

**Univerzita Karlova**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Ochrana životního prostředí

Studijní obor: B-OZP



**Lenka Šilingerová**

**BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V PROCESECH NAKLÁDÁNÍ S BIOODPADY**

Lactic acid bacteria in biowaste management processes

Bakalářská práce

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

Praha, 2024

**Prohlášení:**

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

**V Praze, 2024**

**Podpis**

**Charles University**

**Faculty of Science**

**Poděkování:**

**Chtěla bych poděkovat vedoucí práce RNDr. Petře Innemanové za výběr tématu, cenné rady, trpělivost, pochopení a podporu, kterou mi poskytovala v průběhu psaní této práce. Vaše připomínky a návrhy mě posunuly vpřed a pomohly mi dosáhnout lepších výsledků.**

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce poskytuje ucelenou studii z oblasti nakládání s bioodpady se zaměřením na procesy, které využívají specifické druhy mikroorganismů, jako jsou bakterie mléčného kvašení. Rešeršní práce se zaměřuje především na popis různých metod a technologií, které umožňují efektivní a udržitelné zpracování bioodpadu a jeho přeměnu na produkty s přidanou hodnotou. Poukazuje také na využití mikroorganismů při fermentaci a rozkladu organických materiálů s cílem minimalizovat odpad a získat hodnotné vedlejší produkty, jako jsou organická hnojiva nebo bioplyn. Kromě toho jsou uvedeny možnosti využití těchto produktů v různých odvětvích, jako je zemědělství a průmysl, orientovaných na jejich ekonomickou a ekologickou udržitelnost. Tato práce také zkoumá možnosti a snahy začlenit nebo nahradit tyto inovativní metody v praxi a přináší nové nápady pro budoucí výzkum a vývoj v oblasti využití produktů s přidanou hodnotou získaných udržitelným zpracováním bioodpadu.

**Klíčová slova: bakterie mléčného kvašení, bioodpad, sanitace**

## **Abstract**

This bachelor's thesis provides a comprehensive study in the field of bio-waste management, focusing on the processes used in this field, including the micro-organisms involved, such as lactic acid bacteria. This thesis focuses mainly on the description of various methods and technologies that enable efficient and sustainable processing of bio-waste and its transformation into value-added products. It also points to the use of microorganisms in the fermentation and decomposition of organic materials in order to minimize waste and obtain valuable by-products such as organic fertilizers or biogas. In addition, the possibilities of using these products in various sectors, such as agriculture and industry, oriented towards their economic and ecological sustainability, are presented. This work also explores the possibilities and efforts to incorporate or replace these innovative methods in practice and suggests new ideas for future research and development in the area of using value-added products obtained from sustainable bio-waste processing.

**Key words: lactic acid bacteria, biowaste, sanitation**

## Obsah

Seznam zkratk.....	- 7 -
1.Úvod .....	- 8 -
2.Cíl práce.....	- 8 -
3.Biologicky rozložitelný odpad.....	- 9 -
3.1.Strategie Evropské unie při nakládání s bioodpady.....	- 10 -
3.2.Legislativa České republiky .....	- 11 -
3.3.Nakládání s bioodpadem v domácím měřítku .....	- 12 -
3.4.Nakládání s bioodpadem v průmyslovém měřítku .....	- 13 -
4.Fermentační procesy.....	- 14 -
4.1.Aerobní fermentace .....	- 15 -
4.2.Anaerobní fermentace.....	- 16 -
5.Bakterie mléčného kvašení.....	- 18 -
5.1.Klasifikace bakterií mléčného kvašení (LAB) .....	- 19 -
5.2.Vlastnosti bakterií mléčného kvašení .....	- 20 -
5.3.Podmínky růstu bakterií mléčného kvašení.....	- 22 -
6.Využití mléčné fermentace v oblasti nakládání s bioodpady.....	- 23 -
6.1.Aplikace kyseliny mléčné pro výrobu biopolymerů.....	- 23 -
6.2.Úprava a konzervace biologického odpadu pomocí mléčné fermentace .....	- 26 -
6.3.Využití produktů mléčné fermentace bioodpadů v zemědělství.....	- 27 -
7.Závěr.....	- 28 -
8.Seznam použité literatury .....	- 29 -

## **Seznam zkratek**

AD – anaerobní digesce

BRKO – biologicky rozložitelný komunální odpad

CH<sub>4</sub> – metan

CO<sub>2</sub> – oxid uhličitý

ČR – Česká republika

EM – efektivní mikroorganismy

EU – Evropská unie

LA – kyselina mléčná

LAB – Bakterie mléčného kvašení

OH – oběhové hospodářství

PET – polyethylentereftalát

PLA – kyselina polymléčná

PP – polypropylen

PVC – polyvinylchlorid

rDNA – ribozomální DNA

ZEVO – zařízení pro energetické využití odpadů

# 1. Úvod

Téma udržitelného nakládání s bioodpady se v současné době stává velmi aktuální. Odpad jako takový je produkován neustále a s přechodem na cirkulární ekonomiku a snahou o minimalizaci negativního vlivu na životní prostředí, je důležité upřednostnit jeho využití před odstraněním. Podobně se dá nakládat i s bioodpadem. V kontextu oběhového hospodářství (OH) je nutné omezit skládkování bioodpadů a pracovat na jeho recyklaci nebo kompostování. V případě využití bioodpadu přímo v domácnosti, například prostřednictvím kompostování, jak je uvedeno výše, hovoříme o předcházení vzniku odpadu. Při separovaném sběru, například do hnědých kontejnerů, je bioodpad předán za účelem recyklace ke zpracování do kompostáren nebo vermikompostáren, případně se záměrem energetického využití do bioplynové stanice.

Schopnost biologicky rozložitelného odpadu samovolně podléhat aerobnímu nebo anaerobnímu rozkladu může vést k problémům s šířením zápachu nebo obtěžujícího hmyzu při jeho skladování a schraňování. V gastroodpadu, který může navíc obsahovat vedlejší živočišné produkty, se mohou také vyskytovat nežádoucí patogeny, a proto jej nelze kompostovat ani likvidovat v bioplynové stanici bez předchozí sanitace. Procesy mléčné fermentace neboli mléčného kvašení v poslední době nacházejí stále větší uplatnění také v oblasti odpadového hospodářství, zejména jako inovativní prostředky přeměny biologického odpadu na užitečné a ekologicky šetrné produkty. Jedním z příkladů může být tzv. Bokashi fermentace kuchyňských odpadů v domácnostech nebo produkce kyseliny mléčné s využitím bioodpadu jako růstového substrátu.

## 2. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je shromáždit a popsat dostupné informace o klíčových principech mléčného kvašení a jeho využití v biologickém zpracování odpadů. Důraz je kladen na to, jak efektivně tyto procesy rozkládají organické materiály a jaké produkty lze tímto způsobem získat. Druhým hlavním cílem této práce je zhodnotit potenciál mléčné fermentace eliminovat patogenní mikroorganismy a tím zlepšit hygienické podmínky bioodpadu.



### 3. Biologicky rozložitelný odpad

Biologicky rozložitelný odpad je v České republice právně definován podle zákona č. 541/2020 Sb. jako odpad podléhající aerobnímu nebo anaerobnímu rozkladu a dále pak jako biologicky rozložitelný odpad ze zahrad a veřejné zeleně, potravinový a kuchyňský odpad z domácností, kanceláří, restaurací, velkoobchodu, jídelen, stravovacích nebo maloobchodních zařízení a srovnatelný odpad ze zařízení potravinářského průmyslu (Zákon č. 541/2020 Sb., 2020). Tyto odpady lze zpracovat v kompostárnách nebo jinými biologickými způsoby úpravy. Rovněž tento zákon definuje tzv. BRKO, do kterého spadá biologicky rozložitelný odpad obsažený v komunálním odpadu.

Obecně vzniká biologický odpad v přírodě neustále v důsledku přírodních procesů. Jedná se například o odumřelé části rostlin, případně uhynulé živočichy nebo například exkrementy. Příroda však v takovém případě s odpadem nakládá sama a dokáže jej přirozeně využít ve svůj prospěch (Grusman and Vitmajerová, no date), čímž nedochází k zatížení životního prostředí. Pokud je biologický odpad vznikající lidskou činností vhodně separován, mohou být přírodní cykly živin a organické hmoty využity v procesech kompostování, vermikompostování nebo např. anaerobní digesce. Bez separace končí biologický odpad jako součást směsného komunálního odpadu. Ten je buď ukládán na skládku, kde je biologická složka hlavní příčinou emisí skleníkových plynů, případně je spalován v zařízení pro energetické využití odpadů (ZEVO), kde díky vysokému podílu vlhkosti nežádoucím způsobem snižuje výhřevnost směsného odpadu. Pokud se biologický odpad stane součástí směsného komunálního odpadu, jedná se o ztrátu materiálu, který má velký potenciál pro různá další využití (Wang *et al.*, 2020).

