



VLIV AKTIVNÍCH SLOŽEK SANITAČNÍCH ROZTOKŮ NA TVORBU BAKTERIÁLNÍCH BIOFILMŮ

Irena Němečková, Šárka Trešlová, Eliška Lešková
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Influence of sanitary solutions active substances on the formation of bacterial biofilms

Souhrn

Zatímco účinnost sanitačních roztoků při odstraňování biofilmů je široce studovaným tématem, málo se dosud ví o vlivu aktivních látek sanitačních roztoků na tvorbu biofilmu. Na souboru 20 kmenů bakterií byl zkoumán vliv přísady hydroxidu sodného, kyseliny dusičné, kyseliny citronové, kyseliny fosforečné, kyseliny amidosírové, kyseliny peroctové, peroxidu vodíku a chloranu sodného v koncentrační řadě: 0,001; 0,004; 0,007; 0,010; 0,040; 0,070; 0,100; 0,400 a 0,700 obj. % na tvorbu biofilmů v bujónu BHI. Tento systém simuloval prostředí na mlékárenských provozech, kde jsou přítomny jak organické zbytky zpracovávaných meziproductů, tak rezidua sanitačních roztoků; příkladem mohou být podlahy či odtokové kanálky. Výsledný účinek závisel na vlastnostech daného kmene, konkrétní aktivní látce i na její koncentraci. Tvorba biofilmu nebyla ovlivněna vůbec, byla ovlivněna slabě, anebo i velmi silně, a to jak ve smyslu inhibice, tak stimulace. Z praktického hlediska jsou závažné zejména případy několikanásobného zvýšení množství biofilmu. Testování vlivu reziduí sanitačních roztoků na tvorbu biofilmu by mohlo být jedním z nástrojů pro řešení dlouhodobého výskytu konkrétních nežádoucích kmenů na mlékárenských provozech.

Klíčová slova: nežádoucí bakterie; tvorba bakteriálních biofilmů; aktivní složky sanitačních roztoků; chemický stres; sanitace mlékárenských provozů

Summary

While the effect of sanitary solutions on the elimination of biofilms is a widely studied topic only little is known about the effect of sanitary solutions and their active substances on the formation of biofilms. Using a file of 20 bacterial strains, we tested the effect of sodium hydroxide, nitric acid, citric acid, phosphoric acid, amidosulfuric acid, peracetic acid, hydrogen peroxide and sodium hypochlorite addition in the concentration series: 0.001; 0.004; 0.007; 0.010; 0.040; 0.070; 0.100; 0.400 and 0.700 % v/v on the formation of biofilm in BHI broth. This system modelled dairy plant environment containing both organic residues of processed semi-products and residues of sanitary solutions; e.g. floors or drains. The final effect depended on the properties of particular strain, particular active substance and its concentration. The formation of biofilm stayed unaffected, or was weakly or strongly affected, both in the sense of inhibition and stimulation. From the practical point of view, the cases of multiple increase in biofilm amount are especially compelling. The testing of the influence of sanitary solutions on biofilm formation could be one of tools for the control of long-term presence of particular undesirable strains in dairy plants.

Keywords: undesirable bacteria; formation of bacterial biofilms; active substances of sanitary solutions; chemical stress; sanitation of dairy plants

Úvod

Tvorba biofilmu a způsoby jeho eliminace patří mezi aktuální témata. Přítomnost bakteriálního biofilmu na technologických zařízeních a ve výrobním prostředí totiž zvyšuje riziko procesní kontaminace a popřípadě i riziko ohrožení veřejného zdraví. Na druhou stranu je však obtížné jednou vytvořený biofilm zcela eliminovat, neboť jeho struktura představuje bariéru omezující kontakt bakteriálních buněk se stresory z okolního prostředí, včetně ochrany před působením antimikrobiálních látek (Bayoumi a kol., 2012; Ghosh a kol., 2021; Zhu a kol., 2022). Biofilm je tvořen bakteriálními buňkami a ochrannou extracelulární maticí, která obsahuje zejména exo-

polysacharidy, extracelulární DNA a bílkoviny (Lu a kol., 2022).

Obecně platná doporučení sanitačních postupů a vhodných aktivních látek, které by biofilm konkrétních bakterií spolehlivě eliminovaly, je obtížné navrhnout, protože různé publikované práce mohou mít i protikladné závěry. Např. pro eliminaci biofilmu vytvořeného bakteriemi *Listeria monocytogenes* Fernandes a kol. (2015) doporučili kyselinu peroctovou, zatímco Lee a kol. (2016) tuto látku shledali jako neúčinnou. Tato disproporce mohla být způsobena rozdílnou citlivostí testovaných kmenů. Na podobně rozdílnou účinnost další aktivní látky, chlornanu sodného, v závislosti na citlivosti testovaného kmene (*Staphylococcus aureus*, *Cronobacter sakazakii*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*) upozornili Bayoumi a kol. (2012).

