

VYUŽITIE DRUHU *Geotrichum candidum* V MLIEKARENskom PRIEMYSLE

MARTINA KOŇUCHOVÁ, DENISA LIPTÁKOVÁ,
ANNA ŠÍPKOVÁ a ĽUBOMÍR VALÍK

Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín, Ústav
potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej
a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37
Bratislava
martina.konuchova@stuba.sk

Došlo 1.7.15, prijaté 16.10.15.

Kľúčové slová: *Geotrichum candidum*, mliečne výrobky,
mikrobiologická bezpečnosť

Obsah

1. Úvod
2. Taxonómia a rozmanitosť *Geotrichum candidum* Link
3. Fenotypové a genotypové metódy charakterizácie *G. candidum*
4. Všeobecná charakteristika *G. candidum*
5. Výskyt v potravinách
 - 5.1. Negatívny význam
 - 5.2. Pozitívny význam
6. Metabolická aktivita *G. candidum* v syroch
 - 6.1. Proteolytická aktivita
 - 6.2. Lipolytická aktivita
7. *G. candidum* a zdravie
8. Záver

1. Úvod

Mliečne výrobky majú nenahraditeľné miesto v ľudskej výžive. Prispievajú k vyváženej a zdravej výžive, a taktiež sú potrebné pre správny vývoj a zdravie človeka. Výber správnej kombinácie mikroorganizmov používaných pri výrobe mliečnych výrobkov napomáha na jednej strane k rozvoju žiaducich a charakteristických senzoričných vlastností, na druhej strane zabezpečuje hygienickú a zdravotnú bezchybnosť výrobkov (biokonzervácia), resp. pozitívne ovplyvňuje zdravie človeka (probiotické produkty). Mikroskopické vláknité huby sú väčšinou známe ako kontaminanty surovín a potravinových produktov, kde vplyvom svojej metabolickej aktivity môžu spôsobiť kazenie, či dokonca úplné znehodnotenie výrobkov. Na druhej strane sú ušľachtilé kvasinky a vláknité huby, ktoré sú nenahraditeľné pri výrobe viacerých fermentovaných potravín, v Európe najčastejšie syrov. Významným kom-

ponentom mykobioty mäkkých syrov zrejúcich pod mazom, syrov kamembertskeho typu a mnohých tradičných slovenských produktov vyrábaných zo surového mlieka je aj kvasinka *Geotrichum candidum*. V tomto prehľadovom článku prinášame všeobecnú charakteristiku spomínaného druhu, jeho význam v mliečnom prostredí a v neposlednom rade i jeho vplyv na zdravie človeka.

2. Taxonómia a rozmanitosť *Geotrichum candidum* Link

Skúmanie rodu *Geotrichum* je založené na objave významného druhu *Geotrichum candidum* Link¹. Prvýkrát bola táto kvasinka izolovaná z mlieka v roku 1850 Freseniusom, ktorý ju klasifikoval ako *Oidium lactis*. V roku 1880 ju Saccardo preklasifikoval ako *Oospora lactis*, až nakoniec bola umiestnená do rodu *Geotrichum*, kde dostala aj súčasný názov *G. candidum*^{2,3}.

Taxonomicky sa *G. candidum* nachádza na rozhraní medzi typickou kvasinkou a vláknitou hubou⁴. Vyše 20 rokov bol tento druh klasifikovaný ako kvasinka, neskôr bol začlenený medzi vláknité huby. V súčasnosti sa všetky druhy rodu *Geotrichum* opäť považujú za askomycétne kvasinky^{2,5-7}.

Kmene *G. candidum* sú už dlhšiu dobu predmetom skúmania, nakoľko sa vyznačujú vysokou fenotypickou premenlivosťou. Podrobnejšie znalosti genetickej rozmanitosti tejto mikromycéty slúžia k vhodnejšiemu výberu technologicky príslušných kmeňov pre syrársky priemysel⁷⁻¹¹.

Rod *Geotrichum* pozostáva z meiotických druhov dvoch rozdielnych rodov *Dipodascus* de Lagerh a *Galactomyces* Redhead and Malloch^{5,7,12}.

3. Fenotypové a genotypové metódy charakterizácie *G. candidum*

Kmene *G. candidum* sú už dlhšiu dobu predmetom skúmania, nakoľko sa vyznačujú vysokou fenotypickou premenlivosťou. Identifikácia na základe fenotypu pozostáva z posúdenia morfológických znakov ako sú tvar a veľkosť buniek, tvorba pravého mycélia, spôsob rozmnožovania (tvorba askospór) a vzhľad kolónie.

