

- GONZALES-SISO M.I. (2016): The Biotechnological Utilization of Cheese Whey: A Review. *Bioresource Technology*, 57 (1), s. 1-11.
- HOFMAN J. R., FALVO M. J. (2004): Protein – which is best? *J. Sports Sci Med.*, 3 (3), s. 118-130.
- KRÓLCZYK J. B., DAWIDZIUK T., JANISZEWSKA-TURAK E., SOLOWIEJ B. (2016): Use of whey and whey preparations in the food industry-a review. *Polis J Journal of Food and Nutrition Science*, 66 (3), s. 157-165.
- Official Methods of Analysis of AOAC International (2000) 17 th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 925.09, 926.08.
- Official Methods of Analysis of AOAC International (2000) 17 th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 923.03.
- Official Methods of Analysis of AOAC International (2000) 17 th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 922.06.
- Official Methods of Analysis of AOAC International (2000) 17 th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 979.09.
- Official Methods of Analysis of AOAC International (2000) 17 th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 991.42.
- POKORNÝ J. (1993): *Metody senzorké analýzy potravin a stanovení senzorké jakosti*. ÚZPI Praha, 196 s. ISBN 80-85120-34-8
- SALAZAR D. M., NARANJO M., PÉREZ L. V., VALENCIA A.F., ACURIO L.P., GALLEGOS L.M., ALVAREUZ F.C., AMANCHA P.I., VALENCIA M.P., RODRIGUEZ C.A. ARANCIBIA M.Y. (2017): Development of newly enrich bread with quinoa flour and whey. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 77.

**Korespondující autor:** Ing. Ivana Laknerová  
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.  
Radiová 1285/7, 102 00 Praha 10  
email: ivana.laknerova@vupp.cz

Přijato do tisku: 12. 7. 2019  
Lektorováno: 8. 8. 2019

## FUNKČNÍ VLASTNOSTI BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ

**Miloslava Kavková, Vladimír Dráb**  
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.,  
Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

### Functional properties of lactic acid bacteria

#### Abstrakt

Bakterie mléčného kvašení představují skupinu mikroorganismů, jenž jsou známé a v potravinářském průmyslu využívané pro své fermentační schopnosti. Některé druhy a jejich izoláty, jako probiotika, poskytují řadu zdravotních benefitů v souvislosti s gastro-urogenitálním traktem lidí a zvířat. Bakterie mléčného kvašení, druh od druhu a izolát od izolátu, disponují širokým spektrem dalších funkčních vlastností, které mohou být významným přínosem pro vývoj potravin nové generace cílené na specifické skupiny konzumentů s ohledem na jejich zdraví a nutriční požadavky.

**Klíčová slova:** bakterie mléčného kvašení, funkční vlastnosti, enzymatická aktivita, antimikrobiální látky, detoxikační vlastnosti

#### Abstract

The utilization of lactic acid bacteria for their fermentative effect in the food and feed industry is a worldwide phenomenon. Lactic acid bacteria as probiotics provide health benefits for the human and animal gastro-urogenital tract. Lactic acid bacteria in relation to particular species and/or isolate can exhibit extra-functional properties. The functional properties of lactic acid bacteria can contribute to the food of the new generation for consumers with special nutrition requirements.

**Keywords:** lactic acid bacteria, functional properties, enzymatic activity, antimicrobial activity, detoxifying activity

#### Úvod

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou všudypřítomné organismy. V závislosti na nutriční preferenci a schopnosti využívat různé sacharidy, je popsán jejich výskyt na rostlinách, fermentovaných organických substrátech včetně rostlin, potravin, v mukosálních tkáních lidí a živočichů stejně jako v enterogastrickém a urogenitálním traktu. BMK jsou významnou složkou výše uvedených ekosystémů a díky svému specifickému metabolismu mají klíčový význam při regulaci mikrobiomu a fermentačních procesech. BMK představují heterogenní fylogenetickou skupinu, jejíž zástupci, na základě evoluce s ostatními mikroorganismy, houbami, rostlinami, bezobratlými a obratlovci, jsou mutualisté, symbionti, komenzálové a výjimečně i patogeni.