Zatímco výběr aktivních látek vhodných pro eliminaci již vytvořeného bakteriálního biofilmu je cílem řady odborných prací, mimo ohnisko zájmu zůstává otázka, zda tyto aktivní látky, jakožto chemické stresory, nemohou tvorbu biofilmu naopak stimulovat. Taková situace by mohla nastat např. v místech, kde by byly přítomny jak organické zbytky ze zpracovávaných meziproductů, tak rezidua sanitačních roztoků. Konkrétně by se mohlo jednat např. o podlahy a odtokové kanálky na provozech či nedostatečně ošetřené dezinfekční lázně. Uvedená otázka již byla pilotně řešena v práci Němečkové a kol. (2017) zaměřené na kvasinky. Tato práce na ni navazuje a zabývá se vlivem aktivních látek sanitačních roztoků na tvorbu bakteriálního biofilmu.

Materiál a metody

Použité bakteriální kmeny

K experimentům byly použity kmeny gramnegativních a grampozitivních bakterií uložené v interní sbírce VÚM s.r.o. Kmeny byly izolovány ze vzorků odebraných na mlékárenských provozech a následně identifikovány na úrovni druhu na SVÚ Jihlava s využitím metody MALDI-TOF MS. Základní specifikace testovaných gramnegativních kmenů je uvedena v tab. 1. a grampozitivních kmenů v tab. 2. Kmeny byly aerobně kultivovány v bujónu BHI (Merck, DEU) při teplotě 30 °C nebo 37 °C po dobu 24 popř. 48 h, tzn. do dosažení okem viditelného nárůstu.

Testované aktivní látky sanitačních roztoků

Koncentráty sanitačních roztoků používané v mlékárenství se před použitím ředí vodou na pracovní koncentraci dle doporučení jejich dodavatelů. Pracovní koncentrace sanitačního roztoku se obvykle pohybuje okolo 1,0 obj. % koncentrátu, přičemž koncentrát obvykle obsahuje cca 10–50 obj. % jedné aktivní látky. V kontextu těchto skutečností byla pro účely této práce, konkrétně pro testování vlivu aktivních látek sanitačních roztoků na tvorbu biofilmu, navržena následující koncentrační řada testované aktivní látky v bujónu BHI: 0,001; 0,004; 0,007; 0,010; 0,040; 0,070; 0,100; 0,400 a 0,700 obj. %. K tomu bylo

Tab. 1 Testované gramnegativní bakteriální kmeny

Bakteriální kmen	Původ kmene	Teplota kultivace (°C)	Tvorba biofilmu (intenzita)
<i>Pseudomonas libanensis</i> S343-AM6, 5-0	Fázový vzorek	30	++
<i>Pseudomonas brenneri</i> S667A-6,5-7A	Sýr	30	++
<i>Buttiauxella izardii</i> S697-CHR-0	Pitná voda z řádu	30	++
<i>Aeromonas bestiarum</i> S708-CHR-2	Sýr	30	++
<i>Acinetobacter schindleri</i> S24-AB-1B	Výrobní zařízení	30	+++
<i>Klebsiella variicola</i> S540-CHR-6	Fázový vzorek	37	+
<i>Citrobacter youngae</i> S231-VCZG-0	Fázový vzorek	37	ND
<i>Citrobacter freundii</i> S214A-CH-2	Fázový vzorek	37	ND
<i>Citrobacter farmeri</i> S145-CH-3	Sýr	37	+
<i>Enterobacter cloacae</i> S573-CHR-6	Sýr	37	++

Intenzita tvorby biofilmu: +... slabá, +++... střední, ++++... silná, ++++... extrémně silná, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 2 Testované grampozitivní bakteriální kmeny

Bakteriální kmen	Původ kmene	Teplota kultivace (°C)	Tvorba biofilmu (intenzita)
<i>Kocuria kristinae</i> S163-AB-1A	Pračka	30	+
<i>Enterococcus gallinarum</i> S242-AB-2B	Pračka 2	30	+
<i>Bacillus cereus</i> S242-SA-1	Pračka 2	30	ND
<i>Bacillus cereus</i> 39-AB-F	Sanitační roztok	30	ND
<i>Bacillus cereus</i> S17-AB-F	Roztok CIP	30	ND
<i>Bacillus megaterium</i> S413-AB-FB	Roztok CIP 2	30	ND
<i>Paenibacillus glucanolyticus</i> S406-AB-1B	Roztok CIP 3	30	+++
<i>Bacillus licheniformis</i> S91-AB-F	Roztok CIP 4	30	++++
<i>Micrococcus luteus</i> S363-GTK-AB-1B	Myčka	30	+
<i>Rhodococcus erythropolis</i> S78-AB-F	Dezinfekční roztok	30	++

Intenzita tvorby biofilmu: +... slabá, +++... střední, ++++... silná, ++++... extrémně silná, ND... nedetekovaná (žádná)

potřeba připravit zásobní roztoky aktivních látek o koncentracích: 0,010; 0,040; 0,070; 0,100; 0,400; 0,700; 1,000; 4,000 a 7,000 obj. %. Jako zdroje aktivních látek byly použity běžně dostupné chemikálie, a to NaOH (50,0 obj. %), HNO₃ (65,0 obj. %), kys. citronová (99,5 obj. %), kys. fosforečná (85,0 obj. %), kys. amidosírová (99,5 obj. %), H₂O₂ (30,0 obj. %) a kys. peroctová (15,0 obj. %). Dále byl do testování zařazen i alkalický roztok chlornanu sodného, běžně dostupný jako preparát SAVO. Přesná koncentrace chlornanu sodného v SAVU byla ověřena jodometricky podle SOP VFU (2020).

Zjištění tvorby biofilmu u bakterií

Bakteriální kmeny, čerstvě kultivované podle výše uvedeného postupu, byly naředěny v poměru 0,3 ml do 10,0 ml sterilního bujónu BHI. Odtud byly pipetovány (90 µl) do jednotlivých jamek mikrotitračních destiček, s následným přidáním zásobního roztoku konkrétní testované aktivní látky (10 µl). Od každé testované kombinace kmene, aktivní látky a její koncentrace byly připraveny čtyři paralelní jamky. Připraveny též byly čtveřice kontrolních jamek obsahujících konkrétní testovaný kmen v bujónu BHI, nebo jen sterilní bujón. Kultivace kmenů probíhaly 3 dny při teplotách uvedených v tab. 1 a tab. 2. Následně byly biofilmy detekovány barvením krystalovou violetí a měřením absorbance při 560 nm (Infinite M Nano+, Tecan, CHE). Postup práce, zpracování dat a kritéria pro hodnocení tvorby biofilmu (údaje v tab. 1 a tab. 2), a to konkrétně od nedetekované až po extrémně silnou, jsou uvedeny v práci Němečkové a kol. (2021). Jako snížení nebo zvýšení množství biofilmu byla uvažována změna alespoň o 20 %, jako významné snížení nebo významné zvýšení byla považována změna o více než 80 %, a to oproti kontrolnímu vzorku s biofilmem vytvořeným konkrétním testovaným kmenem v bujónu BHI bez přidané aktivní látky.

Výsledky a diskuze

Výsledky testování vlivu aktivních látek sanitálních roztoků na tvorbu biofilmu pro jednotlivé bakteriální kmeny (seřazené v pořadí podle tab. 1 a tab. 2) jsou uvedeny v tab. 3–22. Vzhledem k tomu, že se intenzita tvorby biofilmu mezi testovanými kmeny v samotném bujónu BHI lišila a že měření absorbance probíhalo na tři desetinná místa, byla v zájmu přehlednosti zjištěná data převedena na jednotné relativní vyjádření na pětibodové škále. Výhodou tohoto přístupu byla dobrá porovnatelnost výsledků jak mezi aktivními látkami, tak mezi kmeny. Přesto, i použité nespojitě vyjádření výsledků mohlo být ovlivněno určitými výkyvy naměřených dat, a to díky pracím s bakteriálním materiálem. To se projevilo zejména v případech, kdy se naměřené absorbance

Tab. 3 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu u kmene *Pseudomonas libanensis* S343-AM6,5-0

Koncentrace aktivní látky (%)	0,700	0,400	0,100	0,070	0,040	0,010	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	2	4	3	3	4	2	3	3
Kys. dusičná	2	1	2	2	2	2	2	2	2
Kys. citronová	1	1	2	2	3	3	2	3	3
Kys. fosforečná	4	2	2	3	3	3	2	3	3
Kys. amidosírová	3	1	2	3	3	3	3	3	3
Peroxid vodíku	1	1	1	1	1	1	3	3	3
Kys. peroctová	1	1	1	1	1	1	1	3	3
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	5	ND	3	4

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 4 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Pseudomonas brenneri* S667A-6,5-7A

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	1	3	3	5	3	2	4	5
Kys. dusičná	1	2	1	1	3	4	2	2	4
Kys. citronová	1	1	1	1	2	5	2	4	5
Kys. fosforečná	2	2	2	1	2	2	2	3	5
Kys. amidosírová	2	1	5	1	2	5	3	4	5
Peroxid vodíku	2	1	1	1	2	1	1	1	3
Kys. peroctová	1	1	1	1	1	1	2	2	5
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	5	ND	5	5

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 5 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Buttiauxella izardii* S697-CHR-0

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	1	1	1	1	2	2	2	2
Kys. dusičná	3	1	1	1	2	2	2	2	2
Kys. citronová	2	1	2	2	2	2	2	2	2
Kys. fosforečná	3	1	2	2	2	2	2	2	2
Kys. amidosírová	2	1	2	2	2	2	2	2	2
Peroxid vodíku	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Kys. peroctová	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	2	ND	3	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 6 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Aeromonas bestiarum* S708-CHR-2

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	2	2	4	4	4	4	3	3	3
Kys. dusičná	4	2	1	1	1	3	2	2	2
Kys. citronová	2	2	2	2	2	2	1	2	2
Kys. fosforečná	5	2	3	2	2	2	1	2	2
Kys. amidosírová	3	2	2	2	2	2	2	2	2
Peroxid vodíku	2	1	1	1	2	2	2	2	3
Kys. peroctová	2	2	1	2	2	2	2	2	3
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	4	ND	3	3

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

pohybovaly okolo vytýčených mezí pro jednotlivé body na škále.

Ze zvoleného způsobu vyjádření výsledků dále vyplynulo, že čím méně biofilmu testovaný kmen tvořil v samotném bujónu BHI, tím menší změna množství vytvořeného biofilmu vedla k posunu na bodové škále. Na kmenech se střední, silnou či extrémně silnou tvorbou biofilmu bylo proto možné účinek jednotlivých aktivních látek o různých koncentracích pozorovat zřetelněji, než u kmenů se slabou tvorbou biofilmu.

