r.o.

V roce 2026 byly v rámci projektu SS07020305 vynaloženy následující finanční prostředky na realizaci projektu: osobní náklady (včetně povinných odvodů) ve výši 850 261 Kč, ostatní přímé náklady 52 451 Kč, nepřímé náklady 200 000 Kč. Ostatní přímé náklady zahrnují nákup materiálu (kolona) a měsíční odpisy LCMS systémů. Odpisy LCMS systémů jsou účtovány v souladu s interní ALS směrnicí CZ_MI_C02_02. Ke každému LCMS systému je veden přístrojový deník, kam se zaznamenávají všechny provedené analýzy na daném instrumentu. Měsíční náklad je vypočítán právě na základě záznamů z provozního deníku (součet hodin využití LCMS na projekt/celkový součet měřících hodin LCMS systému), poměr zapojení stroje do projektu je zaúčtován jako přímý náklad na nákladové středisko projektu 99015. Celkové skutečné náklady na projekt jsou 1 102 712 Kč, plánované náklady na rok 2026 byly 1 100 000 Kč. Finance, které byly využity nad rámec plánovaného rozpočtu (2 712 Kč), byly pokryty z komerční činnosti ALS Czech Republic, s.r.o.

UPCE

Náklady byly čerpány v souladu s podmínkami TA ČR. Finanční prostředky plánované na rok 2026 byly zcela vyčerpány, stejně jako plánované náklady za UPCE v rámci celého řešení projektu. V kategorii osobní náklady bylo čerpáno (včetně povinných odvodů) 425 260,32 Kč na platy členů řešitelského týmu (včetně DPP) dle úvazku na projektu. Osobní náklady nebyly zcela vyčerpány z důvodu nižšího čerpání DPP oproti plánované míře v době přípravy návrhu projektu. Tyto finanční prostředky (konkrétně 35 739,68 Kč) byly čerpány v rámci kapitoly ostatních přímých nákladů. Celkově bylo tedy v kapitole ostatních přímých nákladů čerpáno v poslední etapě řešení projektu (rok 2026) 110 989,68 Kč. Tyto náklady byly vynaloženy na nákup spotřebního materiálu nezbytného k realizaci a ukončení projektu v souladu s jeho návrhem. Nepřímé (režijní) náklady byly 135 250,00 Kč.

UTB

Prostředky na přímé náklady byly použity v souladu s plánem, jedinou výjimkou je nevyužití 10 000 Kč plánovaných na ochranu duševního vlastnictví. Částka 48 000 Kč byla čerpána na sekvenční služby. Jednalo se o plánovaný a nutný výdaj pro dosažení výsledků projektu. Ostatní prostředky této kapitoly byly rovněž využity v souladu s plánem na chemikálie, laboratorní kity a další laboratorní spotřební materiál.

4 ŘEŠITELSKÉ TÝMY

EPS biotechnology, s.r.o.

V týmu hlavního řešitele nedošlo k žádným změnám oproti předpokladům. Do projektu byl zapojen jmenovitě Ing. Petr Beneš, Ph.D. (úvazek 0,05) a Ing. Martina Siglová, Ph.D. (0,36) a dále další osoby na pozicích laborant/laborantka (úvazek 1,09) a technik/technička (úvazek 0,84). Práce řešitelského týmu vyžadovala větší nasazení a úsilí oproti předpokladu (navýšení úvazků) na úkor úspor ve službách a také se zde projevil vliv na růst platů (inflace apod.).

ALS Czech Republic, s.r.o.

V průběhu roku 2026 nedošlo u projektu ke změnám v řešitelském týmu firmy ALS Czech Republic. V týmu dalšího účastníka projektu byly do projektu zapojeny jmenovitě: Ing. Alice Vagenknechtová, Ph.D. (úvazek 0,08) a Ing. Zuzana Bílková, Ph.D. (úvazek 0,09), dále pak byly zapojeny ostatní osoby ALS analytik (úvazek 0,16), ALS supervisor sekce (úvazek 0,24) a ALS validační specialista (úvazek 0,19), které se na projektu podílely v souladu s plánovanými výzkumnými aktivitami.

UPCE

Ve třetí, zkrácené, etapě řešení projektu nedošlo v projektovém týmu za UPCE oproti předchozí etapě k žádným významným změnám. Oproti předchozímu období již nedošlo k tak významnému zapojení formou DPP, zapojení dalších pracovníků bylo stejné jako v předchozím období.