Vo všeobecnosti majú jednotlivé kmene druhu *G. candidum* fenotyp veľmi blízky k fenotypu susediaceho kmeňa, ale prvý a posledný kmeň vykazujú značne rozdielne fenotypy. Môžeme rozlíšiť dva hlavné biotypy tejto kvasinky. Prvý predstavujú kmene, ktoré tvoria krémovo sfarbené alebo maslovité kolónie kvasinkovitého vzhľadu,

Tabuľka I

Schopnosť druhu *G. candidum* rásť v kvapalnom médiu v prítomnosti jednotlivých zdrojov uhlíka, dusíka a bez prídania vitamínov⁸

Substrát	Rast	Substrát	Rast
<i>Pentózy</i>		<i>Glykozidy</i>	
D-Arabinóza	–	Salicin	–
L-Arabinóza	–	<i>Alkoholy</i>	
D-Ribóza	–	Erytritol	–
D-Xylóza	+	Metanol	–
<i>Hexózy</i>		Etanol	+
Galaktóza	+	Galaktikol	–
Glukóza	+	Glycerol	+
L-Sorbóza	+	Inozitol	–
L-Ramnóza	–	D-Manitol	+
<i>Disacharidy</i>		D-Glucitol	+
Celobióza	–	Ribitol	+/-
Laktóza	–	<i>Organické kyseliny</i>	
Maltóza	–	Citrát	+/-
Melibióza	–	D-Glukonát	–
Sacharóza	–	DL-Laktát	+
Trehalóza	–	Jantáran	+
<i>Trisacharidy</i>		<i>Zdroje dusíka</i>	
Melizitóza	–	D-Glukozaín	–
Rafinóza	–	N-acetyl-D-Glukozaín	n
<i>Polysacharidy</i>		Nitrát	–
Inulín	–	<i>Rast bez prídavku vitamínov</i>	+
Rozpustný škrob	–		

+ rastie; – nerastie; +/- variabilné medzi kmeňmi, n – žiadne dáta

produkujúce značné množstvo artrospór a vo všeobecnosti majú iba mierny rast s optimálnou teplotou medzi 22 až 25 °C a nižšiu proteolytickú aktivitu. Druhý biotyp predstavujú kmene tvoriace biele kolónie, viac alebo menej vláknité, s prevahou vegetatívnych hýf s nízkym počtom artrospór. Vykazujú silnú proteolytickú aktivitu a rýchly rast pri optimálnej teplote 25 až 30 °C (cit.^{5,13}).

Pri fenotypovej charakterizácii je veľmi dôležitá aj analýza biochemických vlastností ako skvasovanie glukózy, schopnosť asimilácie rôznych zdrojov uhlíka i dusíka a rast bez obsahu vitamínov v prostredí (tab. I). *G. candidum* rastie na rôznych zdrojoch uhlíka. Niektoré uhlíkaté substráty sú asimilované všetkými jej kmeňmi, napr. D-galaktóza, D-glukóza, L-sorbóza, D-xylóza, fruktóza, manóza a acetát, zatiaľ čo iné zdroje uhlíka sú asimilované iba vybranými kmeňmi. Sú nimi laktát, sacharóza, L-fukóza, D-arabinitol, D-ribóza, ribitol, D-manitol, D-glukonát, sukcinát, citran, 2-ketoglukonát a 5-ketoglukonát. Asimilácia sukcinátu sodného a citranu sodného je tiež rôzna v závislosti od príslušného kmeňa⁵.

Fenotypové údaje získané pri identifikácii kvasiniek sú použiteľné iba v spojení s podrobnejšími genotypovými analýzami. Zistilo sa, že druh *G. candidum* má vysoký stupeň genetickej rôznorodosti. Spoľahlivým diagnostickým systémom na identifikáciu tejto mliečnej kvasinky je spojenie spomínanej fenotypovej charakterizácie a metód DNA-fingerprintingu, ako je napr. analýza ITS1-5.8-ITS2. Pre potvrdenie výsledkov sekvenčnej analýzy je nutné použiť molekulárne techniky ako polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov (RLFP-PCR rDNA) a polymorfizmus náhodne amplifikovanej DNA (RAPD). Porovnanie génových sekvencií nám ponúka možnosť odlišiť nielen blízko príbuzné druhy, ale aj vzdialenejšie taxóny¹⁴.

4. Všeobecná charakteristika *G. candidum*

Geotrichum candidum je dôležitý mikroorganizmus v poľnohospodárskom a potravinárskom priemysle. Vyskytuje sa v rôznych prostrediach, ako sú napr. pôda, tráva,

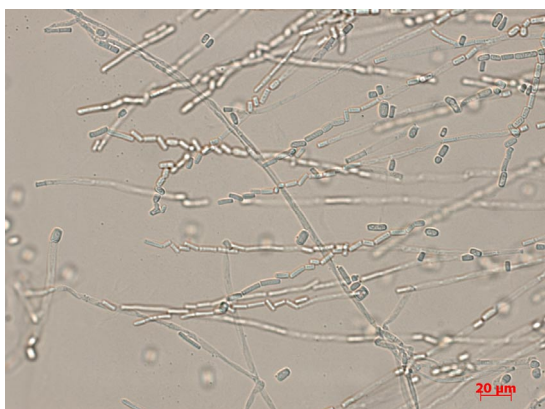


Obr. 1. Kolónie druhu *G. candidum* na GKCH agare po 48 hodinách pri teplote 30 °C

siláž, rastliny, ovocie alebo kŕmne zmesi. Táto kvasinka je zároveň komenzálny organizmus v tráviacom trakte človeka a zvierat. Taktiež je prirodzenou súčasťou mikroflóry surového mlieka, ale v pasterizovanom mlieku sa nenachádza vôbec alebo len veľmi zriedkavo^{4,15–17}.

G. candidum vytvára na sladínovom agare pri 24 °C počas 7 dní biele, hladké, často maslovité, plstnaté a zamotané kolónie s priemerom 7 cm (obr. 1). Na Czapek Dox agare s kvasničným autolyzátom tvorí kolónie s priemerom 2 až 4,5 cm. V porovnaní s kolóniami na sladínovom agare, sú tieto ploché, kožovité, s viditeľným bielym mycéliom¹⁸. Rozmnožuje sa vegetatívne dichotomickou disartikuláciou hýf na artrokonídiu¹ (obr. 2).

Rast *G. candidum* môžeme pozorovať v rozsahu od 5 do 38 °C, s optimom pri 25 °C. Dokáže rásť v širokom rozsahu pH hodnôt: od 3 až po 11, ale s optimom okolo 5,5 až 6,0. Druh *G. candidum* nevykazuje toleranciu voči



Obr. 2. Septované hýfy druhu *G. candidum* rozpadajúce sa na artrokonídie (Czapek Dox agar, 48 h, zväčšenie 40×10×1)

zníženým hodnotám aktivity vody (a_w), a teda je citlivý na obsah soli v médiu. Táto senzitivnosť je však kmeňovo závislá a líši sa najmä v intervale od 1 do 2,5 % NaCl (w/v) v médiu. Generačný čas *G. candidum* je jeden z najnižších medzi eukaryotmi, konkrétne 1,1 h pri 30 °C v kvapalnom médiu^{3,5,19}.

Zástupcovia druhu *G. candidum* neasimilujú laktózu, ale sú schopní asimilovať laktát ako zdroj uhlíka a energie^{5,11,20}. *G. candidum* nedokáže fermentovať sacharidy, ale má schopnosť niektoré z nich aeróbne metabolizovať (galaktóza, xylóza, glukóza, sorbóza) a navyše dokáže rásť v médiu bez prítomnosti vitamínov¹⁷.

Podobne ako iné mikroorganizmy, aj druh *G. candidum* využíva organický dusík buď vo forme jednoduchých substrátov, ako sú peptóny a kazeíny, alebo vo forme komplexných zlúčenín ako kvasničný extrakt⁵. Adour a spol.²¹ zhrnuli, že počas rastu *G. candidum* na médiu obsahujúcom tryptický a pankreatický kazeínový peptón dochádza k jeho spotrebe, ktorá prebieha súčasne s rastom tejto askomycetnej kvasinky. Simultánne zastavenie rastu mikromycéty spolu s vyčerpaním peptónu indikuje, že *G. candidum* využíva peptón hlavne na biosyntézu^{21,22}. Ak je do média pridaná kyselina mliečna, ktorá predstavuje druhý zdroj uhlíka, jej spotreba je významná na začiatku stacionárnej fázy, kedy je potrebná najmä na zachovanie životaschopnosti buniek^{23,24}.

Táto kvasinka dokáže rásť za mikroaerofilných podmienok. Je obzvlášť odolná voči zníženému obsahu kyslíka a zvýšenej koncentrácii oxidu uhličitého. Rast *G. candidum* klesá lineárne so znižujúcou sa koncentraciou kyslíka pod 3 %, pričom v takto ochudobnenej atmosfére dochádza k predlžovaniu hýf a úbytku postranných vetiev⁵.

5. Výskyt v potravinách

Druh *G. candidum* sa všeobecne spája s mliekom a mliečnymi výrobkami. Výskyt tejto kvasinky v potravinách nemá jednoznačný význam. Jej prítomnosť je v určitých druhoch mliečnych produktov, akými sú napríklad maslo, smotana, čerstvé syry, považovaná za nežiaducu^{16,25}. Ako súčasť kontaminačnej mikroflóry sa často vyskytuje na povrchoch technologických zariadení, odkiaľ získala aj pomenovanie „strojová pleseň“ (machine moulds). Na druhej strane je však súčasťou mikroflóry určujúcej zrenie viacerých variet syrov^{7,19}.

5.1. Negatívny význam

Mikromycéty vplyvom svojej metabolickej aktivity môžu spôsobiť narušenie, či dokonca úplné znehodnotenie potravín. Sú prirodzenými kontaminantmi surového mlieka, vody, a taktiež sa nachádzajú na náradí, ktoré sa dostáva do kontaktu s potravinami²⁶.

Zástupcovia rodu *Geotrichum* sú známi svojim rýchlym rastom na technologických zariadeniach a nástrojoch a sú dominantnou súčasťou biofilmov pri výrobe syrov.

Odumreté fragmenty ich mycélia môžu skončiť aj v konzervovaných potravinách a spôsobiť ich znehodnotenie a nemalé ekonomické straty^{18,27}.