Do testování byly zařazeny i kmeny (*Cit. youngae* S231-VCZG-0, *Cit. freundii* S214A-CH-2, *B. cereus* S242-SA-1, *B. cereus* 39-AB-F, *B. cereus* S17-AB-F, *B. megaterium* S413-AB-FB), u nichž tvorba biofilmu v samotném bujónu BHI detekována nebyla, tzn. naměřená absorbance po odečtení slepého vzorku (bujón BHI bez naočkovaného kmene) byla nižší než 0,020. Relativní snížení nebo zvýšení množství biofilmu v přítomnosti aktivních látek je v tab. 9, 10, 15, 16, 17 a 18 zaznamenáno tak, jak experimenty vyšly, nicméně v absolutních hodnotách k tvorbě biofilmu prakticky nedošlo. Aktivní látky obsažené v sanitačních roztocích nestimulovaly tvorbu biofilmu u kmenů, které biofilm netvořily. Z praktického hlediska se jednalo o příznivé zjištění.

Pozorována však byla i opačná situace, když aktivní látky obsažené v sanitačních roztocích tvorbu biofilmu ještě více stimulovaly u kmenů, které biofilmy tvořily. Tento jev byl pozorován zejména v případě chlornanu sodného působícího na kmeny *Ps. libanensis* S343-AM6,5-0, *Ps. brenneri* S667A-6,5-7A a *Ac. schindleri* S24-AB-1B (viz tab. 3, 4 a 7), a také v případě kys. peroctové u kmenů *Ps. brenneri* S667A-6,5-7A a *Ac. schindleri* S24-AB-1B (viz tab. 4 a 7). Koncentrace těchto dezinfekčních látek, které již nevykazovaly antimikrobiální účinek, působily na bakterie jako chemický stresor stimulující tvorbu ochranné bariéry v podobě biofilmu. (Poznámka: Koncentrace chlornanu sodného vycházející ze zásobního roztoku o koncentraci 7,000 obj. % testovány nebyly, protože koncentrace výchozího preparátu SAVA byla nižší než 7,000 obj. %). Za pozornost stály rovněž i koncentrace, které u vícera/většiny testovaných aktivních látek stimulovaly tvorbu

Tab. 7 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Acinetobacter schindleri* S24-AB-1B

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	2	2	2	3	3	3	3	3
Kys. dusičná	2	2	2	3	3	3	3	3	2
Kys. citronová	1	1	3	3	4	3	3	3	3
Kys. fosforečná	2	2	3	3	3	3	3	3	3
Kys. amidosírová	1	1	3	2	4	3	3	4	3
Peroxid vodíku	1	1	1	1	1	1	2	1	3
Kys. peroctová	1	1	1	1	1	1	1	1	4
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	4	ND	4	4

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 8 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Klebsiella variicola* S540-CHR-6

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	2	3	4	2	2	3	3	2	3
Kys. dusičná	2	3	4	3	2	2	2	2	2
Kys. citronová	3	3	2	4	2	3	2	2	3
Kys. fosforečná	4	3	3	3	2	3	2	2	3
Kys. amidosírová	4	2	2	4	3	3	4	3	4
Peroxid vodíku	3	2	2	3	2	2	4	2	2
Kys. peroctová	3	3	2	3	3	3	3	3	4
Chlornan sodný	ND	2	1	ND	2	2	ND	2	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 9 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Citrobacter youngae* S231-VCZG-0

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	2	5	5	5	5	5	5	5
Kys. dusičná	5	5	5	5	5	5	5	4	4
Kys. citronová	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Kys. fosforečná	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Kys. amidosírová	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Peroxid vodíku	5	5	5	1	1	5	5	4	5
Kys. peroctová	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	5	5	ND	5	5

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 10 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Citrobacter freundii* S214A-CH-2

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	3	2	3	3	3	4	4	4	4
Kys. dusičná	4	4	4	5	3	4	4	3	4
Kys. citronová	5	4	3	5	3	4	5	4	4
Kys. fosforečná	5	4	5	5	3	4	4	3	3
Kys. amidosírová	5	4	4	5	4	4	5	4	4
Peroxid vodíku	5	3	5	5	3	4	4	3	3
Kys. peroctová	5	4	4	5	4	4	5	5	3
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	1	ND	3	3

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

biofilmu u některých kmenů. Kmen *Ps. brenneri* S667A-6,5-7A byl stimulován 7 aktivními látkami o koncentraci 0,004 obj. % a/nebo 0,001 obj. % (viz tab. 4), kmen

R. erythropolis S78-AB-F (viz tab. 22) všemi 8 aktivními látkami o koncentraci 0,400 obj. % a/nebo 0,100 obj. %.

Dále si lze povšimnout, že řada testovaných aktivních látek (nejen dezinfekčních, ale i na bázi kyseliny nebo alkálie) tvorbu biofilmu u některých kmenů významně potlačovala. To mohlo být zapříčiněno jak antimikrobiálním účinkem dezinfekčních látek nebo inhibičním účinkem nízkého či vysokého pH, tak zvýšením dostupnosti některých živin v interakci se složkami bujónu BHI (viz diskuze níže). Docházelo k významnému snížení množství vytvořeného biofilmu v koncentrační řadě až po hranici, kdy koncentrace dané aktivní látky klesla pod účinnou mez. Jednalo se zejména o kmeny *Ps. libanensis* S343-AM6,5-0, *Ps. brenneri* S667A-6,5-7A, *But. izardii* S697-CHR-0, *Ac. schindleri* S24-AB-1B a *B. licheniformis* S91-AB-F (viz tab. 3, 4, 5, 7 a 20).

Naopak kmen *Kl. variicola* S540-CHR-6 (viz tab. 8) je příkladem kmene schopného tvořit biofilm, který byl přítomností testovaných aktivních látek prakticky neovlivněn. Vysvětlením by mohla být přítomnost genů zvyšujících odolnost tohoto kmene vůči chemickému stresu. Xu a kol. (2021) publikovali u bakterií *E. coli* souvislost mezi přítomností přenositelného lokusu tolerance vůči stresu (Transmissible Locus of Stress Tolerance, tLST) a rezistencí planktonických buněk, konkrétně vůči aktivnímu chloru, peroxidu vodíku a kys. peroctové.

Za úvahu rovněž stojí otázka, ke kolikanásobnému zvýšení množství biofilmu v přítomnosti aktivních látek může dojít. V této práci ohodnocení stupněm 5 vyjadřuje zvýšení množství biofilmu o 80 %, tj. minimálně na 1,8násobek oproti kontrolnímu vzorku. Nejčastěji naměřeným významným zvýšením množství biofilmu bylo přibližně na 2násobek až 4násobek.

Mezi kmeny se střední nebo vyšší tvorbou biofilmu byl nejvýraznější účinek aktivních látek pozorován u kmene *Ps. brenneri* S667A-6,5-7A, a to po přidavku chlornanu sodného. Při použití koncentrace 0,010 obj. % se množství biofilmu zvýšilo na 4,4násobek, a při použití koncentrací 0,004 obj. % a 0,001 obj. % pak na 2,3násobek a 1,8násobek.

Tab. 11 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Citrobacter farmeri* S145-CH-3

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	2	3	3	4	4	3	4	4
Kys. dusičná	4	3	2	5	2	3	4	2	2
Kys. citronová	4	2	3	3	3	3	4	4	3
Kys. fosforečná	4	3	3	2	3	3	4	4	3
Kys. amidosírová	3	2	3	3	3	3	4	5	4
Peroxid vodíku	2	2	2	3	2	2	3	2	3
Kys. peroctová	3	4	2	2	3	2	3	4	4
Chlornan sodný	ND	2	1	ND	2	2	ND	4	4

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 12 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Enterobacter cloacae* S573-CHR-6

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	2	1	3	2	1	2	2	1
Kys. dusičná	1	1	1	2	2	1	2	2	1
Kys. citronová	2	3	1	2	2	1	2	2	1
Kys. fosforečná	2	2	1	2	2	1	2	2	1
Kys. amidosírová	2	2	1	2	2	1	2	2	1
Peroxid vodíku	1	1	1	2	2	2	2	2	1
Kys. peroctová	1	1	1	2	2	1	2	2	1
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	1	1	ND	2	1

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 13 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Kocuria kristinae* S163-AB-1A

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	4	1	2	4	2	2	5	5	5
Kys. dusičná	5	5	2	5	2	4	5	5	2
Kys. citronová	5	3	1	5	3	4	5	5	4
Kys. fosforečná	5	5	2	5	3	3	5	5	3
Kys. amidosírová	5	5	2	5	5	3	5	5	3
Peroxid vodíku	5	3	4	5	4	5	5	5	3
Kys. peroctová	5	3	4	5	4	2	5	5	3
Chlornan sodný	ND	3	2	ND	4	3	ND	5	3

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 14 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Enterococcus gallinarum* S242-AB-2B

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	1	2	3	2	2	2	3	2
Kys. dusičná	5	5	1	2	2	1	1	2	1
Kys. citronová	3	4	1	1	2	2	2	2	2
Kys. fosforečná	5	5	1	2	3	1	2	2	1
Kys. amidosírová	5	5	3	2	4	2	3	3	2
Peroxid vodíku	3	2	2	5	3	2	3	2	2
Kys. peroctová	4	2	2	3	4	2	4	2	2
Chlornan sodný	ND	2	3	ND	5	3	ND	2	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Mezi kmeny se slabou tvorbou biofilmu byl nejvýraznější účinek pozorován u kmene *Koc. kristinae* S163-AB-1A. Přídavek kys. dusičné nebo kys. fosforečné o kon-

Tab. 15 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Bacillus cereus* S242-SA-1

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	1	5	1	2	5	2	5	5
Kys. dusičná	5	5	5	3	4	5	2	4	5
Kys. citronová	3	2	5	4	5	5	4	5	5
Kys. fosforečná	5	5	5	2	5	5	4	5	5
Kys. amidosírová	4	4	5	3	5	5	5	5	5
Peroxid vodíku	1	1	3	1	2	5	2	4	5
Kys. peroctová	3	4	4	1	2	5	4	5	5
Chlornan sodný	ND	4	5	ND	4	5	ND	5	5