Jak bylo uvedeno v předchozí zprávě, na řešení projektu spolupracovala studentka SPŠCH v Pardubicích Martina Černá. Ta výsledky své práce prezentovala na několika akcích s velmi dobrými výsledky, čímž projekt dosáhl nejen zapojení a propojení mladých nadějných studentů i ze střední školy, ale také byl díky tomu prezentován na studentských akcích, což přispívá k šíření povědomí o projektech podporovaných v rámci TA ČR. Konkrétně se studentka Martina Černá účastnila těchto soutěží:

1. Festival vědy a techniky pro děti a mládež CIMF 2026 Pardubického kraje, postup z okresního a krajského kola až do kola celorepublikového.
2. XXXI. ročník Soutěže vědeckých a technických projektů středoškolské mládeže EXPO SCIENCE AMAVET, postup z regionálních kol až do národního finále.

3. Středoškolská odborná činnost (SOČ), účast až na celostátní přehlídce SOČ 12.-14. června 2026 v Olomouci.

UTB

V týmu spoluřešitele UTB nedošlo k žádným změnám u klíčových pracovníků ani u dalších pracovníků na projektu oproti předpokladům uvedeným v průběžné zprávě za rok 2025.

5 NAPLŇOVÁNÍ PROGRAMU PPŽ

Projekt přináší nová řešení v oblasti ochrany životního prostředí a rozšiřuje znalostní základnu týkající se environmentálních rizik spojených s využíváním digestátů ze zemědělských bioplynových stanic. Digestát je významným zdrojem organické hmoty a živin, zejména dusíku a fosforu, a je proto běžně využíván jako hnojivo na zemědělských půdách. V případě digestátů vznikajících ze vstupních surovin živočišného původu však může být současně nositelem reziduí veterinárních antibiotik, rezistentních bakterií, genů antibiotické rezistence a dalších rizikových látek, včetně vybraných těžkých kovů. Opakovaná aplikace takového materiálu na zemědělskou půdu může představovat cestu, kterou se tyto látky a biologické ukazatele dostávají do půdního prostředí, mohou ovlivňovat půdní mikrobiom a v širších souvislostech přispívat k environmentálnímu šíření antimikrobiální rezistence.

Projekt se zaměřil právě na tuto dosud málo popsanou oblast. V rámci řešení byly opakovaně odebírány a charakterizovány reálné digestáty ze zemědělských bioplynových stanic. Byly sledovány fyzikálně-chemické parametry digestátů, výskyt vybraných antibiotik, mikrobiologické ukazatele, kultivovatelné bakterie schopné růstu v přítomnosti antibiotik a vybrané geny antibiotické rezistence. Tím byla vytvořena ucelená datová základna umožňující lépe posoudit variabilitu digestátů, rozdíly mezi jednotlivými bioplynovými stanicemi, sezónní proměnlivost a možné environmentální souvislosti jejich dalšího využití.

Jedním z významných výstupů projektu je specializovaná databáze výsledků, která zpřístupňuje získaná data odborné veřejnosti. Databáze zahrnuje výsledky analytických rozborů a související mikrobiologické a molekulárně-biologické údaje vztahující se k problematice antibiotik a antimikrobiální rezistence v digestátech. Její veřejné zpřístupnění podporuje další využití dat ve výzkumu, při hodnocení environmentálních rizik, při přípravě

navazujících projektů a při diskusi o kvalitě digestátu jako materiálu určeného k dalšímu využití v zemědělství nebo v technologiích oběhového hospodářství.

Dalším důležitým cílem projektu byl vývoj biologicky založené technologie pro zpracování digestátu pomocí kultivace mikrořas. Tento směr řešení navazuje na skutečnost, že digestát obsahuje cenné nutrienty využitelné pro růst mikrořas, avšak ve své surové podobě není pro jejich přímou kultivaci vhodný. V projektu byl proto vyvinut a chráněn postup přípravy kapalného kultivačního média z digestátu, který zahrnuje předúpravu digestátu, odstranění významné části pevných částic, ředění a úpravu parametrů média tak, aby bylo využitelné pro kultivaci zelených mikrořas.