Obecně lze biologický odpad rozdělit do čtyř hlavních kategorií, a to živočišný odpad, odpad z lesnictví a agroprůmyslu, odpad z potravinářského průmyslu a komunální odpad (Ashrafi *et al.*, 2022). Nakládání s pevným komunálním odpadem však zůstává stále výzvou z důvodu obav o životní prostředí, zejména ohrožení lidského zdraví, emisí těkavých organických sloučenin, výluhů, toxicity pro rostliny a zvýšených nákladů spojených s dodávkami energií a likvidací uloženého odpadu na skládkách (Shahbaz *et al.*, 2019). Vzhledem k tomu, že různé regiony a země mají své vlastní stravovací návyky (Wang *et al.*, 2020), biologický odpad, zejména ten potravinový, má mnoho variant a různé vlastnosti, podle toho, z jakých pochází zdrojů. Například v Evropě tvoří potravinový odpad ze 40 % zelenina a ovoce, z 33 % těstoviny a chléb, ze 17 % mléčné výrobky (včetně vajec) a z 9 %

zbytky masa a ryb, zatímco v Asii, zejména v Japonsku, Číně a Jižní Koreji tvoří 56 % potravinového odpadu zelenina a ovoce, 34 % rýže a nudle a jen malá část (něco kolem 10 %) jsou ryby, zbytky masa a mléčné výrobky (Braguglia *et al.*, 2018). Celkově však obvykle obsahuje vysoký podíl vody, biologicky rozložitelné organické látky (jako jsou sacharidy, bílkoviny a lipidy) a minerální látky (Wang *et al.*, 2020). Dnes již existuje celosvětový trend směrem k ekologickému nakládání s odpady s cílem snížit spotřebu primárních surovin (Pavlas *et al.*, 2020). Tento trend je známý jako oběhové hospodářství a politiky Evropské unie podporují zejména aktivity v oblasti snižování odpadu, recyklace a jejich využití v rámci výše zmíněné cirkulární ekonomiky (Mihai and Ingrao, 2018).

### **3.1.Strategie Evropské unie při nakládání s bioodpady**

V poslední době se diskutuje o zhodnocování komunálního odpadu a bioodpadu z domácností jako relevantní součásti strategie oběhového hospodářství Evropské unie (EU) (Siegfried *et al.*, 2023). S přidáváním hodnoty však souvisí některé právní, technické a ekonomické problémy. Jedním z klíčových ovlivňujících faktorů je právní rámec EU o odpadech, který popisuje stav, kdy odpad přestává být odpadem, a definuje kritéria pro opětovné použití biologického odpadu (Siegfried *et al.*, 2023). Siegfried a kolektiv také poukazují na to, že zatímco legislativa EU podporuje recyklaci biologického odpadu, její uplatnění ve vnitrostátních a regionálních zákonech lehce zaostává (Siegfried *et al.*, 2023). Současně však sběr, zpracování a přeměna biologického odpadu mohou mít pozitivní dopad na zmírnění globální změny klimatu.

I přesto, že se vedou debaty o recyklaci biologického odpadu, se nakládání s odpady ve vyspělých zemích stává celosvětovým problémem, a to především kvůli rychlému kolapsu skládek a vysokým dopadům spojeným se skládkováním bioodpadu (Martínez-Blanco *et al.*, 2010). V reakci na tyto problémy vydala Evropská unie v roce 1999 Směrnici o skládkování (Council of the European Union, 1999), která členskými státy ukládá, aby snížily množství biologicky rozložitelného odpadu ukládaného na skládky podporou opatření ke zvýšení a zlepšení činností v oblasti třídění, recyklace nebo jejich opětovného využití (Martínez-Blanco *et al.*, 2010). V rámci ekologičtějšího přístupu k životnímu prostředí, byla v roce 2018 tato směrnice novelizována (Council of the European Union, 2018) tak, aby do konce roku 2023 byl umožněn oddělený sběr nebo recyklace bioodpadu přímo u zdroje, čímž se myslí ukládání bioodpadu přímo do individuálních nebo komunitních kompostérů (Gul, Khan and Meer, 2022). Směrnice rovněž stanovuje cíl, aby Evropská unie do roku 2025

recyklovala alespoň 55 % hmotnosti komunálního odpadu, přičemž tento cíl se má do roku 2030 zvýšit na 60 % a do roku 2035 dokonce na 65 %. Biologicky rozložitelný odpad je nejvýznamnější samostatnou složkou komunálního odpadu, tvořící přibližně jednu třetinu veškerého odpadu vyprodukovaného v EU, obce tak nebudou schopny splnit cíl 65 % recyklace, aniž by se nezabývaly problémem bioodpadu (Gul, Khan and Meer, 2022). Tato změna právních předpisů může mít za následek vyšší ocenění bioodpadu i celého odpadu jako celku. Navíc díky této úpravě skončí na skládkách méně organického materiálu, což může snížit množství skleníkových plynů vypouštěných do atmosféry.

Za zmínku také stojí strategie Evropské unie, která směřuje i k novým způsobům zhodnocování biologického odpadu, jako je výroba biopolymerů, konkrétně například polyhydroxyalkanoátů (PHA) (Siegfried *et al.*, 2023).

### **3.2. Legislativa České republiky**

Podle českého zákona č. 541/2020 Sb., který vstoupil v platnost 1. ledna 2021 a klade si za cíl vysokou úroveň ochrany životního prostředí a zdraví lidí, včetně využívání přírodních zdrojů předcházením vzniku odpadů a nakládání s nimi v souladu s hierarchií odpadového hospodářství je odpad každá movitá věc, které se osoba zbavuje, má úmysl nebo povinnost se jí zbavit (Zákon č. 541/2020 Sb., 2020). Tento zákon zpracovává také příslušné předpisy Evropské unie, a zároveň na ně navazuje.

V souvislosti s odpadovým hospodářstvím je nakládání s odpady založeno na hierarchii OH, podle níž je prioritou předcházení vzniku odpadu a nelze-li vzniku odpadu předejít, dochází k jeho přípravě k opětovnému použití, recyklace nebo jiného materiálového využití, a není-li možné ani to, dochází k jeho odstranění (Zákon č. 541/2020 Sb., 2020). Kromě omezení skládkování odpadů, podléhajícím tříděnému sběru jako jsou plasty, sklo, papír a kovy, zákon omezuje také skládkování biologicky rozložitelného odpadu. Mezi hlavní prováděcí předpisy tohoto zákona patří vyhláška č. 273/2021 Sb. O podrobnostech nakládání s odpady, která též shromažďuje právní předpisy Evropské unie a v souvislosti na ně navazuje. Mimo jiné doplňuje zákon č. 541/2020 Sb. a popisuje způsoby odstraňování odpadů a bioodpadů, včetně kalů a podmínky provozu skládek (Vyhláška č. 273/2021 Sb., 2021). Druhy odpadů nebo skupiny a podskupiny odpadů, které mohou zařízení přijímat, jsou popsány v katalogu odpadů vyhlášky č. 8/2021 Sb. (Vyhláška č. 8/2021 Sb. 2021). Například biologicky rozložitelné odpady je možné ukládat na skládku pouze v případě, jedná-li se o biologicky

rozložitelnou složku odpadů katalogových čísel 20 03 01, 20 03 02 (odpad z tržišť), 20 03 03 (uliční smetky) a 20 03 07 (objemný odpad) (Vyhláška č. 8/2021 Sb, 2021), a to pouze v případě, že původce zajišťuje oddělené soustředování biologických odpadů v rozsahu stanoveném vyhláškou (Vyhláška č. 273/2021 Sb., 2021).

### **3.3.Nakládání s bioodpadem v domácím měřítku**

Množství biologicky rozložitelného odpadu je dáno domácí, průmyslovou a zemědělskou produkcí bioodpadů, přičemž bioodpady z domácností tvoří největší objemovou část (Mihai and Ingrao, 2018). Organický odpad z domácností, který se dá udržitelně recyklovat, zahrnuje veškerý kuchyňský odpad s výjimkou materiálů živočišného původu, jako jsou tuky, oleje, maso, kosti, kůže a krev, které v tuzemsku vyžadují samostatný sběr a zpracování podle zákona č. 166/1999 Sb. (Zákon č. 166/1999 Sb., 1999). Kromě toho sem spadá téměř vše ze zahradnictví, jako jsou například větve stromů a keřů, zbytky odumřelých rostlin, tráva nebo plevel.

Samotný potravinový odpad je však obecně hojnější než odpad z údržby zahrad. Může to být způsobeno tím, že jsou potraviny důležité pro přežití lidstva, ale také dochází k nadměrnému plýtvání s nimi, jak definuje Organizace spojených národů (OSN) pro výživu a zemědělství, která plýtvání potravinami popisuje jako celosvětový problém (Braguglia *et al.*, 2018). Jak uvedli Melikoglu a kolektiv, vyplývané potraviny nejsou jediným problémem v této souvislosti. Vzhledem k tomu, že více než 95 % potravinového odpadu končí na skládkách (Melikoglu, Lin and Webb, 2013), má tento způsob ukládání biologického odpadu za následek výše uvedené negativní dopady na životní prostředí, které jsou způsobeny především nepříznivým vlivem otevřených skládek na biologicky rozložitelný odpad a mohou tak vést k uvolňování plynů, jako je metan (CH<sub>4</sub>) nebo oxid uhličitý (CO<sub>2</sub>), tedy skleníkových plynů, které přispívají ke globální změně klimatu.

V České republice je v současnosti skládkování biologicky rozložitelného odpadu zakázáno. Výjimku tvoří BRKO, pokud je součástí směsného komunálního odpadu. Každý občan má možnost odděleného sběru bioodpadu. Obce tuto povinnost plní různým způsobem, ať už je to formou komunitní kompostárny, přidělením hnědých nádob domácnostem nebo na veřejná místa apod. Do těchto nádob nebo zařízení ale nepatří tzv. vedlejší živočišné produkty, jako jsou zbytky masa, kostí, mléčných výrobků apod. se kterými musí být nakládáno podle veterinárního zákona (Zákon č. 166/1999 Sb., 1999). Pokud je bioodpad

z domácností například kompostován v domácích podmínkách a zde také využít jako hnojivo, jedná se o předcházení vzniku odpadů podle hierarchie nakládání s odpady (Zákon č. 541/2020 Sb., 2020). Mezi inovativní metody domácího zpracování bioodpadu patří různé fermentační procesy, jako je např. tzv. Bokashi fermentace (Olle, 2021), pomocí které je údajně možné bezpečně zpracovávat i živočišné odpady. Tato metoda funguje na principu mléčného kvašení odpadů, jehož potenciál je v souvislosti s odpady prozkoumaný jen částečně.

### **3.4. Nakládání s bioodpadem v průmyslovém měřítku**

Průmyslový biologický odpad, stejně jako ten z domácností, vyžaduje pozornost a možnosti recyklace pomocí inovativních metod. Jedním z přístupů současného využití biologického odpadu z průmyslu je surovinové využití pro výrobu biopaliv nebo bioplynu, který lze následně využít k výrobě elektrické energie a tepla. Kromě energetického využití pouhým spalováním (v ČR se jedná o ZEVO) lze organický materiál využít ke vzniku syntézního plynu, který lze pak využít jako palivo nebo k výrobě chemických látek. Hydrotermální karbonizace (HTC) jako termochemický proces, který přeměňuje bioodpad na dřevěné uhlí, které lze následně zpracovat na aktivní uhlí (Gul, Khan and Meer, 2022), je také jednou z inovativních možností. Pro zpracování biologicky rozložitelné odpadu z průmyslu se také využívá řízené kompostování (Martínez-Blanco *et al.*, 2010), které umožňuje přeměnu organického odpadu na kvalitní kompost. Průmyslové kompostárny mohou zpracovávat velké množství bioodpadu a produkují stabilizovaný kompost v krátkém čase (Ahmad *et al.*, 2007). U takového kompostu je potřeba brát ohled na případné soli, které mohou být obsaženy v bioodpadu, zejména pak v potravinovém odpadu (Wang *et al.*, 2020). Metabolické teplo, které vzniká při kompostování může být využito při sušení organického materiálu před dalším zpracováním. Tento proces zrychleného kompostování je potom nazýván biologickým dosoušením biomasy nebo biosušením (Tom, Pawels and Haridas, 2016).

Největšími producenty biologicky rozložitelného odpadu z průmyslu jsou především zemědělský a potravinářský průmysl, který je velmi rozmanitý a zahrnuje například zpracování ovoce a zeleniny produkující odpad jako je vyřazené ovoce, zelenina, semena, slupky, ale také tekutý odpad šťáv. Například v Indii se nachází největší asijský trh se zeleninou, ovocem a květinami, tj. trh Koyambedu, Chennai, který se rozkládá na ploše 60 akrů a produkuje přibližně 80 tun pevného odpadu denně (Sadh *et al.*, 2018). Součástí

potravinářského průmyslu je také mlékárenský průmysl, masný průmysl, námořní průmysl, a zpracovatelský průmysl obilí, ale také odvětví zahrnující výrobu alkoholických nápojů, jako je pivovarský průmysl (Sadh *et al.*, 2018), který, mimo jiné, patří k významným spotřebitelům vody, která se používá nejen při výrobě nápojů, ale i při mytí, čištění a dezinfekci (Olajire, 2020). Pivovarské mláto a kvasnice jsou známé jako mokřý pivovarský odpad (Sadh *et al.*, 2018) a lze je alternativně využít díky svému obsahu vlhkosti a objemu. Většina organického odpadu, který vzniká ve formě použitého sladu a chmele, je tradičně klasifikována jako potravinářský odpad, což umožňuje jeho přímou recyklaci v zemědělství, zejména jako krmivo pro zvířata (Thomas and Rahman, no date), stejně tak lze tento způsob recyklace využít také pro kaly z mlékárenského průmyslu (Watkins and Nash, 2010).

Některé způsoby zpracování průmyslového biologického odpadu, především jeho využití jako krmivo, jsou omezeny požadavky právní normy Evropské unie (Wang *et al.*, 2020), zejména kvůli možnému výskytu patogenních organismů a s tím souvisejících nemocí. Například Spojené státy, Japonsko a Čína zakázaly po vzoru EU všechny formy využití potravinářského odpadu jako krmiva pro přežvýkavce (Wang *et al.*, 2020). Toto omezení přispělo k hledání širších a šetrnějších možností likvidace těchto vedlejších produktů (Thomas and Rahman, no date). Například australská mlékárenská společnost Murray Goulburn přečerpává svůj přebytečný kondenzát na místní farmy pro použití při zavlažování (Watkins and Nash, 2010). Obdobně se hledá alternativní využití také u bioodpadů z dalších průmyslových odvětví. Jako příklad mohou sloužit vedlejší produkty z masného průmyslu, jako je živočišná krev. Ty se mohou v potravinářském průmyslu využít jako emulgátory, stabilizátory nebo také jako přísady do barviv (Sadh *et al.*, 2018). Je ale důležité věnovat pozornost legislativním požadavkům a ekologickým normám, aby bylo zajištěno ekologicky šetrné nakládání s bioodpadem a aby docházelo co k nejmenším negativním dopadům na lidské zdraví a životní prostředí. Je nutné inovativním metodám věnovat stále větší pozornost, protože některé odpady mnohou být mimo jiné stále předmětem otevřeného skládkování či jiné neekologické likvidace.

#### **4.Fermentační procesy**

Jednou z možností přepracování nebo valorizace bioodpadů je využití fermentačních procesů, které pomocí mikroorganismů přeměňují organickou hmotu na jednodušší látky. Tento proces je dobře známý a lidé jej používají po tisíce let, především za účelem výroby alkoholických nápojů, chleba a dalších produktů (Maicas, 2020). Z biochemického hlediska

jsou základem fermentačního procesu obvykle kvasinky a některé další organismy, které přeměňují sacharidy (škrob, cukr) na ethanol nebo kyselinu, čímž získávají energii. Tyto mikroorganismy jsou zodpovědný především za výrobu fermentovaných nápojů, jako jsou různá vína a piva, nebo fermentovaných potravin, včetně mléčných výrobků. Kromě tradičních alkoholových nápojů z ovoce, bobulovin nebo obilovin uvedených výše, se mikroorganismy používají také například při čištění odpadních vod nebo při výrobě paliv z biologických zdrojů, tj. biopaliv nebo při výrobě farmaceutických výrobků (Maicas, 2020).

Samotná fermentace může obecně probíhat dvěma způsoby. Jedná se buď o aerobní proces, tedy proces s přístupem kyslíku, kam patří například octová fermentace, nebo o anaerobní proces, tj. proces bez přístupu kyslíku, do kterého řadíme především alkoholovou a mléčnou fermentaci, ale také tzv. anaerobní digesci nebo též anaerobní vyhnívání označující kontrolovanou mikrobiální přeměnu organické hmoty na bioplyn a digestát. V dnešní době se fermentace využívá z více důvodů, především díky nižší zátěži pro životní prostředí nebo úspornějším nákladům na energie oproti chemickým procesům. Fermentace je velmi výhodná a žádaná v mnoha průmyslových odvětvích, mezi které patří především chemický, ale také potravinářský, zpracovatelský a farmaceutický průmysl (Chai *et al.*, 2022). Využívání tohoto procesu však přináší i některá úskalí. Fermentace je sice poměrně jednoduchý proces, aby proces proběhl uspokojivě, je nutné dodržet všechny potřebné podmínky, zejména se jedná o vhodnou teplotu a koncentraci živin (Maicas, 2020). Jde však především o pochopení biologických cyklů. Metabolismus mikroorganismů je poměrně složitý a citlivý na kultivační podmínky, takže i mírné změny mohou vést k různým metabolickým drahám (Chai *et al.*, 2022).

#### **4.1. Aerobní fermentace**

Některé studie řadí do kategorie aerobní fermentace proces kompostování, které probíhá za přítomnosti kyslíku, obvykle v otevřených nádobách (Gul, Khan and Meer, 2022). Jedná se o nejjednodušší a v současné době nejpoužívanější metodu. Původně byly biologické odpady vystaveny v přirozených podmínkách tlení, k rozvoji sofistikovanějších metod průmyslového kompostování došlo až po druhé světové válce. První kompostovací zařízení však bylo vyvinuto v Nizozemsku již v roce 1932 (Ahmad *et al.*, 2007). Vědecký vývoj ale vede k neustálým inovacím těchto procesů. Kompostování je přirozeně se vyskytující aerobní rozklad přírodních materiálů živými organismy (Pavlas *et al.*, 2020). Proto lze kompostovat jakoukoli biologicky rozložitelnou organickou hmotu (Ahmad *et al.*, 2007). Je

to dynamický proces, při kterém dochází k rychlému střídání smíšených mikrobiálních populací. Na začátku procesu dominují mezofilní bakterie, ale když teplota stoupne nad 40 °C, dominují kompostu termofilní bakterie, na konci procesu převládají opět mezofilní bakterie (Ahmad *et al.*, 2007). V průmyslovém měřítku kompostování je nutná kontrola procesních proměnných, jako je teplota, vlhkost, obsah kyslíku atd. Domácí kompostování výrazně snižuje ekonomické, materiálové a energetické investice a umožňuje přímou kontrolu procesu a vstupu organických materiálů (Martínez-Blanco *et al.*, 2010), čímž představuje ekologicky udržitelné řešení ve venkovských oblastech. Přestože kompostování lze provádět ve velkém měřítku, tato metoda byla vyvinuta především na úrovni domácností nebo malých firem, přičemž výsledný kompost se následně používá jako přírodní hnojivo (Mihai and Ingrao, 2018). Jakýkoli způsob kompostování je však udržitelnější než skládkování.