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 16 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Bacillus cereus* 39-AB-F

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	4	5	3	5	5	1	5	5
Kys. dusičná	5	5	5	2	5	5	1	5	5
Kys. citronová	5	5	5	2	5	5	1	5	5
Kys. fosforečná	5	5	5	2	5	5	1	5	5
Kys. amidosírová	5	5	5	5	5	5	3	5	5
Peroxid vodíku	2	5	5	1	5	5	1	5	5
Kys. peroctová	5	5	5	1	5	5	3	5	5
Chlornan sodný	ND	5	5	ND	5	5	ND	5	5

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 17 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Bacillus cereus* S17-AB-F

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	1	1	1	2	1	5	2	5
Kys. dusičná	5	5	1	1	1	1	5	1	5
Kys. citronová	5	1	1	1	1	1	5	1	5
Kys. fosforečná	5	5	4	3	1	1	5	2	5
Kys. amidosírová	5	5	5	1	2	5	5	3	5
Peroxid vodíku	2	1	1	1	1	5	5	1	5
Kys. peroctová	5	5	1	4	1	5	5	2	5
Chlornan sodný	ND	5	5	ND	5	3	ND	2	5

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 18 Vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Bacillus megaterium* S413-AB-FB

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	4	4	4	5	4	3	5	5	5
Kys. dusičná	4	5	5	5	5	3	5	5	5
Kys. citronová	4	5	5	5	5	5	5	5	5
Kys. fosforečná	5	5	5	5	5	4	5	5	5
Kys. amidosírová	4	5	5	5	5	5	5	5	5
Peroxid vodíku	4	5	5	5	5	5	5	5	5
Kys. peroctová	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Chlornan sodný	ND	5	4	ND	4	4	ND	5	5

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

centraci 0,700 obj. % vedl ke zvýšení množství biofilmu na 9,4násobek, resp. 9,5násobek, a o koncentraci 0,400 obj. % na 4,4násobek, resp. 3,2násobek. Přídavek

kys. fosforečné o koncentraci 0,700 obj. % vedl k významnému zvýšení množství biofilmu i u dalších kmenů: u kmene *Aer. bestiarum* S708-CHR-2 na 2,3násobek, u kmene *Ent. gallinarum* S242-AB-2B na 4,4násobek, u kmene *M. luteus* S363-GTK-AB-1B na 2,9násobek a u kmene *R. erythropolis* S78-AB-F na 2,0násobek.

V úvaze o antimikrobiálním účinku aktivních látek je zapotřebí zdůraznit, že získané výsledky nevypovídají o koncentraci sanitačních roztoků, kterou by bylo možné doporučit. Testované koncentrace se týkají aktivních látek jako takových, a nikoliv sanitačních roztoků na jejich bázi. Kromě toho modelovým systémem byl bujón BHI s přidavkem aktivních látek, které se mohly spotřebovávat v interakci jak s bakteriemi, tak se složkami bujónu BHI. Vzhledem k obecně známému faktu, že proces sanitace může probíhat účinně až po vypláchnutí zpracovávaného meziprojektu jakožto organické matrice, v naší práci se použitý modelový systém vztahuje spíše k simulaci takových míst ve výrobním provozu, kde se mohou hromadit jak zbytky zpracovávaného meziprojektu, tak rezidua sanitačních roztoků (jak již bylo popsáno v Úvodu). Na komplexnost interakcí mezi mikroorganismy, aktivními látkami a složkami bujónu BHI upozornila již pilotní studie s kvasinkami (Němečková a kol., 2017). Hypoteticky lze uvažovat např. o tom, že interakcí aktivních látek se složkami bujónu mohou vznikat antimikrobiálně působící látky nebo naopak látky biologicky lépe dostupné či nutričně vhodnější. Lu a kol. (2022) popsali inhibiční účinek přidavku živin (aminokyselin a vitaminů) vzhledem k tvorbě biofilmu. V naší práci by se mohlo jednat nejspíše o změny dusíkatých látek.

Závěr

U 20 kmenů bakterií byl zkoumán vliv přidavku aktivních látek sanitačních roztoků na tvorbu biofilmu v bujónu BHI. Tento modelový systém simuloval taková místa v mlékárenském výrobním provozu, kde by mohly být přítomny jak organické látky ze zpracovávaných meziprojektů, tak rezidua sanitačních roztoků. Konkrétně by se mohlo jed-

nat např. o podlahy, odtokové kanálky či nedostatečně ošetřené dezinfekční lázně. Získané výsledky poukázaly na komplexnost řešené problematiky, neboť výsledný účinek závisí na vlastnostech daného bakteriálního kmene, konkrétní aktivní látce a její koncentraci. Tvorba biofilmu nemusí být přítomností aktivní látky ovlivněna vůbec, může být ovlivněna jen mírně, anebo naopak významně, a to jak ve smyslu inhibice, tak stimulace tvorby biofilmu. Právě stimulace tvorby biofilmu díky reziduíům sanitálních roztoků může být jedním z faktorů vedoucích k perzistování nežádoucích bakteriálních kmenů v provozu. V takovém případě lze doporučit otestování problematického kmene a případnou úpravu sanitálních postupů.

