



## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0028**

**Funkčné potraviny na báze kozieho mlieka a ich prospešnosť pre zdravie**

Zodpovedný riešiteľ **MVDr. Andrea Lauková, CSc.**

Príjemca **Centrum biovied SAV, v. v. i. - Ústav fyziológie hospodárskych zvierat**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat v Košiciach

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Bez účasti zahraničného pracoviska

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

01.Pôvodca: Andrea Lauková, MVDr., CSc., Kološta Miroslav, Ing. PhD, Drončovský Maroš, Ing; Tomáška Martin, Ing. PhD.

Prihlasovateľ: Centrum biovied SAV,v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice, Výskumný ústav mliekarenský a.s. Žilina

Číslo prihlášky úžitkového vzoru: PÚV 50094-2021 „Kmene kyslomliečnych baktérií lactococcus lactis subsp. Lactis MK1/3, Lactiplantibacillus plantarum LP17L/1, použitie uvedených kmeňov, spôsob výroby fermentovaného kozieho mlieka, výrobok vyrobený týmto spôsobom, podané 14.12.2021 na Úrad priemyselného vlastníctva SR.

02.Pôvodca: Andrea Lauková , MVDr., CSc., Kološta Miroslav, Ing. PhD, Drončovský Maroš, Ing; Tomáška Martin, Ing. PhD.

Prihlasovateľ: Centrum biovied SAV,v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice, Výskumný ústav mliekarenský a.s. Žilina

Číslo patentovej prihlášky: PP 50021-2022 „Kmene kyslomliečnych baktérií Lactococcus lactis subsp. Lactis MK1/3, Lactiplantibacillus plantarum LP17L/1, použitie uvedených kmeňov, spôsob výroby fermentovaného kozieho mlieka, výrobok vyrobený týmto spôsobom, podané 14.4.2022 na na Úrad priemyselného vlastníctva SR.

03.Pôvodca: Tomáška Martin Ing., PhD; Kološta Miroslav, Ing., PhD; Drončovský Maroš Ing.; Lauková Andrea, MVDr., CSc.

Prihlasovateľ: Výskumný ústav mliekarenský a.s. Žilina, Centrum biovied SAV,v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice

Číslo patentovej prihlášky: PP 50065-2022 “Kmene kyslomliečnych baktérií Lactococcus lactis 33S7, Lacticaseibacillus paracasei LP ZM-2, použitie uvedených kmeňov, spôsob výroby čerstvého mäkkého syra a zrejúceho mäkkého syra z kozieho mlieka, výrobky vyrobené týmto spôsobom“, podané 9.12.2022 na Úrad priemyselného vlastníctva SR.

04.Pôvodca: Tomáška Martin Ing., PhD; Kološta Miroslav, Ing., PhD; Drončovský Maroš Ing.; Lauková Andrea, MVDr., CSc.

Prihlasovateľ: Výskumný ústav mliekarenský a.s. Žilina, Centrum biovied SAV, v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Košice  
Číslo patentovej prihlášky: PP 50064-2022 "Kmeň kyslomliečnych baktérií *Lactococcus lactis* PD MO 1/9, použitie uvedeného kmeňa, spôsob výroby fermentovaného kozieho mlieka, výrobok vyrobený týmto spôsobom", podané 9.12. 2022 na Úrad priemyselného vlastníctva SR.

**Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače**

- 01.VARGOVÁ, M., HURNÍKOVÁ, Z., REVAJOVÁ, V., LAUKOVÁ, A., DVOROŽŇÁKOVÁ, E. Probiotic bacteria can modulate murine macrophages' superoxide production in *Trichinella spiralis* infection. In *Helminthologia*, vol. 57, no.3, 2020, p. 226-234. doi 10.2478/helm-2020-0024 IF2019=0.790, WOS Q2
- 02.LAUKOVÁ ANDREA, POGÁNY SIMONOVÁ MONIKA, FOCKOVÁ VALENTÍNA, KOLOŠTAMIROSLAV, TOMÁŠKA MARTIN, DVOROŽŇÁKOVÁ EMÍLIA. Susceptibility to bacteriocins in biofilm-forming, variable staphylococci isolated from local Slovak ewe's milk lump cheeses. In *Foods*, Vol. 9, no. 9, 2020, ID 1335 (12 pages), open access, doi:10.3390/foods9091335, IF2019=4.092, Q1
- 03.LAUKOVÁ ANDREA, FOCKOVÁ VALENTÍNA, POGÁNY SIMONOVÁ MONIKA. *Enterococcus mundtii* isolated from Slovak raw goat milk and its bacteriocinogenic potential. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* vol. 17, 2020, p. 9504 (open access) Doi: 10.3390/ijerph17249504; IF2019=2.849 Q1
- 04.LAUKOVÁ A., FOCKOVÁ V., POGÁNY SIMONOVÁ M. Enterococcal Species Associated with Slovak Raw Goat Milk, Their Safety and Susceptibility to Lantibiotics and Durancin ED26E/7. In *Processes* 2021; 9(4):681. <https://doi.org/10.3390/pr9040681> IF2020=2.847, Q3
- 05.LAUKOVÁ, Andrea, MICENKOVÁ, Lenka, POGÁNY SIMONOVÁ, Monika, FOCKOVÁ, Valentína, ŠČERBOVÁ Jana, TOMÁŠKA, Martin, DVOROŽŇÁKOVÁ, Emília, KOLOŠTA Miroslav. Microbiome Associated with Slovak Traditional Ewe`s milk lump cheese. In *Processes*, 2021, vol. 9, Iss. 9, p. 1603 (open access), <https://doi.org/10.3390/pr9091603> Q3, IF2020=2.847
- 06.LAUKOVÁ Andrea, TOMÁŠKA Martin, KMEŤ Vladimír, STROMPFOVÁ Viola, POGÁNY SIMONOVÁ Monika, DVOROŽŇÁKOVÁ Emília. Slovak local ewe`s milk lump cheese, a source of beneficial *Enterococcus durans* strain. In *Foods*, 2021, vol. 10, 3091.<https://doi.org/10.3390/foods10123091> Q2, IF2020=4.350
07. LAUKOVÁ Andrea, BURDOVÁ Oľga, NAGY Jozef. In situ interaction of Enterocin A/P with *Staphylococcus aureus* SA5 in goat milk lump cheese. In *Applied Sciences*, vol. 12, 2022, pp. 9885. open access. <https://doi.org/10.3390/app12199885>, IF2021=2.838, Q2
- 08.LAUKOVÁ Andrea, TOMÁŠKA Tomáška, FRAQUEZA Maria João, SZABÓOVÁ Renáta, BINO Eva, ŠČERBOVÁ Jana, POGÁNY SIMONOVÁ Monika, DVOROŽŇÁKOVÁ Emília. Bacteriocin-producing strain *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1 isolated from traditional stored ewe`s milk cheese and its beneficial potential. In *Foods*, vol. 11, 2022, 959. <https://doi.org/10.3390/foods11070959> ( APVV-17-0028) Q1 IF2021=5.561
- 09.LAUKOVÁ Andrea, MICENKOVÁ Lenka, GREŠÁKOVÁ Ľubomíra, MAĎAROVÁ Michaela, POGÁNY SIMONOVÁ Monika, FOCKOVÁ Valentína, and ŠČERBOVÁ Jana. Microbiome associated with Slovak raw goat milk, trace minerals and vitamin E content. In *International Journal of Food Science*, Article ID 4595473, 8 pages 2022, <https://doi.org/10.1155/2022/4595473> open access IF2022=1.9
- 10.DVOROŽŇÁKOVÁ, Emília, VARGOVÁ, Miroslava, HURNÍKOVÁ, Zuzana - LAUKOVÁ, Andrea, REVAJOVÁ, Viera. Modulation of lymphocyte subpopulations in the small intestine of mice treated with probiotic bacterial strains and infected with *Trichinella spiralis*. In *Journal of Applied Microbiology*, 2022, vol. 132, p. 4430-4439. (2021: 4.059 - IF, Q2 - JCR, 0.792 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 1364-5072. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/jam.15534> (Vega č. 2/0056/19 : Imunomodulačné vlastnosti probiotických enterokokov a ich enterocínov pri antiparazitárnej obrane hostiteľa s experimentálnou trichinelózou pri antiparazitárnej obrane hostiteľa s experimentálnou trichinelózou. APVV-17-0028 : Funkčné potraviny na báze kozieho mlieka a ich prospešnosť pre zdravie)
- 11.LAUKOVÁ Andrea, POGÁNY SIMONOVÁ Monika, FOCKOVÁ Valentína, TOMÁŠKA Martin, DRONČOVSKÝ Maroš, VARGOVÁ Miroslava, DVOROŽŇÁKOVÁ Emília. Slovak

raw goat milk as a source of variable, biofilm-forming staphylococci, and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins. In JSFA reports, vol. 2, 2022, p. 40-47. doi:10.1002/jsf2.27  
12.LAUKOVÁ, A., POGÁNY SIMONOVÁ, M., TOMÁŠKA, M., KOLOŠTA, M., DRONČOVSKÝ, M., DVOROŽŇÁKOVÁ, E. Lacticaseibacilli and lactococci from Slovak raw goat milk and their potential. In Scientia Agriculturae Bohemica, vol. 52, Iss. 2, 2021, pp. 19-28. doi:10.2478/sab-2021-0003