## **4.2. Anaerobní fermentace**

Anaerobní fermentace je proces, který probíhá bez přístupu kyslíku. Také v případě anaerobní fermentace jsou využívány vlastnosti mikroorganismů a jejich enzymů k zdárnému průběhu procesu. Jedná se však o mikroorganismy anaerobní nebo fakultativně anaerobní. Za anaerobní fermentaci můžeme označit především tzv. anaerobní digesci (AD). Jak již bylo zmíněno, jde o řízenou mikrobiální přeměnu organické hmoty bez přístupu vzduchu za vzniku bioplynu, jehož hlavními složkami jsou CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub>, a digestátu, fermentačního zbytku s vysokým obsahem vody (Pavlas *et al.*, 2020). Celkově je anaerobní digesci sekvenční proces, prováděný různými skupinami bakterií. Přeměna substrátů na různé produkty probíhá ve čtyřech fázích. Jedná se o hydrolýzu, která je nejdůležitějším krokem AD, protože zde dochází k přeměně organické hmoty na látky jednodušší, následuje acidogeneze, acetogeneze a metanogeneze, jako konečná fáze AD, při které vzniká z kyseliny octové metan (Laiq Ur Rehman *et al.*, 2019). Tato metoda v současnosti nabízí zelené a efektivní alternativní řešení, zejména pro odstraňování biologického odpadu a výrobu energie (Laiq Ur Rehman *et al.*, 2019), ale také kvůli své omezené environmentální stopě (Braguglia *et al.*, 2018). Je však nutné vzít v úvahu určité faktory kritické pro růst a metabolismus anaerobních mikroorganismů, které mohou proces anaerobní digesci ovlivnit. Jednak jsou to provozní podmínky, ale také složení vstupního substrátu (Shahbaz *et al.*, 2019), který by měl obsahovat především sacharidy, bílkoviny a tuky. Organické odpady ze zemědělství, gastronomie a různé organické kaly z průmyslu, ale i papír a buničina (Laiq Ur



Rehman *et al.*, 2019), tak představují všudypřítomné zdroje, které lze využít k přeměně na bioenergii. Čím více těchto klíčových složek substrát obsahuje, tím více bioenergie je vyprodukováno. Například výše zmíněná anaerobní digesce pro zpracování tuhého komunálního odpadu nebo zemědělských zbytků má dvojí výhodu, protože nejen že produkuje bioplyn, který lze použít k výrobě ekonomicky levnějšího tepla a elektřiny, ale také okamžitě zpracovává zbytky, čímž snižuje jejich ukládání na skládky (Shahbaz *et al.*, 2019).

V souvislosti s anaerobní fermentací bioodpadů je v současné době zmiňována také tzv. Bokashi metoda, která umožňuje zhodnocení odpadu v domácím i průmyslovém měřítku. Technologie Bokashi je jednoduchá, ale inovativní metoda pro recyklaci a zhodnocení různých druhů bioodpadu na produkty bohaté na živiny, které lze po další úpravě použít jako organická hnojiva (Olle, 2021). Jako kapalné přírodní hnojivo je možné využít také výluh, který při zpracování odpadů touto cestou vzniká. Bokashi je japonský výraz pro fermentovanou organickou hmotu a je ekvivalentem kompostu používaného v tradičním ekologickém zemědělství, který se připravuje především přidáním tzv. efektivních mikroorganismů (EM) (Boechat, Santos and Accioly, 2013), konkrétně smíšených kultur bakterií mléčného kvašení a kvasinek. Fermentovaný Bokashi kompost je směs organické hmoty, která byla primárně fermentována za vzniku kyseliny mléčné. Může být připraven z téměř jakéhokoli dostupného zemědělského vedlejšího produktu nebo jiné organické hmoty (Jaramillo-López, Ramírez and Pérez-Salicrup, 2015). Fermentační procesy jako je Bokashi, nevyžadují k přeměně organického odpadu kyslík, takže je přeměna zcela bez zápachu, a to díky nádobám s uzavíratelným vzduchotěsným uzávěrem.



(Obrázek 1. a 2.) – Nádoba na domácí fermentaci kuchyňského odpadu metodou Bokashi

Tato metoda, kromě kyslíku zabraňuje vnikání hmyzu nebo přístup hlodavcům. Kyselé a anaerobní prostředí může, mimo jiné, rychle inhibovat životaschopnost patogenů, takže pomocí této technologie lze recyklovat i kontaminovaný biologický odpad (Olle, 2021). Tento proces můžeme nazvat udržitelným, navíc mikroorganismy, zejména bakterie mléčného kvašení, přidávající se do Bokashi patří mezi probiotika, což dává výslednému produktu mnoho výhod. Navíc je to také poměrně rychlá metoda, protože proces zahrnuje organismy, které svou bakteriální aktivitou umožňují získat produkt v krátkém čase, na rozdíl třeba od samotného vermikompostu (Álvarez-Solís *et al.*, 2016). Kompost vzniklý fermentací Bokashi metodou je před využitím jako půdní organický doplněk zapotřebí následně upravit, například kompostováním nebo vermikompostováním, aby nebyl fytotoxický. Tato japonská metoda však není v Evropě příliš známá, ale široké a úspěšné použití této technologie v Asii a Oceánii (Olle, 2021) dokazuje její velký potenciál.

## 5. Bakterie mléčného kvašení

Zmínky o bakteriích mléčného kvašení neboli také LAB (z angl. Lactic Acid Bacteria) pocházejí již z dávných dob. Od pradávna se používaly při výrobě a konzervaci potravin nebo byly spojovány s léčivými účinky (Raman *et al.*, 2022). Bakterie mléčného kvašení jsou grampozitivní, anaerobní nebo fakultativně anaerobní nebacily. Mají vysokou schopnost štěpit sacharidy, ale velmi nízkou schopnost degradovat bílkoviny (Wang *et al.*, 2020). V novější literatuře se uvádí, že tyto mikroorganismy mají vysoký probiotický potenciál, a proto mohou být použity jako probiotika k obnově střevní flóry po dlouhodobém

užívání antibiotik, která přirozenou flóru ničí (Admassie, 2018). Kromě toho jsou schopny produkovat tzv. bakteriociny, které jsou klasifikovány jako bioaktivní bílkovinné látky nebo proteinové komplexy s toxickou, tj. antimikrobiální aktivitou, proti blízce příbuzným druhům (Reis *et al.*, 2012). Tyto vlastnosti přinášejí slibné vyhlídky ve vývoji antibiotik s probiotickými vlastnostmi, která mohou být kandidáty na nahrazení tradičních antibiotik k léčbě patogenů rezistentních na více druhů léčiv (Admassie, 2018).

Bakterie mléčného kvašení mají celosvětově uznávaný status GRAS (Generally Recognized as Safe) udělený americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv, který je klasifikuje jako jeden z organismů obecně uznávaných jako bezpečné (Reis *et al.*, 2012; Mokoena, 2017). V dnešní době jsou LAB využívány při průmyslové výrobě kyseliny mléčné, jelikož se jedná o bezpečný způsob pro zaměstnance i koncové uživatele (Costa *et al.*, 2020). Některé publikace však uvádí, že tyto mikroorganismy mají potenciál způsobovat závažná onemocnění nebo infekce, jako je bakteriémie, meningitida, endokarditida, zubní kazy a podobně. Tyto případy jsou však velmi vzácné a účinky často zahrnují komorbidity, zejména u pacientů se špatným nebo zhoršeným zdravotním stavem, jako je snížený stav imunitní schopnosti nebo onemocnění srdce či plic (Robin *et al.*, 2010; Callaway *et al.*, 2013; Naqvi, Nagendra and Hofmeyr, 2018; Albarillo *et al.*, 2020).

### **5.1. Klasifikace bakterií mléčného kvašení (LAB)**

Definice bakterií mléčného kvašení je spíše biologická než taxonomická, protože LAB tvoří monofyletická skupina bakterií (Makarova and Koonin, 2007). Tyto bakterie jsou klasifikovány jako grampozitivní, nepohyblivé organismy bez tvorby spor ve formě tyčinek a koků, které, jak již bylo zmíněno, mohou fermentovat sacharidy a produkovat kyselinu mléčnou jako hlavní konečný produkt (Reis *et al.*, 2012). Obecná klasifikace rodů LAB byla založena na morfologii, způsobu fermentace glukózy, růstu při určitých teplotách a rozsahu využití cukrů (Khalid, 2011). Bakterie mléčného kvašení jsou fylogeneticky blízce příbuzné mikroorganismy s podobnou morfologií, metabolismem a fyziologií (Khalid, 2011). K identifikaci LAB se proto nejčastěji používají fenotypové metody, ale v poslední době byly vyvinuty také nové molekulární techniky (Mokoena, 2017), jako je sekvence rDNA (Khalid, 2011), které umožňují přesnější identifikaci kmenů.

Bakterie mléčného kvašení se skládají z přibližně dvaceti bakteriálních rodů (Wang *et al.*, 2020), z nichž nejznámější jsou *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*,

*Streptococcus* a *Weissella* (Khalid, 2011), přičemž rod *Lactobacillus* je tím největším zahrnující více než sto druhů (Mokoena, 2017; Wang *et al.*, 2020). Většina z těchto druhů je izolována z gastrointestinálního traktu lidí a zvířat (Mokoena, 2017), i když několik druhů pochází také ze zeleniny a jejích fermentovaných produktů (Djadouni and Kihal, 2012). Ačkoli druhy rodu *Leuconostoc* jsou primárně izolovány z chlazeného masa, lze je získat také z rostlinného materiálu, fermentovaných mléčných výrobků a vína (Goldstein, Tyrrell and Citron, 2015). Rod *Pediococcus* se podílí na kažení fermentovaných nápojů, zejména piva, a přestože byly druhy *Lactococcus* izolovány z rostlinného materiálu, nejvíce se vyskytují v mléčných výrobcích (Mokoena, 2017).

Bakterie mléčného kvašení jsou chemotrofní mikroorganismy. energii, potřebnou pro celý svůj metabolismus, získávají oxidací chemických sloučenin. Podle způsobu asimilace sacharidů a na základě vzniku produktů, můžeme také jednoduše bakterie mléčného kvašení rozdělit na dvě fyziologické skupiny, a to na homofermentativní bakterie a heterofermentativní bakterie. Homofermentativní bakterie mléčného kvašení produkují z cukrů primárně kyselinu mléčnou (LA), zatímco heterofermentativní bakterie mléčného kvašení produkují kyselinu mléčnou, kyselinu octovou, ethanol a oxid uhličitý (Zfifiiga, Pardo and Ferrer, 1993). Jejich identifikace je možná na základě produkce oxidu uhličitého, ale ne všechny druhy mají prokazatelné výsledky, proto byla zavedena nová identifikační metoda, která umožňuje detekovat barevné změny v každé fermentaci pomocí indikátoru pH. Při homogenní fermentaci se kolonie bakterií mléčného kvašení barví modrozelenou barvou, zatímco při heterogenní fermentaci zůstávají kolonie zbarveny bíle (McDonald *et al.*, 1987; Zfifiiga, Pardo and Ferrer, 1993).

## **5.2. Vlastnosti bakterií mléčného kvašení**

Termínem LAB se rozumí především způsob metabolismu bakterií mléčného kvašení, kterým je fermentace cukrů za vzniku kyseliny mléčné. Proto tyto bakterie hrají důležitou roli zejména v mlékárenském průmyslu, nejen že způsobují kažení potravin, ale jsou také nezbytné pro výrobu potravinářských produktů (Gaus *et al.*, 2006), jako jsou sýry nebo jogurty. Další charakteristikou bakterií mléčného kvašení je jejich vysoká tolerance vůči kyselosti (nízké pH) (Mokoena, 2017). Tato schopnost jim umožňuje inhibovat další bakterie, včetně těch patogenních (Djadouni and Kihal, 2012), které nesnesou zvýšenou kyselost způsobenou produkcí organických kyselin, jako je právě zmíněná kyselina mléčná, která je také nejpoužívanější karboxylovou kyselinou a je důležitou surovinou pro

potravinářský, farmaceutický, textilní, kožedělný a mnoho dalších chemických odvětví (Wang *et al.*, 2020).

Bakterie mléčného kvašení jsou konkurenční mikrobiota a používají se jako alternativy ke zlepšení bezpečnosti potravin, tedy pro hygienické účely, nebo se díky svým metabolickým vlastnostem často používají k pozitivnímu přispívání chuti, struktuře a nutriční hodnotě potravin. Jejich výše uvedené antimikrobiální vlastnosti pocházejí z konkurence o živiny a produkce jednoho nebo více metabolitů, jako jsou organické kyseliny, zejména kyselina octová a známá kyselina mléčná, dále pak peroxid vodíku a další sloučeniny, jako jsou vysoce specifické antimikrobiální proteiny, jmenovitě bakteriociny a různé další antifungální peptidy (Reis *et al.*, 2012).

Mnoho druhů bakterií mléčného kvašení, jako je především *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., bylo navrženo a použito jako probiotické kmeny, jak již bylo zmíněno, jako doplňky stravy prospěšné pro zdraví (Ljungh and Wadström, no date). Kromě toho jsou LAB nejhojnější bakterie spojené s lidmi a přirozeně se vyskytují na površích sliznic (Makarova and Koonin, 2007). Zdravotní tvrzení pro výše uvedené doplňky stravy se pohybují od relativně vágních, jako je regulace střevní aktivity a zklidnění její mikroflóry (Admassie, 2018), až po ta specifitější, jako je ochrana proti gastrointestinálním onemocněním, jako je *Helicobacter pylori* nebo jiné rotaviry patogenu traktu (Ljungh and Wadström, no date). Většina vědců souhlasí s tím, že probiotické kmeny musí být schopny přežít kyselé prostředí žaludku a také žluč a pankreatické šťávy v horní části tenkého střeva, aby měly příznivé účinky v dolním tenkém střevě a v tlustém střevě (Ljungh and Wadström, no date; Mokoena, 2017). Ljungh a Wadström uvádí, že bakterie mléčného kvašení dokážou přežít v gastrointestinálním traktu především díky vazbě proteinů, produkci antioxidantů, jako je vitamin C nebo také díky produkci antimikrobiálních látek, jako jsou bakteriociny (Ljungh and Wadström, no date).

Bakterie mléčného kvašení mají kromě probiotických vlastností také antifungální aktivitu, tedy jsou odolné vůči mykotoxinům. Například chrání rostliny před patogenními bakteriemi. Této schopnosti je dosaženo produkcí antifungálních sloučenin, což jim umožňuje vázat nebo degradovat mykotoxiny (Bergsma *et al.*, 2022). Během procesu degradace se však mykotoxiny mohou přeměnit na toxičtější látky. Lepším způsobem, jak se s mykotoxiny vypořádat, je jejich navázání na bakteriální buněčnou stěnu nebo prostřednictvím proteinů na povrchu bakteriálních buněk (Bergsma *et al.*, 2022). Některé kmeny LAB jsou také

všudypřítomnými členy mnoha rostlinných biomů (Raman *et al.*, 2022), a tak mohou dobře podporovat výnos a růst rostlin, včetně vyšší produkce chlorofylu a prodloužení výhonků a kořenů (Bergsma *et al.*, 2022). Vědci se domnívají, že těchto schopností je dosaženo produkcí organických kyselin, které pomáhají rostlinám absorbovat živiny. Kromě toho mají tyto bakterie také potenciál rozpouštět fosfát, čímž zvyšují množství fosforu, limitujícího prvku pro rostliny, a mohou také zvyšovat fixaci dusíku (Kang *et al.*, 2015).

### 5.3. Podmínky růstu bakterií mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení jsou jedním z nejnáročnějších mikroorganismů z hlediska růstových médií. Tato skupina bakterií je velmi rozmanitá, přičemž téměř každý druh vyžaduje jiné nezbytné podmínky pro růst a reprodukci. Bakterie mléčného kvašení obecně využívají uhlík jako svůj hlavní zdroj energie, jejich rozmanitost tak závisí na jeho hojnosti (Raman *et al.*, 2022). Typicky je kromě uhlíku vyžadován také zdroj dusíku, (jako jsou různé peptidy) a další látky podporující růst, jako jsou pufrující látky, které zvyšují pH díky jeho poklesu při tvorbě organických sloučenin, jako je octan sodný, fosforečnan sodný nebo uhličitan vápenatý. Také minerály, jako jsou ionty železa ( $\text{Fe}^{2+}$ ), hořčíku ( $\text{Mg}^{2+}$ ), vápníku ( $\text{Ca}^{2+}$ ) a draslíku ( $\text{K}^{2+}$ ) (Yeboah, Ibrahim and Krastanov, 2023) se často přidávají do kultivačního média, aby se zlepšila jeho nutriční kvalita, což opět vede k podpoře bakteriálního růstu. Pokud jde o expozici vzduchu, bylo zmíněno, že bakterie mléčného kvašení jsou anaerobní nebo fakultativně anaerobní, a proto nepotřebují ke svému životu a reprodukci kyslík.

Bakterie mléčného kvašení jsou také citlivé na pH svého prostředí, proto, jak již bylo zmíněno dříve, se do kultivačního média přidávají pufrující látky. Většina LAB preferuje pH kolem 5,6 (Mokoena, 2017), ale mohou také přežít při nižších hodnotách, jako je pH 4 (Ljungh and Wadström, no date), což je mimo toleranci většiny acidogenních bakterií (Wang *et al.*, 2020). Například Yeboah a kolektiv uvedli, že druhy rodů *Lactobacillus* a *Pediococci* dokonce snižují svou produkci kyseliny mléčné pH na 3,5, než dojde k jejich inhibici (Yeboah, Ibrahim and Krastanov, 2023). Dalším důležitým ovlivňujícím faktorem je okolní teplota, i když rozsah je zde o něco větší, většina LAB preferuje teploty od 20 °C do 40 °C (Wang *et al.*, 2020), ačkoli Yeboah a kolektiv tvrdí, že ideální teplotní rozsah pro aktivitu mikrobiálních enzymů je 22 °C až 25 °C (Yeboah, Ibrahim and Krastanov, 2023).

Bakterie mléčného kvašení mají proto jedinečné a velmi komplexní nutriční požadavky, které zahrnují kromě výše uvedeného nároky také na aminokyseliny, mastné kyseliny, nukleotidové báze a vitamíny (Khalid, 2011). Výroba a zajištění optimálních podmínek růstového média je často nákladné, zejména pak vysoká cena zdrojů dusíku (Yeboah, Ibrahim and Krastanov, 2023) omezuje jejich použití. V posledních letech však začal výzkum levných a dostupných zdrojů, což může být vhodná varianta vedoucí k velkovýrobě bakterií mléčného kvašení (Yeboah, Ibrahim and Krastanov, 2023). Tyto potenciálně vhodné zdroje představují především zemědělské odpady, jako jsou rostlinné zbytky, dřevní materiály nebo vedlejší produkty potravinářského průmyslu. Zejména zemědělské odpady díky své rozmanitosti obsahují specifické nutriční výhody, jako je uhlík a dusík, ale také obsahují vitaminové a minerální zdroje, které lze použít jako alternativy k drahým zdrojům uhlíku (glukóza) a dusíku (Yeboah, Ibrahim and Krastanov, 2023).

## **6. Využití mléčné fermentace v oblasti nakládání s bioodpady**

Jak již bylo zmíněno, mléčná fermentace v současnosti představuje možnou alternativu valorizace bioodpadů v kontextu oběhového hospodářství. Výhodou je účinnost a nízké náklady při zpracování biologicky rozložitelného odpadu. Produkty produkované mléčnou fermentací, zejména produkty pocházející z biologického odpadu, jsou široce využitelné v mnoha oborech. Jedním z nich je nahrazení konvenčních plastů biopolymery, které lze získat mléčnou fermentací biologicky rozložitelného odpadu. Například celosvětová poptávka po kyselině mléčné se blíží ke 4 milionům tun ročně a očekává se, že v blízké budoucnosti rychle poroste (Panesar and Kaur, 2015). Nejvíce se do popředí dostávají metody související se zemědělskými aplikacemi, kde produkty získané mléčnou fermentací mají velký potenciál nahradit chemické pesticidy a přispět tak k zelenému zemědělství. A konečně, mléčná fermentace je také schopna zachovat a konzervovat různé typy materiálů, díky bakteriím mléčného kvašení, které se účastní procesu. Tato vlastnost je dnes také velmi uznávaná, mléčná fermentace nejen konzervuje různé druhy potravin, jako je kysané zelí, jogurty, sýry nebo asijské speciality, jako je kimchi, ale případně také biologicky rozložitelný odpad a snižuje tak rizika pro životní prostředí během jeho skladování.

### **6.1. Aplikace kyseliny mléčné pro výrobu biopolymerů**

Kyselina mléčná (LA) neboli kyselina 2-hydroxypropionová je dnes jednou z nejdůležitějších chemických látek a používá se od svého objevení v roce 1780 (Panesar

and Kaur, 2015). Kromě využití v potravinářském, nápojovém a farmaceutickém průmyslu nachází uplatnění také při výrobě kyseliny polymléčné (PLA). Kyselina mléčná se přirozeně vyskytuje ve dvou optických izomerech, kyselině D-mléčné a kyselině L-mléčné. Komerční produkce kyseliny mléčné může být provedena chemickou syntézou nebo fermentací (Panesar and Kaur, 2015). Racemické směsi kyseliny D, L-mléčné lze vyrábět chemickými metodami, které zvyšují náklady na separaci, zatímco fermentace se jeví jako výhodnější varianta, protože je založena na tvorbě jednotlivých izomerů kyseliny mléčné v závislosti na přítomnosti druhu organismu (Ahmad, Banat and Taher, 2020). Pro výrobu kyseliny polymléčné se tak nejčastěji používá homogenní fermentace, protože má výhody díky vysokému výtěžku samotné kyseliny mléčné. Jednotlivé izomery kyseliny mléčné jsou následně polymerací modifikovány za vzniku již zmíněné kyseliny polymléčné, která je biologicky odbouratelná a má velký potenciál jako biokompatibilní polymer, často používaný při výrobě obalových materiálů, vláken a pěn (Ahmad, Banat and Taher, 2020).

V současné době představují plasty největší zátěž pro životní prostředí, a to především díky jejich širokému využití v každodenním životě. Vývoji levných a odolných plastů na bázi biomateriálů se širokou použitelností je proto věnována stále větší pozornost (George *et al.*, 2021). Tento přístup šetrný k životnímu prostředí by mohl odstranit naši závislost na konvenčních polymerech založených na fosilních palivech a vést nás k ekologičtější budoucnosti. Plasty jako polypropylen (PP), polyethyltereftalát (PET), polyvinylchlorid (PVC), polystyren atd. jsou syntetické polymery s širokým spektrem použití (George *et al.*, 2021). V roce 2015 bylo vyrobeno více než 300 milionů tun plastů, což vedlo k 24 milionům tun plastového odpadu (Vega-Baudrit, Prendiz and Mena, 2019), který souvisí s problematikou nerozložitelných mikroplastů (George *et al.*, 2021). Proto jsou bioplasty vyrobené z biologicky rozložitelného odpadu nejen šetrné k životnímu prostředí, ale mohou také účinně zlepšit nakládání s biologickým odpadem. To je také důvod, proč je velký zájem o vývoj bioplastů z odpadů produkovaných zemědělským a potravinářským průmyslem (George *et al.*, 2021), jako je běžně používaný kukuřičný škrob, i když se zkoumají další zdroje, jako jsou brambory, ječmen, oves, cukrová řepa atd. (Vega-Baudrit, Prendiz and Mena, 2019). Bioplasty mají také srovnatelné vlastnosti (pružnost, pevnost, odolnost) s konvenčními plasty jako je již zmíněný PP, PET nebo PVC, ale oproti plastům jsou schopny v relativně krátké době rozkladu, především v kompostu, a to viditelně do 30 dnů (Vega-Baudrit, Prendiz and Mena, 2019).



<b>SROVNÁNÍ HLAVNÍCH VLASTNOSTÍ KONVENČNÍCH PLASTŮ S BIOPLASTY</b>		
<b>VLASTNOSTI</b>	<b>PLASTY NA BÁZI CHEMICKÝCH LÁTEK</b>	<b>PLASTY NA BÁZI BIOODPADŮ</b>
<b>PŮVOD</b>	Uhlovodíky (neobnovitelné zdroje)	Zemědělský odpad, potravinářský odpad, papírový odpad... (obnovitelné zdroje)
<b>ROČNÍ PRODUKCE</b>	311 milionů tun	4,2 milionu tun
<b>UDRŽITELNOST</b>	Převážně biologicky nerozložitelné, mohou obsahovat toxikologicky problematická aditivita (obsahují Bisfenol A (BPA))	Převážně biologicky rozložitelné
<b>VLIV NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ</b>	Ovlivňují změny globálního oteplování, vedou k vyčerpání neobnovitelných zdrojů	Šetrné (většinou) k životnímu prostředí, nedochází k vyčerpání neobnovitelných zdrojů

(TAB 2) Tabulka srovnání komerčních plastů a plastů na bázi obnovitelných zdrojů

(George et al., 2021) – převzato a přeloženo

Díky svému velkému potenciálu nachází kyselina mléčná mnoho využití, a to nejen v potravinářském a farmaceutickém průmyslu, ale také jako důležitá součást kosmetického průmyslu a je dostatečně inovativní, aby mohla být použita při výrobě biologicky odbouratelných polymerů ve velkém měřítku s využitím obnovitelných zdrojů, čímž nahrazuje komerční polymery na bázi fosilních paliv. Trh s bioplasty se velmi rychle rozvíjí, a proto do tohoto oboru investují známé světové značky (George et al., 2021). Kromě toho mají biopolymery slibné aplikace v tkáňovém inženýrství a chirurgii ve formě biopolymerních implantátů (Vega-Baudrit, Prendiz and Mena, 2019). Tato alternativa pravděpodobně získá významné uznání a popularitu. Biopolymer se biologicky rozkládá hydrolýzou (součást metabolismu) na kyselinu mléčnou, která je schopna se v lidském těle vstřebat.

## 6.2. Úprava a konzervace biologického odpadu pomocí mléčné fermentace

Úprava, resp. sanitace biologicky rozložitelného odpadu s obsahem živočišných produktů je důležitý krok před dalším zpracováním pomocí kompostování nebo AD. Účelem této předúpravy je eliminace patogenů. Zejména zvířecí výkaly a potravinový odpad mohou obsahovat patogenní mikroorganismy, jako jsou bakterie (*Salmonella* spp. nebo *Escherichia coli*), viry (virus hepatitidy E nebo virus chřipky A) a paraziti (*Toxoplasma gondii*) (Albihn *et al.*, 2012). Tyto patogenní mikroorganismy lze poměrně dobře odstranit metodami, jako je kompostování, za předpokladu, že je pozorována fáze s vysokou teplotou (přibližně 70 °C) po dobu alespoň 3 po sobě jdoucích dnů (Albihn *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2018). Ačkoli Lemunier a kolektiv zmiňují, že po provedení pokusu kompostování, kmeny *Salmonella* spp. a *Escherichia coli* se sice nerozmnožily, ale v některých testovaných kompostech přežily, přičemž *Salmonella* spp., jako odolnější druh, přežila ve všech pokusných kompostech (Lemunier *et al.*, 2005). Fan a kolektiv, provedli studii stabilizace substrátu s EM a bez EM, aby porovnali, jak přidané mikroorganismy ovlivňují stabilitu biologického odpadu. Jejich výsledky podporují kompostování s přídavkem EM, kde byly zaznamenány vyšší procesní teploty a delší termofilní fáze, dokonce až o 5 dnů (Fan *et al.*, 2018). Tato studie však ukázala, že i přes rozdíly byly oba komposty plně vyztřelé a po 8 týdnech neobsahovaly žádnou *Salmonellu* spp. ani jiné patogenní mikroorganismy. Bylo zjištěno, že ačkoli jsou teploty kompostování nižší ve srovnání s vysokými teplotami kontrolovaného kompostování v průmyslovém měřítku, domácí kompostování může být méně náchylné ke kontaminaci patogeny, pokud odpad neobsahuje fekálie (Albihn *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2018). Kromě kompostovacího procesu se ke stabilizaci biologického odpadu používají i další metody, jako je anaerobní vyhnívání, úprava čpavkem (včetně použití roztoků amoniaku nebo močoviny) nebo vápnění, které je zvláště účinné u materiálů s vysokým obsahem vlhkosti (Albihn *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2018). Například ve Švédsku se ke stabilizaci používá i kyselina mravenčí, což je dostačující k likvidaci bakteriálních patogenů, i když na viry má omezený účinek (Albihn *et al.*, 2012). Výzva však spočívá v použití kyseliny mléčné ke stabilizaci biologických materiálů. Jak již bylo zmíněno dříve, proces mléčné fermentace snižuje pH na 3,5 produkcí kyseliny mléčné. Díky tomuto snížení pH mohou být patogeny potlačeny a eliminovány, včetně těch odolnějších. Masís-Meléndez a kolektiv provedli studii stabilizace kalu pomocí bakterií mléčného kvašení. Ke své studii použili kmen *Lactobacillus casei* (nejvyšší schopnost snižovat pH), který již po 15 dnech snížil pH z výchozí hodnoty 7,11 na 4,9 a po přidání melasy z cukrové třtiny (jako zdroj energie), hodnota klesla ještě více. Tato

studie tak dokazuje, že bakterie mléčného kvašení mohou snížit hodnotu pH na kritickou hodnotu 4, čímž inhibují většinu mikroorganismů. Kromě *Lactobacillus casei* je možné použít také kmeny *Lactobacillus plantarum* nebo *Pediccocus acidilactici*, které mají podobně silné schopnosti snižovat pH a jsou přítomny v kuchyňském odpadu nebo kysaném zelí (Masís-Meléndez, Segura-Montero and Quesada-González, 2021).

Hygienizační schopnosti mléčného kvašení v oblasti nakládání s biologicky rozložitelnými odpady stále nejsou široce využívány. Biologický odpad může obsahovat choroboplodné zárodky, které mohou vést ke kontaminaci celého produktu, čímž se biologický odpad stane závadným. Laktobacily mají schopnost eliminovat různé druhy patogenů, včetně těch odolnějších, a mají potenciál být široce používány pro biologickou stabilizaci odpadu.

LAB mohou být potenciálně využitelné také v případech, kdy je potřeba bezpečně skladovat biologický (například potravinový odpad) odpad po delší dobu, než se nahromadí potřebné množství určené ke svozu na zařízení pro nakládání s bioodpady (kompostárna, vermikompostárna nebo bioplynová stanice). Konzervační účinky LAB, které se využívají v potravinářství, mohou být využity k prodloužení skladovatelnosti bioodpadu tam, kde to dává ekonomický smysl, jako jsou například různá tržiště, supermarkety apod. Tento přístup však vyžaduje další výzkum. Bylo zjištěno, že například proces vermikompostování může probíhat v poměrně širokém rozmezí pH a žížaly jsou schopné zpracovat odpad i s poměrně nízkým pH, jako například u vinařských matolin (Clark, 2023). Nabízí se tak možnost spojení předúpravy (konzervace a sanitace) některých druhů bioodpadů pomocí mléčné fermentace a vermikompostování.

### **6.3. Využití produktů mléčné fermentace bioodpadů v zemědělství**

Využitím LAB v zemědělství se detailně zabývá studie Raman a kol. (Raman *et al.*, 2022). Bakterie mléčného kvašení mohou působit prospěšně na několika úrovních, ať je to potlačení nežádoucích bakterií nebo houbových infekcí nebo podpora biodegradačních procesů v půdě. Produkty mléčného kvašení odpadů tak mohou působit jako biologický pesticid nebo insekticid a biologické hnojivo, či biostimulátor. Mléčná fermentace bioodpadů, například pomocí Bokashi metody a směsi mikroorganismů označovaných jako EM, zvyšuje množství žádoucích LAB v produktu fermentace. Bokashi produkt významně zvýšil počet listů a výšku rostlin u cibule (37 % a 62 %) a jalapeños (133 % a 94 %) ve srovnání s kontrolními rostlinami, kromě toho, se zvýšil obsah kapsaicinu a rozpustných látek o 41 % a u cibule se

také zvýšil výnos z 6,4 t na 21,0 t (Álvarez-Solís *et al.*, 2016). Navíc, jak již bylo zmíněno, Bokashi kompost a Bokashi čaj mohou chránit rostliny před houbovými infekcemi nebo jinými patogeny a mohou se tak v budoucnu stát alternativou k chemickým fungicidům. Produkt jakékoliv mléčné fermentace bioodpadů ale není možné využít přímo jako hnojivo. Je nutné tuto metodu kombinovat s technologiemi kompostování nebo vermikompostování. Také je možné produkt mléčné fermentace zarýt do půdy a po nějakou dobu nechat působit přírodní rozkladné procesy pro dokončení potřebné přeměny odpadu na humus. V tomto oboru je prostor pro další studium, zejména co se týká úspěšnosti přežívání LAB během navazujících kroků zpracování. Také je důležité detailně prozkoumat roli LAB v rhizosféře a jejich působení na růst rostlin

## **7.Závěr**

V této práci je popsána problematika zpracování biologického odpadu a jeho stabilizace pomocí mléčné fermentace a dalších procesů. Zmíněno je také využití produktů získaných z fermentačních procesů a pozornost je věnována i bakteriím mléčného kvašení, které se na těchto procesech podílejí. Mezi perspektivní metody, které kombinují mléčné kvašení a nakládání s bioodpady, patří zejména biotechnologická produkce kyseliny mléčné pro její další zpracování na biopolymer polylaktát. Ten je v některých oblastech plastikářského průmyslu využíván jako náhrada konvenčních plastů vyráběných z fosilních zdrojů. Mléčné kvašení kuchyňského bioodpadu nebo gastroodpadu před zpracováním na kompostárně nebo vermikompostárně může přispět k odstranění potíží během skladování jako je šíření nežádoucího zápachu a rozvoj patogenů. Fermentovaný produkt navíc obsahuje žádoucí bakterie mléčného kvašení, které působí příznivě při pěstování rostlin. Mohou fungovat jako zelené pesticidy, insekticidy, biostimulanty nebo hnojivo. Výskyt těchto probiotik ve výsledném produktu zpracování bioodpadu je však nutné detailněji prozkoumat. Stejně tak hygienizační potenciál LAB při nakládání s vedlejšími živočišnými produkty.

## 8. Seznam použité literatury

Admassie, M. (2018) 'A Review on Food Fermentation and the Biotechnology of Lactic Acid Bacteria', *World Journal of Food Science and Technology*, 2(1), p. 19. Available at: <https://doi.org/10.11648/j.wjfst.20180201.13>.

Ahmad, A., Banat, F. and Taher, H. (2020) 'A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges', *Environmental Technology and Innovation*. Elsevier B.V. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101138>.

Ahmad, R. *et al.* (2007) *Bio-conversion of organic wastes for their recycling in agriculture: an overview of perspectives and prospects*, *Annals of Microbiology*.

Albarillo, F. *et al.* (2020) 'Lactobacillus rhamnosus infection: A single-center 4-year descriptive analysis', *Journal of Global Infectious Diseases*, 12(3), pp. 119–123. Available at: [https://doi.org/10.4103/jgid.jgid\\_112\\_19](https://doi.org/10.4103/jgid.jgid_112_19).

Albihn, A. *et al.* (2012) *Sanitation Treatment Reduces the Biosecurity Risk when Recycling Manure and Biowaste*. Available at: [https://www.academia.edu/73942875/17\\_Sanitation\\_Treatment\\_Reduces\\_the\\_Biosecurity\\_Risk\\_when\\_Recycling\\_Manure\\_and\\_Biowaste](https://www.academia.edu/73942875/17_Sanitation_Treatment_Reduces_the_Biosecurity_Risk_when_Recycling_Manure_and_Biowaste).

Álvarez-Solís, J.D. *et al.* (2016) 'Efecto de bokashi y lixiviado de vermicomposta sobre el rendimiento y la calidad de Chile (*Capsicum annuum*) y cebolla (*Allium cepa*) en monocultivo y cultivos asociados', *Ciencia e Investigacion Agraria*, 43(2), pp. 243–252. Available at: <https://doi.org/10.4067/S0718-16202016000200007>.

Ashrafi, G. *et al.* (2022) 'Biowaste- and nature-derived (nano)materials: Biosynthesis, stability and environmental applications', *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier B.V. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102599>.

Bergsma, S. *et al.* (2022) 'Biotechnological and Medical Aspects of Lactic Acid Bacteria Used for Plant Protection: A Comprehensive Review', *BioTech*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/biotech11030040>.

Boechat, C.L., Santos, J.A.G. and Accioly, A.M. de A. (2013) ‘Mineralização líquida de nitrogênio e mudanças químicas no solo com a aplicação de resíduos orgânicos com “Composto Fermentado Bokashi”’, *Acta Scientiarum - Agronomy*, 35(2), pp. 257–264. Available at: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i2.15133>.

Braguglia, C.M. *et al.* (2018) ‘Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review’, *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, pp. 37–56. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.145>.

Callaway, A. *et al.* (2013) ‘Identification of lactobacilli from deep carious lesions by means of species-specific PCR and MALDI-TOF mass spectrometry’, *Clinical Laboratory*, 59(11–12), pp. 1373–1379. Available at: <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2013.121225>.

Chai, W.Y. *et al.* (2022) ‘Fermentation Process Control and Optimization’, *Chemical Engineering and Technology* [Preprint]. John Wiley and Sons Inc. Available at: <https://doi.org/10.1002/ceat.202200029>.