Poděkování

Tato práce vznikla s finanční podporou Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství České republiky na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace dle rozhodnutí MZE-RO1422.

Literatura

- BAYOUMI M.A., KAMAL R.M., ABD EL AAL S.F., AWAD E.I. (2012): Assessment of a regulatory sanitization process in Egyptian dairy plants in regard to the adherence of some food-borne pathogens and their biofilms. *International Journal of Food Microbiology*, 158, 3, s. 225–231.
- FERNANDES M.S., KABUKI D.Y., KUAYE A.Y. (2015): Behavior of *Listeria monocytogenes* in a multi-species biofilm with *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* and control through sanitation procedure. *International Journal of Food Microbiology*, 200, s. 5–12.
- GHOSH S., SARKAR T., CHAKRABORTY R. (2021): Formation and development of biofilm – an alarming concern in food safety perspectives. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 38, 102210.
- LEE S.H.I., CAPPATO L.P., CORASSIN C.H., CRUZ A.G., OLIVEIRA C.A.F. (2016): Effect of peracetic acid on biofilms formed by *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* isolated from dairy plants. *Journal of Dairy Science*, 99, 3, s. 2384–2390.
- LU J., HU X., REN L. (2022): Biofilm control strategies in food industry: Inhibition and utilization. *Trends in Food Science & Technology*, 123, s. 103–113.
- NĚMEČKOVÁ I., HLAVÁČKOVÁ Z., ŠEBKOVÁ T., SMOLOVÁ J., STRMISKA V., HORÁČKOVÁ Š. (2017): Vliv sanitálních roztoků na kvasinky kontaminující mlékařské provozy a na jejich biofilmy. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 161, 28(2), s. 8–13.

Tab. 19 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Paenibacillus glucanolyticus* S406-AB-1B

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	2	2	1	2	2	2	3	2	2
Kys. dusičná	2	2	1	2	1	2	3	2	2
Kys. citronová	1	2	1	2	1	2	4	2	2
Kys. fosforečná	2	2	2	2	1	2	4	2	2
Kys. amidosírová	2	1	4	4	3	1	4	2	2
Peroxid vodíku	1	1	1	1	1	3	4	3	2
Kys. peroctová	3	1	1	2	1	3	2	4	2
Chlornan sodný	ND	1	2	ND	2	2	ND	2	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 20 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Bacillus licheniformis* S91-AB-F

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	2	2	2	4	3	3	4	2
Kys. dusičná	1	1	2	2	3	2	3	3	2
Kys. citronová	1	1	3	3	4	3	3	3	2
Kys. fosforečná	1	2	3	3	4	2	3	3	2
Kys. amidosírová	1	1	4	3	4	3	3	3	3
Peroxid vodíku	1	1	1	1	2	3	3	3	2
Kys. peroctová	1	1	1	1	1	3	3	3	2
Chlornan sodný	ND	1	1	ND	2	2	ND	2	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 21 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Micrococcus luteus* S363-GTK-AB-1B

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	1	2	2	1	2	2	1	1
Kys. dusičná	4	3	1	1	1	2	2	1	2
Kys. citronová	3	2	2	1	1	3	3	1	3
Kys. fosforečná	5	4	1	1	1	2	3	2	4
Kys. amidosírová	3	2	2	1	1	5	4	1	5
Peroxid vodíku	2	2	1	1	1	3	2	1	3
Kys. peroctová	4	3	1	2	2	1	1	1	2
Chlornan sodný	ND	2	1	ND	2	2	ND	2	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

Tab. 22 Vliv přidavku aktivních látek sanitálních roztoků k bujónu BHI na tvorbu biofilmu kmenem *Rhodococcus erythropolis* S78-AB-F

Koncentrace (%)	0,7	0,4	0,1	0,07	0,04	0,01	0,007	0,004	0,001
Hydroxid sodný	1	3	4	1	2	2	2	2	2
Kys. dusičná	3	4	4	1	1	2	2	2	2
Kys. citronová	3	2	4	2	2	2	2	2	2
Kys. fosforečná	5	4	4	2	2	2	2	2	2
Kys. amidosírová	3	4	4	2	2	2	2	2	2
Peroxid vodíku	1	4	1	1	1	2	2	2	2
Kys. peroctová	2	4	1	1	1	2	2	2	2
Chlornan sodný	ND	4	1	ND	2	2	2	2	2

Tvorba biofilmu: 1... významné snížení, 2... snížení, 3... zanedbatelný vliv, 4... zvýšení, 5... významné zvýšení, ND... nedetekovaná (žádná)

- NĚMEČKOVÁ I., TREŠLOVÁ Š., LEŠKOVÁ E. (2021): Vývoj metody pro testování účinnosti sanitálních roztoků proti biofilmům. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 187, 32(4), s. 9–14.

SOP VFU (2020): Stanovení aktivního chloru v roztocích Chloraminu T a chlornanů. Staženo: https://www.vfu.cz/files/2240_48_vystup_SOP_Staveni_aktivniho_chloru_v_roztocich_Chloraminu_T_a_chlornanu.pdf (14. 4. 2020).