Z fylogenetického hlediska se řadí BMK mezi G+ bakterie, nesporulující koky, kokobacily a bacily povětšinou anaeroby s tolerancí k aerobnímu prostředí. Podle schopnosti využívat glukózu se dělí na homofermentativní a heterofermentativní BMK. Jejich DNA obsahuje méně než 53 mol % G+C bazí. Většina druhů se řadí k řádu *Lactobacillales* v rámci kmene *Firmicutes* zahrnujícího, kromě *Lactobacillales* ještě čeledi *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostocaceae* a *Streptococcaceae*. Rod *Bifidobacterium* se neřadí mezi bakterie mléčného kvašení. Je součástí vývojové větve *Actinobacteria*, třídy *Actinobacteriacea* a řádu *Bifidobacteriales*. Současná fylogenetická klasifikace je založena na sekvencích 16S a 23S r RNA genů a na celogenomových sekvencích. Polyfázický přístup zahrnuje dostupné fenotypické a genotypické informace a umožňuje tak odlišení izolátů s variabilními vlastnostmi v rámci daného druhu. Fylogenetická diverzita BMK reflektuje také jejich odlišnosti morfologické, odlišné růstové parametry, odlišné nároky na media, toleranci k solím a pH, variabilitu v metabolismu a schopnost sekrece specifických metabolitů (Gänzle, 2015). Tyto vlastnosti v optimální kombinaci pak rozhodují o jejich funkčnosti, cíleném a efektivním využití kmenů BMK v lékařství, farmacii a potravinářství. BMK produkují řadu metabolitů které jsou používány jako funkční doplňky: probiotika, enzy-

my, vitamíny, exopolysacharidy, nízko-kalorické cukry, antimikrobiální agens v medicíně a farmacii a jako detoxifikační agens v potravinách a krmivech. Na základě schopnosti BMK fermentovat laktózu a dalších enzymatických aktivit, byly vyselektovány druhy a kmeny BMK k použití jako zákysové a doplňkové kultury pro mlékárenské, pekařské a jiné potravinářské obory. Požadavky na BMK coby zákysové kultury pro současné funkční potraviny jsou zejména: mikrobiální bezpečnost, organoleptické, technické a nutriční specifikace, zdravotní benefity jako například probiotické vlastnosti a také rezistence vůči bakteriofágům. K výběru a specifikaci kmenů BMK se používají fenotypické a genotypické testy a metody. Funkční vlastnosti, jako schopnost produkovat metabolity typu exopolysacharidů (EPS) nebo proteiny či peptidy s antimikrobiální aktivitou, jsou podmíněny geneticky a ovlivněny podmínkami prostředí. I když ve vědeckých výstupech je popsána řada genů zodpovědných za produkci těchto funkčních molekul, ne vždy se projeví fenotypově respektive neznáme přesné podmínky k aktivaci těchto genů.

## Antimikrobiální látky

Kmeny BMK produkují specifické **antimikrobiální látky** jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem (kyselina mléčná, mravenčí, octová, propionová atd.), peroxidy a/nebo toxiny cílené vůči nežádoucím mikroorganismům jako jsou bakteriociny a podobné látky. Bakteriociny různého typu produkuje většina druhů BMK. Z hlediska mikrobiální ekologie mají bakteriociny vliv na formování bakteriálních komunit při osídlování různých nik a jsou zodpovědné za diverzitu bakteriálních komunit. Bakteriociny jsou syntetizovány ribosomálně, anebo jsou reprezentovány post-translačně modifikovanými peptidy (RiPPs) (Arnison a kol., 2013). Bakteriociny jsou na základě jejich struktury a původu podle současných poznatků děleny do tříd I – RiPP, třída II – bakteriociny nemodifikované, menší než 10kDA, a třída III – vysokomolekulární bakteriociny (Alvarez-Seiro a kol., 2016; George a kol., 2018). Bakteriociny jsou využitelné jako biokonzervanty, jako podpůrný probiotický faktor regulující střevní mikroflóru a jako antibiotika. Kmeny BMK, u kterých je prokázána produkce bakteriocinů by měly vykazovat další vlastnosti nezbytné k zajištění efektivity a funkčnosti produkováných bakteriocinů v potravinářské praxi. Bakteriociny by měly být stravitelné, netoxické a neimunogenní, aby nezatěžovaly organismus. Měly by být termorezistentní, tak aby si zachovaly antimikrobiální aktivitu i po pasterizaci. BMK produkující bakteriociny by neměly vykazovat křížovou rezistenci s antibiotiky (Silva a kol., 2018; Florou-Paneri a kol., 2013). Pakliže BMK produkující bakteriociny splňují výše uvedené požadavky, jejich aplikace jako potravinářských konzervantů je cílena na prodloužení trvanlivosti potravin, omezení rizika kontaminace nežádoucími mikroorganismy, omezení che-

mických konzervantů a tepelného zpracování potravin, omezení ekonomických ztrát. Aplikace BMK s uvedenými zdravotními a technologickými benefity do výroby potravin dává vznik reformulovaným nebo novým potravinám. Kromě bakteriocinů, jsou BMK také zdrojem vitaminů jako jsou foláty, vitaminy skupiny B a K2.

## Enzymatická aktivita BMK

Enzymatická aktivita BMK má zásadní vliv na výrobu, organoleptické vlastnosti a kvalitu mléčných a pekařských (kvasy) i masných výrobků.

**Proteolytická aktivita BMK** je sama o sobě nezbytná pro růst a vývoj populací BMK v mléčném prostředí během fermentačního procesu. Proteázy jsou polypeptidy lokalizované v buněčné stěně bakterií. Výsledkem jejich působení na proteiny proteolytického procesu jsou peptidy a volné aminokyseliny. Tyto se v následných procesech jako je dekarboxylace, transaminace a desulfurizace podílejí na vzniku sensorických a organoleptických vlastností potravin. U mléčných fermentovaných výrobků proteolýza zabezpečuje lepší stravitelnost. Většina BMK vykazuje slabou proteolytickou aktivitu, přesto je proteolýza hlavní a nejkompexnější reakci BMK v mléčných produktech (McSweeney a Sousa, 2000).

**Lipolytická aktivita BMK** je založena na enzymatické hydrolýze triacylglycerolů a výsledkem této reakce jsou mastné kyseliny, glycerol a mono-acylglyceroly a diacylglyceroly. Tyto látky působí jako emulgátory a podílí se tak na textuře potravinového produktu. Lipolytická aktivita je jedním z kritérií při výběru zákysové kultury. Tato schopnost může příznivě nebo negativně ovlivňovat organoleptické vlastnosti fermentovaných mléčných a masných výrobků.

Většina BMK vykazuje slabou lipolytickou aktivitu, přesto u dlouhozrajících sýrů je lipolytická aktivita BMK (*Lactobacillus helveticus* aj.) klíčová pro zrání a vůni sýra (McSweeney a Sousa, 2000; Garcia-Cano a kol. 2018).

**Fytázy** (kyselé fosfatázy) jsou enzymy, které zvyšují nutriční kvalitu a stravitelnost potravin rostlinného původu bohatých na fytáty tím, že zpřístupňují fosfáty a minerály jako je zinek a vápník v jiných formách než chelatických. BMK jsou během fermentačního procesu schopné produkovat fytázy a významně tak redukovat obsah fytátů a zpřístupňovat tak mikroprvky a minerální látky ze semínek a jiných rostlinných produktů. Kmeny BMK, které produkují mikrobiální fytázy jsou zpravidla izolovány z kvašených zelenin a rostlinných produktů. Z praktického hlediska má využití kmenů BMK s fytázovou aktivitou význam zejména při výrobě kvasů (*Lactobacillus fermentum*, *Lbc. plantarum*, *Lbc. reuteri*, *Lbc. panis* atd.).

**Amylázy** produkované BMK (amylolytické BMK, ALAB) (*Lbc. amylovorus*, *Lbc. plantarum*, *Lbc. fermentum*, *Lbc. manihottivorans*) během fermentačního procesu štěpí škroby a zintenzivňují tak fermentační proces. Využití produkce amyláz BMK je především při výrobě

pekařských produktů a nealkoholických fermentovaných nápojů. Amylyolytické vlastnosti BMK jsou využívány při přípravě vysokoenergetických cereálních potravin se stravitelným škrobem pro malé děti. Používají se také jako kyselé kultury pro fermentační procesy rýžových a sójových produktů (Panda a kol., 2016).

## Exopolysacharidy

Exopolysacharidy (EPS) jsou polymery sacharidů o vysokém počtu sacharidových jednotek. BMK produkují EPS extracelulárně ze sacharózy nebo intracelulárně z prekurzorů sacharózy. Podle chemického složení jsou klasifikovány jako homoexopolysacharidy - fruktany a glukany a heteroexopolysacharidy, které obsahují kromě sacharidových jednotek ještě fosfáty, acetyly a glycerol. Produkce EPS je ovlivněna živným médiem, teplotou, pH a fází růstu BMK. Z technologického hlediska se EPS podílí na organoleptických vlastnostech mléčných a pekařských výrobků, na struktuře, chuťových vjemech a stabilitě. Homoexopolysacharidy jsou využívány spíše v pekařských odvětvích, jelikož ovlivňují strukturu a pekařské vlastnosti výrobků, kdežto heteroexopolysacharidy jsou používány jako aditiva v mlékařském průmyslu. U nízkotučných sýrů například EPS a BMK zvyšují takové funkční vlastnosti jako je retence a celkový obsah vody (Nepomuceno a kol., 2016, Florou-Paneri a kol., 2013). Kromě uvedených technologických benefitů se EPS chovají také jako prebiotika. Zvyšují viskozitu potravin a prodlužují tak perzistenci v zažívacím traktu a tím i možnost přežívání probiotických BMK. BMK produkující EPS vykazují také syntézu protinádorových, protizánětlivých a imunomodulačních látek. Praktické použití EPS je limitované několika faktory – zejména genetickou nestabilitou produkce EPS u různých druhů BMK.

V posledních letech jsou také aktuální studie na BMK zabývající se produkcí **nízkokalorických cukrů** – manitol, sorbitol, xylitol, tagatóza a trehalóza. Tyto alkoholové cukry dávají fermentovaným mléčným výrobkům „přirozenou sladkost“. Produkce byla potvrzena zejména u rodu *Leuconostoc* sp. a *Lactobacillus* sp.

## Detoxikační vlastnosti BMK

BMK patří mezi mikroorganismy se schopností odbourávat cizorodé látky lipofilní povahy (xenobiotika), pesticidy, toxiny a těžké kovy. Mohou tak být využívány k bioremediačním procesům. U hmyzu přítomnost BMK v jejich trávicím traktu významně navyšuje rezistenci vůči organofosfátovým pesticidům (včely) a i v mléčných výrobcích enzymatickou cestou degradují pesticidy jako chlopyrifos a parathion (Daisley a kol., 2018). BMK také, skrze absorpční a degradační schopnosti, zmírňují efekt aflatoxinů, patulinu, ochratoxinu a deoxynivalenolu v potravinách (Martinez a kol., 2017). Bioremediace těžkých kovů v potravinách skrze použití BMK

byla úspěšně testována na myších i klinických studiích. U konzumentů žijících v oblastech kontaminovaných těžkými kovy mohou vybrané kmeny BMK redukovat cirkulaci těžkých kovů v organismu a prostředí (Bisanz a kol., 2014).

## Závěr

Na základě aktuálních výzkumů, BMK představují multifunkční mikroorganismy, jejichž vlastnosti by mohly být využívány nejenom k produkci potravin a krmiv, ale i při prevenci a léčbě gastrointestinálního traktu, nervových poruch a intoxikací za předpokladu výběru správného kmene s ověřenými a otestovanými požadovanými vlastnostmi. Je třeba zmínit, že i v případě BMK existují patologické případy, kdy BMK vyvolaly u pacienta obtíže či způsobily u imunodeficientního pacienta úmrtí. Selektce optimálních kmenů BMK vhodných pro cílené účely vyžaduje užití genomických a proteomických metod a analýz a v rámci nutričních a potravinářských oborů. Praktické použití BMK v potravinářském průmyslu EU je garantováno potravinovou bezpečnostní agenturou EFSA (European Food Safety Authority), která deklaruje bezpečnost vybraných rodů a druhů BMK certifikátem „Qualified Presumption of Safety“ (QPS) (Leuschner a kol., 2010). Z hlediska praktické aplikace kmenů BMK s funkčními vlastnostmi, je třeba zmínit, že proces testování těchto kmenů „in vitro“ s následnými poloprovozními zkouškami k cíleným skupinám spotřebitelů je dlouhý a nákladný a vyžaduje mezioborový přístup. Nicméně, stabilní kmen s konkrétními vlastnostmi či kombinací funkčních vlastností může vhodně a efektivně navýšit zdravotní benefit potravin pro cílené skupiny konzumentů.

## Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou Ministerstva zemědělství ČR v rámci projektu QK1910024 a institucionální podpory MZE-RO1418.

## Literatura

- ALVAREZ-SIEIRO, P., MONTALBÁN-LÓPEZ, M., MU, D., AND KUIPERS, O. P. (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Applied Microbial Biotechnology* 100 s. 2939–2951.
- ARNISON, P. G., BIBB, M. J., BIERBAUM, G., BOWERS, A. A., BUGNI, T. S., BULAJ, G., a kol. (2013). Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature. *Natural Product Reports* 30, s. 108–160.
- BISANZ, J. E., ENOS, M. K., MWANGA, J. R., CHANGALUCHA, J., BURTON, J. P., GLOOR, G. B., a kol. (2014). Randomized open-label pilot study of the influence of probiotics and the gut microbiome on toxic metal levels in Tanzanian pregnant women and school children. *Molecular Biology* 5 s. e01580-14.
- DAISLEY B. A., TRINDER M., MCDOWELL T. W., COLLINS S. L., SUMARAH M. W., REID G. (2018). Microbiota-mediated modulation of organophosphate insecticide toxicity by species-dependent interactions with *Lactobacilli* in a *Drosophila melanogaster* insect model. *Applied Environmental Microbiology* 84 s. e02820-17.
- FELLIS G.E. a DELLAGLIO F. (2015). Taxonomy of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Current Issues Intestinal Microbiology* 8, s. 44-61.

- FLOROU-PANERI P., CHRISTAKI E. a BONOS E. (2013) Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients. LACTIC ACID BACTERIA – R & D FOR FOOD, HEALTH AND LIVESTOCK PURPOSES Kongo M. ed. *InTechOpen.com* s.589-614.
- GÄNZLE, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinions in Food Science* 2, s. 106–117.
- GARCIA-CANO I., ROCHA-MENDOZA D., ORTEGA-ANAYA J., WANG K., KOSMERL E. (2019) Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103 s. 5243-5257.
- GEORGE F., DANIEL C., THOMAS M., SINGER E., GUILBAUD A. a kol. (2018) Occurrence and Dynamics of *Lactic acid bacteria* in distinct ecological niches: A multifaceted functional health perspective. *Frontiers in Microbiology* 9 s. 1-15.
- LEUSCHNER R., ROBINSON T.P., HUGAS M., COCCONCELLI P.S., RICHARD-FORGET F a kol. (2010) Qualified presumption of safety (QPS): a generic risk assessment approach for biological agents notified to the European Food Safety Authority (EFSA). *Trends in Food Science & Technology* 21 s. 425-435.
- MARTINEZ M. P., GONZALEZ PEREYRA, M. L., PENA G. A., POLONI, V., FERNANDEZ JUR G., CAVAGLIERI L. R. (2017). *Pediococcus acidolactici* and *Pediococcus pentosaceus* isolated from a rainbow trout ecosystem have probiotic and ABF1 adsorbing/degrading abilities *in vitro*. *Food Additives and Contaminants*. 34 s. 2118–2130.
- MCSWEENEY P., SOUSA M. (2000) Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. *Lait* 80 s. 293–324.
- VANDAMME P., DE BRUYNE K., POT B. (2014) Phylogenetics and systematics: Ve: Holzapfel W.H. a Wood B.J.B. (edit.) Lactic acid bacteria biodiversity and taxonomy (1. vyd) (pp.31-44). John Wiley & Sons.
- ZHAN Z-G., YE Z-Q., YU L., PENG S. (2011) Phylogenomic reconstruction of lactic acid bacteria: an update. *BMC Evolutionary Biology* 11 s. 1-12.

### Korespondující autor:

Ing. Miloslava Kavková, Ph.D.  
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.  
Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6  
e-mail: m.kavkova@vum-tabor.cz

Přijato do tisku: 8. 10. 2019

Lektorováno: 13. 10. 2019

## STANOVENÍ DRUHŮ MIKROORGANISMŮ POMOCÍ HRM RT-PCR

Mgr. Olga Bazalová, PhD, Mgr. Jaromír Cihlák, PhD

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.  
Ke Dvoru 12a, 16000 Praha 6

### Microbial species determination using HRM RT-PCR

#### Abstrakt

Molekulárně-genetické metody se v mikrobiologických laboratořích čím dál častěji používají pro rutinní určování druhů mikroorganismů. V naší ministudii jsme se zaměřili na určení druhů pomocí polymerázové řetězové reakce v reálném čase (RT-PCR) následovanou

vysoko rozlišující analýzou křivky tání (HRM analýza). Tato studie se zaměřila především na způsob přípravy templátu pro tuto analýzu pomocí upravené colony PCR tak, aby nedocházelo k nákladnému izolování bakteriální DNA.

**Klíčová slova:** HRM RT-PCR, bakterie, colony PCR, izolace DNA

#### Abstract

Methods of molecular-genetics are widely used in the laboratory of microbiology as the routines method for the exact species determination of the microorganisms. In this paper we focused on the use of the High Resolution Real Time PCR melting analysis (HRM RT-PCR), which is widely used and function as the determining tool. Instead of expensive and time consuming DNA isolation we used modified colony PCR for providing the DNA template.

**Key words:** HRM RT-PCR, bacteria, colony PCR, DNA isolation

#### Úvod

V běžné praxi se pracovníci v mikrobiologické laboratoři neustále potýkají s nutností přesně a rychle stanovit druhy mikroorganismů, které se ve vzorku nachází. Klasické mikrobiologické metody stanovení závisí především na správně nastavených podmínkách jejich kultivace. Nevhodné kultivační podmínky mohou přesné určení druhu mikrobů značně ztížit. Základní metody optické mikroskopie umožňují sice relativně rychlé, avšak ne zcela přesné stanovení mikroorganismů, někdy je správné určení druhu dokonce naprosto nemožné. Pro personál je tak přesné určení mikrobů velmi náročné, vyžaduje speciální proškolení a také značnou zkušenost.

Použití molekulárně-genetických metod je proto používáno stále častěji. Tyto metody používané v laboratořích dovolují relativně snadno a rychle detegovat a určit, zda a jaký mikroorganismus se ve vzorku vyskytuje. Používané jsou například tzv. ribotypizace využívající jedinečnost genetické informace ribozomální RNA (rRNA) za použití enzymů – restrikčních endonukleáz (Yansanjav a kol., 2003; Massi a kol., 2004). Ovšem nejčastějšími metodami pro rozlišení jednotlivých druhů především probiotických mikroorganismů (například různých druhů rodu *Lactobacillus*), jsou metody založené na polymerasové řetězové reakci (PCR) - například Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD, Daud a kol., 1997), rep-PCR (Gevers a kol., 2001). V posledních letech je také stále oblíbenější použití analýzy křivky tání – High Resolution Melting Analysis (HRM) jak pro rozlišení jednotlivých druhů mikroorganismů (především u bakterií rodu *Lactobacillus* – Šimec a Potočník, 2011), nebo celých skupin mikroorganismů ve vzorcích (kvasy, potravinářské výrobky – Pontonio a kol. 2017, Ripari a kol. 2016). Z těchto studií vyplývá, že HRM analýza je