Rod *Geotrichum* sa podieľa na kazení masla, hydiny, smotany a smotanových produktov. Ich rast na masle môže spôsobiť hydrolytické žltnutie²⁸ a v prípade čerstvých syrov ako tvaroh a cottage cheese, môže ich prítomnosť zapríčiniť vznik netypickej arómy^{5,16,19}. Premnoženie *G. candidum* na povrchu mäkkých syrov spôsobuje rozklad mliečného tuku a proteínov, čím dochádza k nežiaducej zmene senzorických vlastností a vzhľadu. Vznikajú narušenia ako sú nedostatočne pevná kôra syra, nerovnomerné pokrytie povrchu syra mycéliom a klzká kôra. Hustota mycélia na povrchu syra ovplyvňuje jeho zretie, nižšia hustota umožňuje lepšie prúdenie vzduchu cez povrchovú vrstvu syra^{5,11,25}.

Kontaminácia „syrov s plesňou v ceste“ (roquefort, niva) mikromycétou *G. candidum* môže viesť k inhibícií sporulácie a rastu *Penicillium roqueforti*, a týmto spôsobom dokáže významne ovplyvniť kvalitu týchto syrov^{29,30}. V syroch kamembertskeho typu (s „plesňou na povrchu“) môže táto mikromycéta spôsobiť netypické vlastnosti, tzv. ropušiu kôru (z angl. toad skin). Kombinácia prídavku nízkej koncentrácie soli a nedostatočného sušenia zapríčiňuje intenzívny rast *G. candidum* a zároveň spomalenie povrchového rastu charakteristickej kultúry týchto syrov *P. camemberti*³¹.

Druh *G. candidum*, tak ako aj kvasinky a iné vláknité huby, je devitalizovaný pasterizáciou. Prítomnosť tohto druhu v pasterizovaných výrobkoch je zapríčinená opätovnou kontamináciou produktu počas výroby a možno ju považovať za rekontamináciu. Z tohto dôvodu *G. candidum* môže slúžiť ako indikátor nedostatočnej sanitácie počas prípravy, uskladnenia a prepravy potravín^{5,32}.

Táto saprofytická kvasinka spôsobuje kazenie ovocia, ovocných džúsov, mrazenej listovej zeleniny a chladených zákuskov. Náchylnými na poškodenie sú rajčiny, uhorky, cibuľa, hrach a zemiaky. Je významným kontaminantom citrusového ovocia a počas uskladnenia spôsobuje jeho hnitie^{3,33}.

5.2. Pozitívny význam

Kvasinka *G. candidum* sa využíva v potravinárskom priemysle i v pozitívnom slova zmysle, na zlepšenie akosti niektorých mliečnych výrobkov. Kultúrne kmene *G. candidum* majú významné postavenie v mliekarskom priemysle najmä pri výrobe syrov v procese ich zrenia, kde sa používajú ako prídavná kultúra do kravských polotvrdých (napr. St. Nectaire, Reblochon) a mäkkých syrov zrejúcich s plesňou na povrchu (napr. encián, plesnivec) a pod mazom (napr. Münster, Livarot). Taktiež sa využívajú aj pri výrobe ovčích a kozích syrov (bryndza, ovčí a kozí hrudkový syr). Uvoľňovanie amoniaku a utilizácia kyseliny mliečnej touto kvasinkou spôsobuje zvýšenie pH hodnoty syrov, čo následne umožňuje menej acidotolerantným mikroorganizmom, ako sú mikrokoky a koryneformné baktérie, rásť^{19,25,34–36}.

Okrem syrov je táto kvasinka používaná aj pri výrobe fínskeho fermentovaného mlieka Viili. Toto kyslé mlieko sa vyrába z nehomogenizovaného mlieka. Práve *G. candidum* vytvára na povrchu vystúpenej smotany vrstvu mycélia. Viili má lahodnú chuť, jemný charakter a vďaka slizovitej štruktúre je obľúbené najmä vo Fínsku. Súčasťou mikroflóry tohto fermentovaného produktu, spolu s kmeňmi *G. candidum*, sú aj mezofilné kultúry laktokokov a kmene *Leuconostoc*^{37,38}.

G. candidum sa používa aj počas sladovníckeho procesu na potlačenie vývoja nežiaducej mikrobioty a na zvýšenie enzýmového potenciálu sladiny, čím sa zlepši kvalita piva. Dokáže konkurečne vylúčiť aj rast iných vláknitých húb, a tým nepriamo inhibuje aj produkciu mykotoxínov. Táto mikromycéta je tiež schopná odbúravať zvyšky pesticídov (napr. lindánu) z prostredia^{4,39}. Taktiež sa zúčastňuje fermentácie kakaových bôbov, kde sa podieľa na dosiahnutí charakteristickej kakaovej arómy⁴⁰.

6. Metabolická aktivita *G. candidum* v syroch

Nakoľko sa druh *G. candidum* prirodzene nachádza v surovom mlieku, jeho výskyt vo výrobkoch zo surového mlieka nie je prekvapivý. Tento druh bol objavený v syroch bez ohľadu na druh použitého mlieka, v kravských, ovčích i kozích syroch^{19,25}. Bolo zistené, že celkový počet *G. candidum* v syrenine nepresahuje 10^6 KTJ g⁻¹, a to vďaka schopnosti tejto mikromycéty vytvárať mycélium s dlhými hýfami³⁶.

Prítomnosť tejto kvasinky je žiaduca na povrchu miazových mäkkých syrov, syrov zrejúcich s kultúrnou plesňou a polotvrdých syrov, kde začína rásť na povrchu kôry. Biochemické vlastnosti *G. candidum* ovplyvňujú priebeh a kvalitu dozrievania týchto syrov. Rast jednotlivých kmeňov v syroch kamembertskeho typu je rýchly najmä počas prvého týždňa, potom sa ich počet už nezvyšuje. Táto kvasinka sa využíva aj počas zrenia syrov ako sú Camembert, Brie, Pont l'Évêque, Armada, Limburger, Münster, Livarot a polotvrdých syrov Reblochon a Saint Nectaire. Ak kmene *G. candidum* kolonizujú povrch syrov, sú zodpovedné za zloženie, súdržnosť a hrúbku ich kôry, a zároveň dodávajú syrom rovnomerný biely zamatový povlak^{15,28,41,42}.

Dominantné postavenie má *G. candidum* aj v slovenskom tradičnom syre, bryndzi, ktorá zraje v dvoch fázach. Počas prvej fázy, primárneho zrenia, baktérie mliečného kysnutia fermentujú laktózu na kyselinu mliečnu a sekundárne metabolity, ktoré sa zúčastňujú na tvorbe arómy a chuti bryndze. Táto kvasinka sa spolu s proteolytickými enzýmami syridla a baktérií mliečného kysnutia zúčastňuje na sekundárnom zrení. Počas tejto fázy *G. candidum* rastie najmä na povrchu hrudky, kde v prítomnosti vzdušného kyslíka rozkladá mliečnany, štiepi mliečny tuk a proteíny^{32,37}.

Svojou biochemickou aktivitou taktiež prispieva k rozvoju textúry, chuti, arómy a bezpečnosti syrov tým, že v priebehu procesu zrenia vytvára rôzne aromatické a bioaktívne metabolity^{17,43}. Kultúrne kmene *G. candidum*

produkujú estery a rôzne sírne zlúčeniny (*S*-metyl-tioacetát, *S*-metyl-tiobutyát, *S*-metyl-tiopropionát, dimetyl-sulfid, dimetyltrisulfid), ktoré prispievajú k vzniku typickej arómy a celkovým kvalitatívnym parametrom syrov^{5,7}. Navyše produkuje dve antimikrobiálne zlúčeniny, kyselinu D-3-fenylmliječnu a kyselinu DL-3-indolctovú, ktoré dokážu špecificky zamedziť rastu *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* a *Escherichia coli* O157:H7 (cit.^{44,45}). Okrem vyššie spomínaných látok tento bioprotektívny mikroorganizmus vytvára aj kyselinu hydroxyfenylmliječnu, ktorá vykazuje inhibičnú aktivitu proti mnohým mikromycétam, zahŕňajúc aj niektoré toxické druhy *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti* a *P. citrinum*⁴⁵. Určité kmene *G. candidum* sú schopné inhibovať rast a sporuláciu *Mucor* sp.^{5,9}

Kmene *G. candidum* sa značne líšia vo svojich biochemických vlastnostiach. Práve z tohto dôvodu je pri výrobe syrov dôležité vyselektovať kmeň, ktorý najvhodnejšie ovplyvní arómu a chuť mliečnych produktov. Spomedzi kvasiniek druh *G. candidum* je jedným z mála, ktorý nevytvára príliš výraznú kvasinkovú arómu. Prispieva k typickej voni syrov ako Brie a tradičný kamembert. Navyše, pôsobením diacetylreduktázy znižuje tvorbu diacetyl, čo je pri výrobe týchto druhov, žiaduce⁵.

Výsledné zloženie, štruktúra, chuť a vôňa syra sú ovplyvnené biochemickými a mikrobiologickými zmenami počas ich zrenia. K najdôležitejším biochemickým reakciám, ktoré premieňajú alebo rozkladajú určité zlúčeniny, patrí glykolyza, proteolýza a lipolýza. *G. candidum* produkuje viacero enzýmov rozkladajúcich bielkoviny a lipidy, čím sa vytvárajú zložky prispievajúce k vývoju typickej arómy a vzhľadu syra¹⁷.

6.1. Proteolytická aktivita

Vo všeobecnosti platí, že proteolytické enzýmy *G. candidum* sú kmeňovo závislé a ich aktivita je prevažne nízka. Avšak *G. candidum* dokáže uvoľňovať aminokyseliny z kazeínu a podieľať sa na hydrolýze peptidov na nižšie degradačné produkty¹⁷. Proteolytická aktivita tejto mikromycéty nie je obmedzená na α_s -frakciu kazeínu, dokáže hydrolyzovať aj β -kazeín^{5,41}.

G. candidum produkuje vnútrobunkový, neutrálny, proteolytický enzým serínového typu so špecifitou podobnou chymotrypsínu. Extracelulárna proteolytická aktivita tejto kvasinky je nízka v porovnaní s jej vnútrobunkovým systémom. Zároveň je tento systém termolabilnejší a rýchlejšie sa inaktivuje pri pH 4 (cit.^{5,46}).

Jedným z mikroorganizmov, ktoré počas proteolýzy rozkladajú najprv veľké peptidy a až následne peptidy strednej veľkosti, patrí aj *G. candidum*, pričom produktami degradácie sú voľné aminokyseliny, ktoré zlepšujú senzorycké vlastnosti syra. Pri výrobe syrov kamembertskeho typu sa zistilo, že *G. candidum* značne znižuje horkosť týchto syrov rozkladom horkých peptidov prostredníctvom svojej aminopeptidázovej aktivity^{13,41,46,47}.

6.2. Lipolytická aktivita

Lipázy (glycerolesterhydrolázy) katalyzujú hydrolýzu esterovej väzby lipidov, čím sa uvoľňuje príslušný alkohol a masťná kyselina^{48–50}. Voľné masťné kyseliny sú uvoľňované z triacylglycerolov za vzniku diacylglycerolov, monoacylglycerolov a glycerolu^{43,48,51}. Lipázy dokážu katalyzovať nielen hydrolýzu, ale aj spätnú reakciu glycerolu a masťnej kyseliny za vzniku glyceridov^{48,51}. Vzniknuté voľné masťné kyseliny sú prekurzormi molekúl, napr. metylketónov, laktónov, esterov a sekundárnych alkoholov, ktoré prispievajú k tvorbe typickej arómy a chuti syrov⁴³.

Lipázy produkované *G. candidum* patria ku skupine veľkých lipáz (približne 60 kDa) s významnou aminokyselinovou podobnosťou na mnohé acetylcholinesterázy. Rozsah glykozylácie, aminokyselinová sekvencia a substrátová špecifita závisia od použitého kmeňa a od použitej kultúry^{5,49}. Táto kvasinka produkuje dva typy lipáz, extracelulárnu a intracelulárnu^{50–52}. Ich aktivita bola potvrdená len v nerozpustnom podiele, v bunkových stenách a membránach. V supernatante sa nepozorovala žiadna lipázová aktivita⁵². Stránský a spol.⁴⁹ izolovali dve lipázové izoformy (A a B) z kmeňa CMICC 335426 *G. candidum*. Lipáza B, v porovnaní s lipázou A, vykazovala významnejšiu špecifitu k nenasýteným masťným kyselinám. Optimálne pH lipáz produkovaných *G. candidum* je 5,5 až 7,5 a najvyššiu aktivitu lipázy dosahujú bunky počas stacionárnej fázy^{5,50,52}.

Extracelulárna lipáza *G. candidum* prednostne hydrolyzuje estery masťných kyselín s *cis*-9 dvojistou väzbou^{48,53}. Táto aktivita bola pozorovaná, ak sa ako substráty použili triacylglyceroly so stredným (C12) a dlhým (C18) reťazcom masťných kyselín. Vnútrobunková lipáza prednostne hydrolyzuje trimyristát (C14)⁵¹.

Produkty hydrolýzy vznikajúce pôsobením lipáz tejto mikromycéty sú prekurzormi mnohých prchavých zlúčenín ako napr. alkoholov, masťných kyselín, metylketónov, laktónov a esterov. Konečnou oxidáciou masťných kyselín vznikajú metylketóny, ktoré sú kvantitatívne aj kvalitatívne úzko späté s intenzitou arómy. V syroch zrejúcich s kultúrnou plesňou na povrchu je *G. candidum* jedným z najdôležitejších mikroorganizmov zúčastňujúcich sa pri tvorbe týchto zlúčenín. Majoritnými metylketónmi sú nonán-2-ón, ktorý spôsobuje ovocnú, pikantnú, maslovo zemitú arómu a heptán-2-ón dodávajúci kamembertskeým syrom ovocno ketónovú vôňu rokfortských syrov. Okrem spomínaných dvoch zlúčenín táto mikromycéta produkuje aj pentán-2-ón (sladko ovocná a ketónová vôňa), undekán-2-ón (kvetinová a bylinková aróma) a pentán-3-ón (ketónová vôňa s ľahko ovocným nádychom)⁵. Z alkoholov *G. candidum* vytvára aj fenyletylalkohol, ktorý dodáva mäkkým syrom arómu v kvetinovo ružových tónoch⁴⁵.

7. *G. candidum* a zdravie

G. candidum je bežný saprofyt, ale pri priamom kontakte môže pôsobiť aj ako oportunistický patogén. Pre ľudí s oslabenou imunitou alebo trpiacich určitou chronickou chorobou predstavuje potenciálne riziko⁵⁴.

G. candidum je súčasť dermálnej a črevnej mikroflóry. U zdravých pacientov je táto kvasinka prakticky klinicky nevýznamná, avšak u imunokompromitovaných osôb (onkologických pacientov, jednotlivcov trpiacich HIV, diabetom, tuberkulózou alebo inými chronickými infekciami) môžu určité kmene spôsobiť pľúcne, kožné, orálne a systémové infekcie^{7,55–57}.

Na potvrdenie geotrichových infekcií je nutná biopsia tkaniva a následné mikroskopické potvrdenie. Na liečbu sa používajú rôzne typy antifungicídnych prípravkov a antimykotík, najčastejšie sú to jodidy, nystatín a azolové liečivá ako izokonazol, itrakonazol, flukonazol a klotrimazol. Na ošetrenie hlbokých lézií sa používa amfotericín B. S ohľadom na počet týchto zriedkavých ochorení za rok a v porovnaní so značným výskytom druhu *G. candidum*, jeho technologickým využitím a prítomnosťou v mliečnych výrobkoch môžeme usúdiť, že riziko je takmer nulové^{7,54}. Pri tomto druhu doposiaľ nie je známa produkcia akýchkoľvek mykotoxínov¹⁸.

8. Záver

Druh *Geotrichum candidum* je kvasinka, ktorá môže spôsobovať znehodnocovanie potravín. Podieľa sa napríklad na kazení ovocia, zeleniny, ovocných džúsov, ale jej prítomnosť je nežiaduca aj v masle, smotane či čerstvých syroch. Na druhej strane je *G. candidum* prirodzenou súčasťou mykobioty niektorých druhov syrov. Bežne sa používa ako prídavná kultúra v procese zrenia do kravských polotvrdých (St. Nectaire, Reblochon) a mäkkých syrov (syry s plesňou na povrchu, syry zrejúce pod mazom). Kvasinka *G. candidum* je taktiež žiaduca aj v ovčích (bryndza) a kozích syroch, kde prispieva k rozvoju charakteristickej textúry, chuti a výraznej arómy. Navyše táto bioprotektívna kvasinka produkuje antimikrobiálne zlúčeniny (kyselinu fenylnliečnu, indolctovú, hydroxyfenylmliečnu), ktoré sú schopné inhibovať rast vybraných potenciálne patogénnych ako aj patogénnych mikroorganizmov.

LITERATÚRA

- Kocková-Kratochvílová A.: *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. Alfa, Bratislava 1990.
- Wouters J. T. M., Ayad E. H. E., Hugenholtz J., Smit G.: *Int. Dairy J.* 12, 91 (2002).
- Hudecová A., Valík L., Liptáková D.: *Czech J. Food Sci.* 27, 18 (2009).
- Gente S., Sohier D., Coton E., Duhamel C., Gueguen M.: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33, 1019 (2006).
- Boutrou R., Guéguen M.: *Int. J. Food Microbiol.* 102, 1 (2005).
- De Hoog G. S., Smith M. T.: *Stud. Mycol.* 50, 489 (2004).
- Pottier I., Gente S., Vernoux J. P., Guéguen M.: *Int. J. Food Microbiol.* 126, 327 (2008).
- De Hoog G. S., Guarro J., Gené J., Figueras M. J.: *Atlas of Clinical Fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2014.
- Alper I., Frenette M., Labrie S.: *Fungal Biol.* 115, 1259 (2011).
- Gente S., Desmasures N., Jacopin C., Plessis G., Belliard M., Panoff J. M., Guéguen M.: *Int. J. Food Microbiol.* 76, 127 (2002).
- Marcellino N., Beuvier E., Grappin R., Guéguen M., Benson D. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4752 (2001).
- Sulo P., Laurenčík M., Poláková S., Minárik G., Sláviková E.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 2370 (2009).
- Fröhlich-Wyder M.-T., v knihe: *Yeasts in Food*. (Boekhout, T., Robert, V., ed.), Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, Abington 2003.
- Sacristán N., Mayo B., Fernández E., Fresno J. M., Tornadijo M. E., Castro J. M.: *Food Microbiol.* 36, 481 (2013).
- Adour L., Bude F., Abdeltif A.: *Electron. J. Biotechnol.* 13, 1 (2010).
- Laurenčík M., Sulo P., Sláviková E., Piecková E., Seman M., Ebringer L.: *Int. J. Food Microbiol.* 127, 176 (2008).
- Sacristán N., González L., Castro J. M., Fresno J. M., Tornadijo M. E.: *Food Microbiol.* 30, 260 (2012).
- Pitt J. I., Hocking A. D.: *Fungi and Food Spoilage*. Springer Science+Business Media, New York 2009.
- Koňuchová M., Šípková A., Valík L.: *Celostátní přehledy sýrů 2014, Praha, 22.-23. leden 2014: Výsledky přehledu a sborník příspěvků konference Mléko a sýry*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 61 (2014).
- Hudecová A., Valík L., Liptáková D.: *Acta Chim. Slov.* 2, 75 (2009).
- Adour L., Couriol C., Amrane A.: *Food Technol. Biotechnol.* 43, 85 (2005).
- Aldarf M., Amrane A., Prigent Y.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58, 823 (2002).
- Adour L., Couriol C., Amrane A., Prigent Y.: *Enzyme Microb. Technol.* 31, 533 (2002).
- Aziza M., Adour L., Amrane A.: *J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 124 (2008).
- Hudecová A., Valík L., Liptáková D.: *Potravinářstvo* 5, 17 (2011).
- Wyder M. T., Bachmann H. P., Puhán Z.: *LWT - Food Sci. Technol.* 32, 333 (1999).
- Mariani C., Oulahal N., Chamba J. F., Dubois-Brissonnet F., Notz E., Briandet R.: *Food Control.* 22, 1357 (2011).
- Kornacki J. L., Flowers R. S., Bradley R. L., v knihe:

- Applied Dairy Microbiology* (Marth E. H., Steele J. L., ed.), 2. vyd., kap. 5, CRC Press, New-York 2001.
29. Decker M., Nielsen P. V.: *Int. J. Food Microbiol.* 104, 51 (2005).
 30. Tempel T., Nielsen M. S.: *Int. J. Food Microbiol.* 57, 193 (2000).
 31. Gripon J. C., v knihe: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. (Fox P. F., ed.), 2. vyd., kap. 4, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg 1999.
 32. Görner F., Valík L.: *Aplikovaná mikrobiológia požívateľín*. Malé centrum, Bratislava 2004.
 33. Talibi I., Askarne L., Boubaker H., Boudyach E. H., Msanda F., Saadi B., Ait Ben Aoumar A.: *Lett. Appl. Microbiol.* 55, 155 (2012).
 34. Arfi K., Landaud S., Bonnarne P.: *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 2155 (2006).
 35. Šaková N., Sádecká J., Lejková J., Puškárová A., Koreňová J., Kolek E., Valík L., Kuchta T., Pangallo D.: *J. Food Nutr. Res.* 54, 239 (2015).
 36. Lessard M. H., Bélanger G., St-Gelais D., Labrie S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 1813 (2012).
 37. Wyder M.-T., Puhán Z.: *Int. Dairy J.* 9, 117 (1999).
 38. Hudecová A., Valík L., Liptáková D.: *Potravinárstvo* 4, 387 (2010).
 39. Wu J., Li M., Liu L., An Q., Zhang J., Zhang J., Li M., Duan W., Liu D., Li Z., Luo C.: *Inflammation* 36, 1 (2013).
 40. Hattingh M., Alexander A., Meijering I., van Reenen C.A., Dicks L. M. T.: *Int. J. Food Microbiol.* 173, 36 (2014).
 41. Botha A., v knihe: *Encyclopedia of Food Microbiology* (Robinson R. K., ed.), Academic Press, London 2000.
 42. Boutrou R., Kerriou L., Gassi J.-Y.: *Int. Dairy J.* 16, 775 (2006).
 43. Pinotti T., Carvalho P. M. B., Garcia K. M. G., Silva T. R., Hagler A. N., Leite S. G. F.: *Braz. J. Microbiol.* 37, 494 (2006).
 44. Collins Y. F., McSweeney P. L. H., Wilkinson M. G.: *Int. Dairy J.* 13, 841 (2003).
 45. Dieuleveux V., van der Pyl D., Chataud J., Gueguen M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 800 (1998).
 46. Naz S., Gueguen-Minerbe M., Cretenet M., Vernoux J. P.: *FEMS Microbiol. Lett.* 344, 39 (2013).
 47. Boutrou R., Aziza M., Amrane A.: *Enzyme Microb. Technol.* 39, 325 (2006).
 48. Medved'ová A., Liptáková D., Hudecová A., Valík L.: *Acta Chim. Slov.* 1, 192 (2008).
 49. Burkert J. F. M., Maugeri F., Rodrigues M. I.: *Biore-sour. Technol.* 91, 77 (2004).
 50. Stránský K., Zarevúcka M., Kejík Z., Wimmer Z., Macková M., Demnerová K.: *Biochem. Eng. J.* 34, 209 (2007).
 51. Zarevúcka M., Kejík Z., Šaman D., Wimmer Z., Demnerová K.: *Enzyme Microb. Technol.* 37, 481 (2005).
 52. Brabcová J., Zarevúcka M., Macková M.: *Yeast* 27, 1029 (2010).
 53. Hlavsová K., Zarevúcka M., Wimmer Z., Macková M., Sovová H.: *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 61, 188 (2009).
 54. Loo J. L., Lai O. M., Long K., Ghazali H. M.: *Malays. J. Microbiol.* 2, 22 (2006).
 55. Vázquez-González D., Perusquia-Ortiz A. M., Hundeliker M., Bonifaz A.: *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 11, 381 (2013).
 56. Bonifaz A., Vázquez-González D., Macías B., Paredes-Farrera F., Hernández M. A., Araiza J., Ponce R. M.: *J. Oral Sci.* 52, 477 (2010).
 57. Mahendra P., Sejra S., Sejra A., Tesfaye S.: *Int. J. Livest. Res.* 3, 38 (2013).
 58. Lisalová M.: *Lexikón lekárskej mykológie*. HPL Servis spol. s r.o., Bratislava 2014.

M. Koňuchová, D. Liptáková, A. Šípková, and E. Valík (*Department of Nutrition and Food Quality Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava*): **Role of *Geotrichum candidum* in Dairy Industry**

Geotrichum species are widely distributed in nature. They are commonly found in the environment, in food-stuffs and as part of the natural human flora. The best known representative, *Geotrichum candidum*, is a common part of dairy products mycobiota and plays an important role in the ripening of cheese. On the other hand, this saprophytic yeast also causes food spoilage and there also exists a risk of developing an infection due to *G. candidum*. However, its ubiquitous character contrasts with the rarity of infection cases.