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Výsledky projektu majú svoje uplatnenie vo viacerých rovinách resp. oblastiach. Jednak v rámci základného výskumu je to zmapovanie mikrobiómu surového kozieho mlieka, čo je príspevkom nielen pre potravinársku mikrobiológiu, ale aj pre potravinárov aj s následným podrobným zmapovaním kontaminantnej mikrobioty či vyselektovaním prospešných kmeňov, ich charakterizáciou ako aj charakterizovaním ich bakteriocínov. Ďalšími oblasťami, kde dosiahnuté výsledky nájdu svoje uplatnenie je jednoznačne mliekarenská výroba (kozie fermentované nápoje, mäkké syry), kedy inovované produkty obsahujúce vyselektované kmene poslúžia ako funkčná potravina. Navyše, nové bakteriocíny produkované danými kmeňmi prispievajú i v rámci technologického postupu ku ochrane produktu a svojou funkčnosťou nimi obohatené produkty môžu spĺňať štatút funkčnej potraviny. Z hľadiska preukázaného imunologického a antiparazitického potenciálu vyselektovaných kmeňov je zrejmé ich uplatnenie v prevencii/eliminácii trichinelózy. A napokon nemenej významné je možné uplatnenie daných kmeňov a ich bakteriocínov v chove potravinových zvierat pre zachovanie zdravého chovu.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)**

V rámci riešenia projektu boli naplnené všetky stanovené ciele. Vyselektované a charakterizované boli prospešné kyselinu mliečnu produkujúce, bakteriocín-produkujúce, či beta-galaktozidázu produkujúce baktérie *Lacticaseibacillus paracasei* LPa12/1, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MK1/3, *L. lactis* PD MO 1/9, *Enterococcus mundtii* EM2/2 zo surového kozieho mlieka, ako aj *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1 a *Enterococcus durans* ED26E/7 z ovčieho hrudkového syra. Ich identita bola potvrdená aj sekvenačnou analýzou 16S rRNA (BLASTn analýzou). Pre svoje vhodné/prospešné/probiotické a technologické vlastnosti boli dané kmene použité na prípravu fermentovaného kozieho nápoja a mäkkých syrov, čím naplnili charakter funkčnej potraviny. Preukázaná bola ich bezpečnosť po podávaní myškám hybridného plemena Balb/c. Zanalyzovaný bol aj ich imunologický potenciál pri infekcii nematódou *T. spiralis*, čo poukazuje na význam daných kmeňov pre zdravie. Pre aplikačné účely bola preštudovaná i aplikačná forma kmeňov (lyofilizácia ako najjednoduchšia forma enkapsulácie). Preukázaná bola aj stabilita a prežívanie kmeňov v kombinovaných jogurtoch z ovčieho a kozieho mlieka. Podrobnejšie boli preštudované bakteriocíny produkované niektorými z týchto kyselinu mliečnu produkujúcich baktérií; plantaricín (z kmeňa LP17L/1), mundticín (z kmeňa EM2/2) či durancín (z kmeňa ED26E/7), ktoré predstavujú teplo- stabilné bakteriocíny. Preukázaný bol ich *in vitro* ako aj *in vivo/in situ* (v kozom hrudkovom syre) antistafylokokový a antilisteriálny účinok. Zmapovaný bol mikrobióm surového kozieho mlieka produkovaného na Slovensku použijúc sekvenačnú metódu (next- generation sequencing), čo doposiaľ nebolo známe. Tento poznatok teda predstavuje výraznú originalitu. Preukázaný bol význam vyselektovaných kmeňov pre zdravie nielen ako súčasť funkčnej potraviny, ale hlavne bol preukázaný ich protektívny potenciál pri parazitickom zoonóznom ochorení, akým je trichinelóza. Kmene boli uložené v Českej zbierke mikroorganizmov v Brne a sú súčasťou 3 patentových prihlášok podaných na Úrad priemyselného vlastníctva SR.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)**

Following the aims of the project, it can be stated that all aims were fulfilled. Lactic acid producing, bacteriocin-producing and/or, beta-galactosidase producing bacteria *Lacticaseibacillus paracasei* LPa12/1, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MK1/3, *L. lactis* PD MO 1/9, *Enterococcus mundtii* EM2/2 isolated from raw goat milk, as well as *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1 and *Enterococcus durans* ED26E/7 isolated from ewes milk lump and stored cheese were selected and characterized. Their identity was

confirmed using sequencing analysis 16S rRNA (BLASTn analysis). Because of suitable/beneficial/probiotic and technological properties of these strains, they were used in manufacturing of fermented goat drinks, and fresh soft cheeses, in the products functioned as functional food. Safety of the strains was shown using mice model (Balb/c). Their immunological potential was confirmed in infection with the nematode *T. spiralis*. It indicates the health impact of those strains. From the application aspect, application form of the strains was studied (freeze drying as the simplest version of encapsulation). The stability and surviving of the strains in yoghurts made from ewes-goat milk was shown. More details were studied bacteriocins produced by some of these lactic acid producing selected strains; plantaricin (produced by the strain LP17L/1), mundticin (produced by the strain EM2/2) and/or durancin (produced by the strain ED26E/7). They are thermo-stable substances with *in vitro* and *in vivo/in situ* (in goat milk lump cheese) anti-staphylococcal and anti-listerial effect. Microbiome of raw goat milk produced in Slovakia was mapped using next-generation sequencing method, which has been not studied up to now. It is real originality of the project. Altogether, importance of selected strains for health was indicated not only as their part of functional food, but especially protective potential of selected strains was shown in the case of parasitic zoonosis-trichinelosis. The strains were deposited in Czech Culture Collection in Brno and they are a content of 3 patent contribution submitted at Slovak office of industrial property.