Clark, O.W. (2023) *Vermikompostování odpadů z výroby vína (Bakalářská práce)*. Available at: <http://hdl.handle.net/20.500.11956/184701>.

Costa, S. *et al.* (2020) ‘Fermentation as a strategy for bio-transforming waste into resources: Lactic acid production from agri-food residues’, *Fermentation*, 7(1). Available at: <https://doi.org/10.3390/fermentation7010003>.

Council of the European Union (1999) *Council Directive 1999/31/EC on the landfill of waste, Directive*. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/1999/31/oj>.

Council of the European Union (2018) *Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/ze dne 30. května 2018, kterou se mění směrnice 2008/98/ES o odpadech*. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/2018/851/oj>.

Djadouni, F. and Kihal, M. (2012) ‘BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria and the Spectrum of their Biopeptides Against Spoiling Germs in Foods’, *Arch. Biol. Technol.* v, 55(3), pp. 435–443.

Fan, Y. Van *et al.* (2018) ‘Evaluation of Effective Microorganisms on home scale organic waste composting’, *Journal of Environmental Management*, 216, pp. 41–48. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.019>.

Gaus, K. *et al.* (2006) ‘Classification of lactic acid bacteria with UV-resonance Raman spectroscopy’, *Biopolymers*, 82(4), pp. 286–290. Available at: <https://doi.org/10.1002/bip.20448>.

George, N. *et al.* (2021) ‘Biowaste to bioplastics: An ecofriendly approach for a sustainable future’, *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 8(3), pp. 221–233. Available at: <https://doi.org/10.30491/jabr.2021.259403.1318>.

Goldstein, E.J.C., Tyrrell, K.L. and Citron, D.M. (2015) ‘Lactobacillus species: Taxonomic complexity and controversial susceptibilities’, *Clinical Infectious Diseases*, 60, pp. S98–S107. Available at: <https://doi.org/10.1093/cid/civ072>.

Grusman, P. and Vitmajerová, I. (no date) *Biologicky rozložitelný odpad a evidence odpadů*. Available at: <https://www.inisoft.cz/poradenstvi-a-skoleni/odborne-clanky/biologicky-rozlozitelny-odpad-a-evidence-odpadu>.

Gul, S., Khan, A.S. and Meer, H. (2022) ‘Future Of Bio-Waste Management in the Context of Developed Countries Legislation’, *Pakistan Journal of Humanities and Social Sciences*, 10(4). Available at: <https://doi.org/10.52131/pjhss.2022.1004.0287>.

Jaramillo-López, P.F., Ramírez, M.I. and Pérez-Salicrup, D.R. (2015) ‘Impacts of Bokashi on survival and growth rates of *Pinus pseudostrobus* in community reforestation projects’, *Journal of Environmental Management*, 150, pp. 48–56. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.11.003>.

Kang, S.M. *et al.* (2015) ‘Cucumber performance is improved by inoculation with plant growth-promoting microorganisms’, *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 65(1), pp. 36–44. Available at: <https://doi.org/10.1080/09064710.2014.960889>.

Khalid, K. (2011) ‘An overview of lactic acid bacteria *International Journal of Biosciences (IJB)*’, 1(3), pp. 1–13.

Laiq Ur Rehman, M. *et al.* (2019) 'Anaerobic digestion', *Water Environment Research*. John Wiley and Sons Inc., pp. 1253–1271. Available at: <https://doi.org/10.1002/wer.1219>.

Lemunier, M. *et al.* (2005) 'Long-term survival of pathogenic and sanitation indicator bacteria in experimental biowaste composts', *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), pp. 5779–5786. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.5779-5786.2005>.

Ljungh, Å. and Wadström, T. (no date) *Lactic Acid Bacteria as Probiotics*. Available at: [www.caister.com/bacteria-plant](http://www.caister.com/bacteria-plant).

Maicas, S. (2020) 'The role of yeasts in fermentation processes', *Microorganisms*. MDPI AG, pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>.

Makarova, K.S. and Koonin, E. V. (2007) 'Evolutionary genomics of lactic acid bacteria', *Journal of Bacteriology*, pp. 1199–1208. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.01351-06>.

Martínez-Blanco, J. *et al.* (2010) 'The use of life cycle assessment for the comparison of biowaste composting at home and full scale', *Waste Management*, 30(6), pp. 983–994. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.02.023>.

Masis-Meléndez, F., Segura-Montero, F. and Quesada-González, A. (2021) 'Control of septage sanitization by limes and lactic acid fermentation', *Journal of Environmental Management*, 287. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112203>.

Mcdonald, L.C. *et al.* (1987) *NOTES A Differential Medium for the Enumeration of Homofermentative and Heterofermentative Lactic Acid Bacteriat*, *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. Available at: <https://journals.asm.org/journal/aem>.

Melikoglu, M., Lin, C.S.K. and Webb, C. (2013) 'Analysing global food waste problem: Pinpointing the facts and estimating the energy content', *Central European Journal of Engineering*, 3(2), pp. 157–164. Available at: <https://doi.org/10.2478/s13531-012-0058-5>.

Mihai, F.C. and Ingrao, C. (2018) 'Assessment of biowaste losses through unsound waste management practices in rural areas and the role of home composting', *Journal of Cleaner Production*, 172, pp. 1631–1638. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.163>.



- Mokoena, M.P. (2017) 'Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review', *Molecules*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>.
- Naqvi, S.S.B., Nagendra, V. and Hofmeyr, A. (2018) 'Probiotic related *Lactobacillus rhamnosus* endocarditis in a patient with liver cirrhosis', *IDCases*, 13. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2018.e00439>.
- Olajire, A.A. (2020) 'The brewing industry and environmental challenges', *Journal of Cleaner Production*, 256. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.03.003>.
- Olle, M. (2021) 'Review: Bokashi technology as a promising technology for crop production in Europe', *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. Taylor and Francis Ltd., pp. 145–152. Available at: <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1810140>.
- Panesar, P.S. and Kaur, S. (2015) 'Bioutilisation of agro-industrial waste for lactic acid production', *International Journal of Food Science and Technology*, pp. 2143–2151. Available at: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12886>.
- Pavlas, M. *et al.* (2020) 'Biowaste treatment and waste-to-energy-environmental benefits', *Energies*, 13(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/en13081994>.
- Raman, J. *et al.* (2022) 'Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Sustainable Agriculture: Advantages and Limitations', *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms23147784>.
- Reis, J.A. *et al.* (2012) 'Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications', *Food Engineering Reviews*, pp. 124–140. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>.
- Robin, F. *et al.* (2010) 'Lactobacillus rhamnosus meningitis following recurrent episodes of bacteremia in a child undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation', *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), pp. 4317–4319. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.00250-10>.

Sadh, P.K. *et al.* (2018) ‘Fermentation: A boon for production of bioactive compounds by processing of food industries wastes (By-Products)’, *Molecules*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules23102560>.

Shahbaz, M. *et al.* (2019) ‘An Insight into the Anaerobic Co-digestion of Municipal Solid Waste and Food Waste: Influence of Co-substrate Mixture Ratio and Substrate to Inoculum Ratio on Biogas Production’, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(4), pp. 1356–1370. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2891-3>.

Siegfried, K. *et al.* (2023) ‘Boosting Biowaste Valorisation—Do We Need an Accelerated Regional Implementation of the European Law for End-of-Waste?’, *Sustainability (Switzerland)*, 15(17). Available at: <https://doi.org/10.3390/su151713147>.

Thomas, K.R. and Rahman, P.K.S.M. (no date) *Brewery wastes. Strategies for sustainability. A review*.

Tom, A.P., Pawels, R. and Haridas, A. (2016) ‘Biodrying process: A sustainable technology for treatment of municipal solid waste with high moisture content’, *Waste Management*, 49, pp. 64–72. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.004>.

Vega-Baudrit, J.R., Prendiz, J. and Mena, M. (2019) ‘Polylactic Acid (PLA) As A Bioplastic And Its Possible Applications In The Food Industry’, *Food Science and Nutrition*, 5(2), pp. 1–6. Available at: <https://doi.org/10.24966/FSN-1076/100048>.

Vyhláška č. 8/2021 Sb (2021) *Vyhláška č. 8/2021 Sb*. Available at: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2021-8>.

Vyhláška č. 273/2021 Sb. (2021) *Vyhláška č. 273/2021 Sb. O podrobnostech nakládání s odpady*. Available at: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2021-273>.

Wang, Q. *et al.* (2020) ‘Oriented fermentation of food waste towards high-value products: A review’, *Energies*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/en13215638>.

Watkins, M. and Nash, D. (2010) *Dairy Factory Wastewaters, Their Use on Land and Possible Environmental Impacts-A Mini Review*, *The Open Agriculture Journal*.

Yeboah, P.J., Ibrahim, S.A. and Krastanov, A. (2023) ‘Food Science and Applied Biotechnology A Review of fermentation and the nutritional requirements for effective

growth media for lactic acid bacteria', *Food Science and Applied Biotechnology*, 2023(2), pp. 215–240. Available at: <https://doi.org/10.30721/fsab2023.v6.i2>.

Zákon č. 166/1999 Sb. (1999) 'Zákon č. 166/1999 Sb. Zákon o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon)'

Zákon č. 541/2020 Sb. (2020) 'Zákon č. 541/2020 Sb.' Available at: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2020-541>.

Zfifiiga, M., Pardo, I. and Ferrer, S. (1993) *An improved medium for distinguishing between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria*, *International Journal of Food Microbiology*.