Na tento výsledek navázala ověřená technologie zpracování digestátu pomocí mikrořas ve fotobioreaktorovém systému. Technologie propojuje přípravu digestátového kultivačního média, inokulaci vhodnou mikrořasovou kulturou, kultivaci ve čtvrtprovozním fotobioreaktoru a průběžné sledování chemických, mikrobiologických a molekulárně-biologických ukazatelů. Při ověřovacích experimentech bylo prokázáno snížení sumárního zatížení vybranými antibiotiky přibližně o 78 % u dvou testovaných reálných digestátových matric. U jednoho z digestátů byl současně doložen pokles celkového počtu kultivovatelných aerobních mikroorganismů přibližně o 1,8 log jednotky a výrazné snížení vybraných genů antibiotické rezistence, zejména tetW, sul2 a ermB.

Technologie tedy přináší několik vzájemně provázaných environmentálních přínosů:

- a) biologickou cestou snižuje zatížení digestátového média vybranými antibiotiky a ovlivňuje některé mikrobiologické a molekulárně-biologické ukazatele související s antimikrobiální rezistencí;
- b) umožňuje využití cenných nutrientů obsažených v digestátu pro produkci mikrořasové biomasy;
- c) vytváří technologický základ pro alternativní, nezemědělské zpracování kapalně frakce digestátu, které může do budoucna přispět ke snížení rizika vnosu problematických látek a rezistenčních determinantů do půdy, vodního prostředí a potravního řetězce;

d) podporuje principy oběhového hospodářství, protože pracuje s digestátem nikoli pouze jako s odpadem nebo hnojivem, ale jako s využitelným zdrojem živin pro další biotechnologické zpracování;

e) vytváří podklad pro navazující vývoj integrovaných technologií propojujících digestát, kultivaci mikrořas, využití CO₂ a produkci biomasy v návaznosti na provoz bioplynových stanic.

Ve všech těchto ohledech projekt naplňuje cíle programu Prostředí pro život, zejména z hlediska rozšiřování znalostní základny, podpory nových environmentálních technologií a hledání řešení, která přispívají ke zdravému a kvalitnímu životnímu prostředí v České republice. Projekt přináší nové poznatky o dosud nedostatečně sledované problematice výskytu antibiotik a ukazatelů antimikrobiální rezistence v digestátech a současně ověřuje technologický postup, který může v budoucnu přispět k minimalizaci negativních dopadů lidské činnosti na životní prostředí.

Projekt zároveň naplňuje cíle podprogramu zaměřeného na ekoinovace, nové technologie a přenos znalostí mezi výzkumnou a aplikační sférou. Na řešení se podílely podnikové subjekty i dvě vysokoškolská pracoviště, což umožnilo propojit analytické, mikrobiologické, molekulárně-biologické, kultivační a technologické kompetence. Výsledkem je nejen rozšíření odborného poznání, ale také konkrétní technologické výstupy využitelné při dalším pilotním ověřování a při rozvoji environmentálních biotechnologií pro bioplynové stanice.

Význam projektu spočívá také v tom, že reaguje na problém, který zatím není v české legislativě jednoznačně ošetřen specifickými limity pro obsah antibiotik nebo ukazatelů antimikrobiální rezistence v digestátu. Přesto jde o téma s rostoucí environmentální a zdravotní relevancí. Projekt tak vytváří odborný a technologický základ pro budoucí hodnocení této problematiky, pro dobrovolné zvyšování environmentálního standardu provozů bioplynových stanic a pro případnou přípravu metodických nebo regulačních doporučení.

Vývojem alternativního způsobu zpracování digestátu projekt přispívá k minimalizaci rizik plynoucích z nedostatečné kvality životního prostředí pro zdraví lidí, ekosystémy i přírodní zdroje. Technologie založená na kultivaci mikrořas může do budoucna nabídnout způsob, jak část kapalně frakce digestátu využít mimo přímou zemědělskou aplikaci, případně jak digestát před dalším využitím biologicky upravit. Tím může být omezen potenciální vstup reziduí

antibiotik, rezistentních bakterií a genů rezistence do půdního prostředí, povrchových a podzemních vod a nepřímo také do potravního řetězce.

Projekt proto významně přispívá k naplňování programu Prostředí pro život jak v rovině znalostní, tak technologické a aplikační. Vytvořil soubor veřejně využitelných dat, ověřil nový biotechnologický postup zpracování digestátu, podpořil přenos poznatků mezi výzkumnými organizacemi a podnikovou sférou a připravil základ pro navazující pilotní a demonstrační aktivity zaměřené na udržitelnější využívání výstupních proudů ze zemědělských bioplynových stanic.

6 FINANCOVÁNÍ Z NPO

Nedochází ke dvojímu financování. Nedochází ke střetu zájmů ve smyslu článku 61 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/1046 ze dne 18. července 2018.