XU Z.S., YANG X., GÄNZLE G. (2021): Resistance of biofilm- and pellicle-embedded strains of *Escherichia coli* encoding the transmissible locus of stress tolerance (tLST) to oxidative sanitation chemicals. *International Journal of Food Microbiology*, 359, 109425.

ZHU T., YANG C., BAO X., CHEN F., GUO X. (2022): Strategies for controlling biofilm formation in food industry. *Grain & Oil Science and Technology*, v tisku.

Korespondující autor: Ing. Irena Němečková, Ph.D.,
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: nemeckova@milcom-as.cz

Přijato dne: 10. 10. 2022

Lektorováno: 16. 11. 2022

DUNALIELLA SALINA – NEJBOHATŠÍ ZDROJ BETAKAROTENU

Václav Bierhanzl¹, Ivana Hyršlová¹, Tomáš Brányik²,
Gabriela Krausová^{1*}

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Dunaliella salina – the best source of β -carotene

Abstrakt

Dunaliella salina je mikroskopickou zelenou řasou, jež se během posledních let stala jedním z nejvýznamnějších zdrojů antioxidantů mikrobiálního původu. Důvodem její rostoucí oblíbenosti mezi spotřebiteli i výrobci je její vysoký obsah karotenů, bílkovin a dalších bioaktivních látek. Kultivace této řasy je nenáročná a nevyžaduje nijak specifické podmínky. Bioaktivní látky, jež *Dunaliella salina* produkuje, mají mnoho příznivých účinků na člověka, např. bylo prokázáno její působení proti některým civilizačním chorobám, také imunomodulační a antioxidantní účinky. Zdokumentován je také možný prebiotický účinek jejích polysacharidů. *Dunaliellu*, resp. její složky, lze použít jako potravní doplňky, k fortifikaci funkčních potravin i ve formě sušené biomasy.

Klíčová slova: *Dunaliella*, mikroskopické řasy, karoten, antioxidanty, nutraceutika

Abstract

Dunaliella salina is a green microalga that has become one of the most important source of microbial antioxidants during last years. The reason for its growing popularity among consumers and producers is its high content of carotenes and proteins, as well as other bioactive compounds. Cultivation of this alga is not very demanding,

for its production no special requirements are needed. Biogenic substances produced by *Dunaliella salina* have a lot of positive effects on humans. They act against some civilization diseases, as immunomodulating agents, as antioxidants. Additionally, their growth promoting effect on beneficial bacteria as prospective prebiotics has been documented. *Dunaliella*, or their compounds can be used in the form of food supplements, in fortification of functional foods or as a dried biomass.

Keywords: *Dunaliella*, microalga, carotene, antioxidants, nutraceutics

Úvod

Jednobuněčné řasy jsou mikroskopické organismy, z nichž se některé již tradičně pěstují pro výrobu potravin. Hlavní oblastí jejich pěstování je Dálný východ, nicméně během posledních generací se jejich pěstování rozšířilo i do dalších oblastí s vhodným podnebím, především do přímořských států (Sathasivam a kol. 2019). V jejich případě se jedná zejména o průmyslovou výrobu, v různých fázích vývoje. Na Dálném východě naopak pěstování mikroskopických řas navázalo na předchozí zkušenosti s pěstováním mořských řas a jejich zpracování, které svým objemem i rozsahem stále mnohonásobně převyšuje tamější produkci mikroskopických řas (Yu a kol. 2019). V dnešní době se pěstuje několik desítek druhů mořských i mikroskopických řas, jež se konzumují buď přímo, případně slouží k produkci potravinářských surovin anebo jako součásti potravinářských výrobků či doplňků stravy. Velkou část z nich tvoří zahušťovadla a stabilizátory (Ścieszka a Klewicka, 2019) na bázi polysacharidů (agar, algináty, karagenan). Mimo tohoto technologického využití se objevuje i snaha o cílenou fortifikaci bioaktivními látkami řas. Zejména se jedná o mléčné případně pekárenské výrobky (El-Baz a kol. 2017). V mlékárenských výrobcích může přídavek řas sloužit nejen ke zlepšení nutriční hodnoty, ale také jako živiny pro použitou mlékárenskou či probiotickou kulturu (Alslibi a kol. 2021). Obecně se nejlépe fortifikují takové potraviny, které obsahují větší množství vody, kde se mohou tyto látky snáze rozpouštět, případně takové potraviny, které obsahují technologicky podobně se chovající látky (např. škrob versus nestravitelné polysacharidy). Na rozdíl od mořských řas, které se pěstují především jako zdroj polysacharidů, mikroskopické řasy se pěstují hlavně pro získání snadno stravitelných bílkovin s optimálním zastoupením aminokyselin, včetně esenciálních. Řasy obecně obsahují velké množství bílkovin, jsou autotrofní a fototrofní, a tudíž produkují bílkoviny z anorganických látek, váží uhlík i dusík ze vzduchu. Tato relativní nezávislost na složení živného média umožňuje jejich pěstování v odpadních vodách (da Silva a kol. 2021), hlavně v potravinářských odpadech, kde lze počítat s netoxicitou narostlé biomasy. Jelikož se řasy pěstují v akvakulturách, nepotřebují pro svůj růst ani zemědělskou půdu, a tudíž mohou být pěstovány