



## Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

**LPP-0136-07**

**Štúdium mikroflóry slovenskej bryndze nekultivačnými metódami**

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Tomáš Kuchta, DrSc.**

Príjemca **Výskumný ústav potravinársky**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Výskumný ústav potravinársky, Bratislava
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Berta, G. - Chebeňová, V. - Brežná, B. - Pangallo, D. - Valík, Ľ. - Kuchta, T.: Identification of lactic acid bacteria in Slovakian bryndza cheese. Journal of Food and Nutrition Research, 48, 2009, s. 65-71.
2. Kuchta, T. - Chebeňová, V. - Brežná, B.: Identifikácia baktérií mliečneho kysnutia v bryndzi. Slovenský veterinársky časopis, 34, 2009, s. 380-381.
3. Chebeňová-Turcovská, V. - Ženišová, K. - Kuchta, T. - Pangallo, D. - Brežná, B.: Culture-independent detection of microorganisms in traditional Slovakian bryndza cheese. International Journal of Food Microbiology, 150, 2011, s. 75-78.
- 4.

5.

## Uplatnenie výsledkov projektu

### CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Projekt bol zameraný na štúdium mikroflóry Slovenskej bryndze nekultivačnými metódami. V prvej časti sa vykonali predbežné kultivačné analýzy, doplnené o identifikáciu kolónií modernými molekulárno-biologickými metódami (polymorfizmus náhodne amplifikovaných mikrosatelitov – RAMP, sekvenovanie 16S rDNA). Ťažiskom projektu bola nekultivačná analýza založená na izolácii celkovej DNA zo vzoriek bryndze a na aplikácii metódy fluorescenčnej polymerázovej reťazovej reakcie orientovanej na medzerníkové oblasti (f-ITS PCR) s použitím fluorescenčne označených primérov a kapilárnej elektroforézy s laserovou detekciou na separáciu fragmentov DNA. Fragmenty DNA sa identifikovali sekvenovaním. Zistil sa výskyt nasledujúcich kvasiniek a húb: *Debaromyces hansenii*, *Mucor fragilis*, *Yarrowia lipolytica* a *Galactomyces geotrichum*. Zistil sa výskyt nasledujúcich baktérií: *Lactobacillus brevis*, *Lb. delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*, *Sc. macedonicus*, *Lactococcus lactis*, *Lc. raffinolactis* a *Leuconostoc pseudomesenteroides*. Zákonitosti vo výskyte jednotlivých druhov v závislosti na geografickej lokalite alebo na využívaní pasterizácie vo výrobnom procese sa na tejto úrovni nezistili. Štruktúra profilov f-ITS PCR ukázala, že okrem dominantných zložiek mikroflóry je touto metódou možné efektívne analyzovať aj jej minoritné komponenty s využitím databázy osekvenovaných markérových fragmentov DNA. Metóda f-ITS PCR zavedená na nekultivačnú analýzu bryndze v rámci tohoto projektu sa ukázala byť efektívna a predstavuje veľmi dobrý metodický základ pre nasledujúci výskum mikroflóry bryndze a iných syrov. Súčasťou riešenia projektu bolo zavedenie metódy na nekultivačnú kvantifikáciu *Lb. casei*, založenú na real-time PCR.

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

The project was targeted to the study of microflora of Slovakian bryndza cheese using non-culture methods. In the first part, preliminary culture-based analyses were conducted, supplemented with colony identification using modern molecular methods, such as randomly amplified microsatellite polymorphism (RAMP) and 16S rDNA sequencing. The major efforts of the project were non-culture analyses based on DNA isolation directly from cheese samples with subsequent application of fluorescent internal transcribed spacer-targeted polymerase chain reaction (f-ITS PCR) using fluorescently labelled primers and capillary electrophoresis for separation of DNA fragments. DNA fragments were identified by sequencing. *Debaromyces hansenii*, *Mucor fragilis*, *Yarrowia lipolytica* and *Galactomyces geotrichum* were detected among yeasts and moulds, while *Lactobacillus brevis*, *Lb. delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*, *Sc. macedonicus*, *Lactococcus lactis*, *Lc. raffinolactis* and *Leuconostoc pseudomesenteroides* were detected among bacteria. No correlation between the incidence of individual species and geographical origin or use of pasteurization in the technology were observed. The structure of f-ITS PCR profiles showed the potential of the method to effectively resolve not only major components but also minor components of the microflora, using the database of sequenced marker DNA fragments. The f-ITS PCR technique introduced to the non-culture analysis of bryndza cheese in this project is effective and represents a good methodological basis for future research on the microflora of this and other cheeses. A real-time PCR for non-culture-based quantification of *Lb. casei* was also introduced in the project.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

**Zodpovedný riešiteľ**

RNDr. Tomáš Kuchta, DrSc.

V Bratislave 10. 11. 2011

**Štatutárny zástupca príjemcu**

Mgr. Kateřina Věntusová

V Bratislave 10. 11. 2011

.....  
podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu