

УДК 579.2

БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *PENICILLIUM*
***ROQUEFORTI* И *GEOTRICHUM CANDIDUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ**
БЛАГОРОДНЫХ СЫРОВ

Захаров Д.А.

инженер,

*Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук,
Москва, Россия*

Аннотация

Сыры с благородной плесенью занимают особую нишу среди ферментированных молочных продуктов, именно микромицеты формируют их характерный ароматно-вкусовой профиль, текстуру и внешний вид — от белой бархатистой корочки камамбера и бри до голубых прожилок рокфора и стилтона. При этом российское производство подобных сыров ограничено, что делает изучение производственных штаммов и условий их культивирования практически значимым направлением для отечественной молочной отрасли. В представленной работе фокус сделан на двух технологически ключевых видах: *Penicillium roqueforti* (голубые сыры) и *Geotrichum candidum* (первичный колонизатор поверхности, определяющий раннюю декарбонизацию и подготовку рельефа коагулята к дальнейшему росту плесени). **Ключевые слова:** сыры с благородной плесенью, голубые сыры, *Penicillium roqueforti*, *Geotrichum candidum*, протеолитическая активность, каталазная активность.

BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF *PENICILLIUM ROQUEFORTI* AND
GEOTRICHUM CANDIDUM ISOLATED FROM MOLD-RIPENED CHEESES

Zakharov D.A.

Engineer,

*Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia*

Abstract

Mold-ripened cheeses occupy a distinct niche among fermented dairy products; it is the micromycetes (filamentous molds) that shape their characteristic aroma–flavor profile, texture, and appearance—from the white, velvety rinds of Camembert and Brie to the blue veining of Roquefort and Stilton. At the same time, Russian production of such cheeses remains limited, which makes the study of production strains and their cultivation conditions a practically significant area for the domestic dairy industry. The present work focuses on two technologically key species: *Penicillium roqueforti* (blue cheeses) and *Geotrichum candidum* (the primary surface colonizer that drives early deacidification and prepares the curd microtopography for subsequent mold growth).

Keywords: mold-ripened cheeses (noble mold), blue cheeses, *Penicillium roqueforti*, *Geotrichum candidum*, proteolytic activity, catalase activity.

Микробное сообщество сыров многокомпонентно: помимо первичной микробиоты (заквасочные молочнокислые бактерии) существенную роль играет вторичная — солеустойчивые бактерии, дрожжи и нитчатые грибы, — именно она вносит основной вклад в созревание, протеолиз, липолиз и формирование органолептики. По данным обзора, виды *Penicillium* фиксируются в 63 % исследованных сыров, *Mucor* — в 27 %, а *G. candidum* — в 17 %. На ряде сыров доминирование отдельных видов подтверждено молекулярными методами (PCR-DGGE, T-RFLP), в том числе на примере голубого кабралеса и поверхностно созревающих камамбер и бри. Используемые методы позволяли отслеживать не только состав, но и динамику сообществ, что принципиально для технологического контроля созревания [5, 8]. В данной работе рассматриваются два сыра (ДорБлю и Камамбер) и их основные

грибковые ферментеры: *Penicillium roqueforti* и *Geotrichum candidum*. Функциональная роль микромицетов двух типов сыров различается. В поверхностно созревающих сырах плесень колонизирует корку и колонизируется снаружи внутрь: продукты метаболизма нейтрализуют кислую поверхность коагулята, активируют протеолиз и липолиз, за счет чего сыр созревает от корки к центру. В голубых сырах *P. roqueforti* развивается в глубине субстрата, куда споры вносят послойно при формовании сырной массы с последующей аэрацией (проколы), создавая условия для интенсивного внутриматриксного липо- и протеолиза. Таким образом, топография роста определяет и профиль ферментативной активности, и пространственно-временную картину созревания[4, 6].

Penicillium roqueforti — космополитичный сапротроф семейства *Trichocomaceae*, чья технологическая ценность сочетается с комплексной вторичной метаболической активностью. Штамм-специфическая продукция метаболитов (например, PR-токсина и его менее токсичного производного PR-имина, а также андрастинов А–D и рокефортина) отмечена в литературе, но технологические режимы сыроделия и свойства матрицы сыра существенно ограничивают их накопление, при этом именно *P. roqueforti* отвечает за формирование метилкетонов, спиртов и эфиров, придающих голубым сырам характерный вкус[2, 3].

Geotrichum candidum — кислотоустойчивый дрожжеподобный гриб, который обычно первым колонизирует поверхность сыров с мытой или белой коркой, быстро утилизирует лактат и способствует раннему снижению кислотности на поверхности. Это создает окно для последующей колонизации *Penicillium camemberti*. и задает траекторию вкусо-ароматического развития. Штаммы *G. candidum* различаются по протеолитической активности, у него также выраженная липазная система (липазы А и В; последняя селективна к длинноцепочечным ненасыщенным кислотам), что связывают, например, с высоким уровнем свободной олеиновой кислоты в камамбере. Вид чувствителен

к повышенной ионной силе, при $\text{NaCl} > 5\%$ рост резко замедляется, что используют как технологический рычаг для регулирования соотношений поверхностной микробиоты[9].

Технологические схемы подчеркивают принципиальные различия в управлении процессами. Для камамбера применяют высокотемпературную пастеризацию, повышенные дозы заквасок, формование без второго нагревания и поверхностную инокуляцию *P. camemberti*, после чего сыр созревает при 13–15 °C и 88–92 % влажности, от корки к центру. Для рокфора типична послойная инокуляция порошком спор *P. roqueforti* при формовании, затем — интенсивная аэрация (проколы), длительная выдержка при 6–8 °C и высокой влажности, что обеспечивает развитие прожилок и острого вкуса. Учет влажности, засоленности и температурных допусков важен не только для сенсорики, но и для биобезопасности, поскольку ограничивает нежелательную микробиоту и вторичные метаболиты [10, 13].

С научно-прикладной точки зрения, актуальность темы состоит в необходимости сопряженной оценки кинетики роста целевых культур на стандартных питательных средах и их ключевых ферментативных активностей, определяющих созревание и органолептический профиль. Практическая часть настоящей работы как раз направлена на определение радиальной скорости роста на среде Чапека, а также на оценку амилолитической, протеолитической и каталазной активности выделенных культур *P. roqueforti* и *G. candidum*. Полученные данные позволят уточнить параметры старта культур, условия их технологической экспозиции и потенциальную селекцию штаммов под целевые профили сыров.

Материалы и методы

Грибковые штаммы *Penicillium spp.* и *Geotrichum spp.* были выделены из образцов благородных сыров Дор Блю (Champignon, Россия) и Камамбер (Montarell, Россия) приобретенных в местной торговой сети. Для выделения культур грибов, содержащихся в сырах, использовался метод прямого посева.

Для культивирования выделенных грибов использовали полусинтетическую среду с нитратом натрия (среда Чапека, ООО «Фармактив», Украина). Засеянные чашки инкубировали в термостате (ТВ-80-1, Россия) в течении 4 дней при температуре 24 °С. Идентификацию грибов проводили с использованием оптического микроскопа и определителя[11].

В данном исследовании определялась радиальная скорость роста *Penicillium spp.* и *Geotrichum spp.* на выбранных питательных средах : Мясо-пептонный агар (МПА) , МПА с казеином, МПА с добавлением крахмалом и Среде Чапека, по данной методике[1].

Для среды с казеином использовали следующий протокол: в готовую стерильную среду добавлялось 100мл молока на 1л среды. Молоко дополнительно пастеризовалось в сухожаре при 80 С° в течении 2 часов. Среdu с крахмалом, готовилась следующим образом: в готовую для разлития по чашкам среду добавлялось х/ч картофельного крахмала, до получения 1% его содержания в питательной среде.

Для определения протеолитической активности использовали качественную реакцию на способность культуры к гидролизу казеина. Если культура, растущая на среде с казеином, вырабатывает фермент казеиназу, то при добавлении соляной кислоты будет наблюдаться просветление среды вокруг колоний. Для данного опыта грибы культивировались на среде МПА в течении 5 дней при температуре 24 °С. Для реакции использовали 10 %-ный раствор соляной кислоты.

Для определения каталазной активности использовали качественную реакцию. На предметное стекло наносили каплю 1-3% раствора пероксида водорода и вносили в нее петлю с исследуемой культурой. Каталаза разлагает пероксид водорода на кислород и воду. Выделение кислорода свидетельствует о наличии у данного вида фермента каталазы.

Результаты исследования

Выделенные грибные штаммы были проанализированы с помощью оптического микроскопа для определения их морфологии (рис .1) и идентификации. С каждой выросшей колонии был сделан препарат для микроскопирования в прижизненном состоянии и окрашен метиленовым синим для лучшего контраста.

При оценке культуральных свойств выросших колоний выявлено, что образец, высеянный с сыра камамбер, представлял собой колонии ризоидной формы, белого цвета, размер крупный; край колонии нитчатый, рельеф колонии бугорчатый в середине, структура колонии однородная, консистенция колонии маслянистая. Гифы образца раздвоены, артоспоры имеют цилиндрическую форму, перегородки перфорированы микроспорами.

При оценке культуральных свойств выросших колоний оказалось, что образец, высеянный с сыра Дор Блю, голубого цвета, размер: крупный рельеф колонии врастающий в субстрат, структура колонии однородная, консистенция колонии маслянистая. Строение кисточки образца, следующее – конидиеносцы разветвленные, веточек несколько, одноярусные кисточки. Конидии одноклеточные, округлые, прозрачные (светлоокрашенные), образуют компактные колонки или кисти

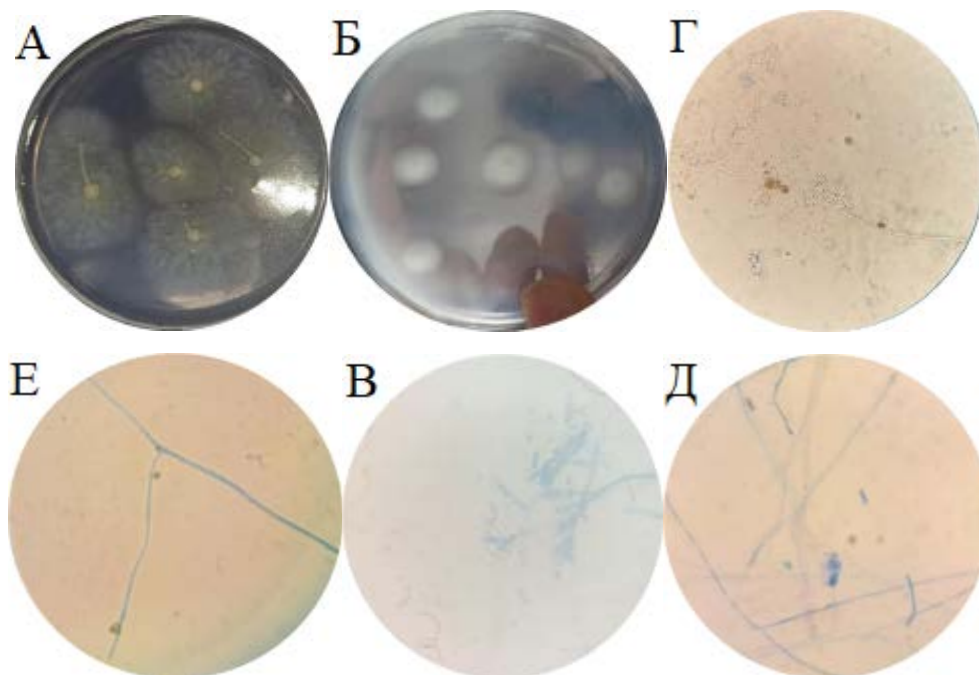


Рисунок 1 – Чашка Петри с воздушным мицелием выделенных грибов и их прижизненные препараты. А: Фотографии воздушного мицелия *Penicillium spp.* Выделенного из сыра Дор-Блю. Б: Фотографии воздушного мицелия *Geotrichum spp.* Выделенного из сыра Дор-Блю. В-Г: Препарат «раздавленная капля» из *Penicillium spp.* окрашенный метиленовым синим и без окраски. Д-Е: Препарат «раздавленная капля» с *Geotrichum spp.* окрашенным метиленовым синим. *Авторские фото

На основе анализа культуральных свойств выделенных штаммов грибов, определялось их видовая принадлежность. Выделенное грибное сообщество из сыра Дор-блю принадлежит к *Penicillium roqueforti*, из сыра Камамбера к *Geotrichum candidum*.

Полученные идентифицированные штаммы грибов высевались на четыре питательные среды: МПА, МПА+казеин, МПА+крахмал, среда Чапека. На протяжении 4 дней измерялся диаметр отдельных колонии для вычисления радиальной скорости роста (таблица 1).

Таблица 1 Результаты скорости роста *Penicillium roqueforti* и *Geotrichum candidum* на средах с добавлением казеина и крахмала.

Культура	Среды	Диаметр колоний, мм				
		День измерения				Радиальная скорость роста, мм
		1	2	3	4	
<i>Geotrichum candidum</i>	Чашека	0	11,2±1,2	20,5±2,5	30,0±5	9,6
	МПА	0	7,2±0,7	14,4±1,7	22,5±1,2	7,7
	МПА + казеин	0	8,7±0,3	20,2±1,3	27,5±2	8,5
	МПА + крахмал	0	8,2±0,7	17,0±1,5	21,0±1,5	5,7
<i>Penicillium roqueforti</i>	Чашека	0	7,5±1,7	13,2±1,2	21,7±1,7	7,6
	МПА	0	7,7±0,8	12,5±1,0	20,2±0,5	6,5
	МПА + казеин	0	8,2±1,0	13,2±1,1	21±0,4	6,7
	МПА + крахмал	0	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д

На протяжении 4-х дней, грибы *Penicillium roqueforti* и *Geotrichum candidum* на среде Чашека являлись наиболее быстрорастущими (9,6мм и 7,6мм). Мясо-пептонный агар (МПА) нецелесообразен для культивирования грибов, хотя рост и развитие микромицетов на нем возможен (7,7мм и 6,5мм). При добавлении в среду МПА 1,5% молока достоверно повышается скорость роста *Geotrichum candidum* (на 15%), но никак не изменяется у *Penicillium roqueforti*. Однако, при добавлении в среду картофельного агара, рост *Penicillium roqueforti* полностью прекращается, а рост *Geotrichum candidum* замедляется на 10-12%. Что подтверждается другими исследованиям [12]

В Таблице 2 содержатся данные о некоторых биохимических характеристик изучаемых видов. По результатам протеолитической и каталазной активности, у *Penicillium roqueforti* активная секреция протеаз, участвующих в распаде казеинов при созревании голубых сыров и также присутствует каталаза, но выраженность зависит от происхождения штамма и условий культивирования [7]. У *Geotrichum candidum*, наличие протеолиза существенно усиливает распад казеинов на поверхности Камамбер-подобных сыров, растут уровни пептидов и аминокислот на корке. У выделенного вида практически отсутствует активность каталазы, вспенивание не наблюдалось в качественной реакции

Таблица 2 – Протеолитическая и каталазная активность у выделенных *Geotrichum candidum* и *Penicillium roqueforti*

Характеристика	<i>Penicillium roqueforti</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
Активность казеиназы	+	+
Активность каталазы	+	-

Заключение

Плесневые грибы являются ключевым фактором, определяющим созревание и органолептический профиль сыров с белой коркой и голубыми прожилками: вторичная микробиота (*Penicillium spp.*, *Geotrichum candidum*) управляет протеолизом и липолизом, вектором миграции влаги, кислотности и, как следствие, текстурой и ароматом продукта. Роль и геометрия роста видоспецифичны: *P. camemberti* работает с поверхности внутрь, инициируя деацетилизацию корки и градиент созревания, тогда как *P. roqueforti* развивается внутри матрицы при обеспечении аэрации, формируя характерное содержание метилкетонов, спиртов и эфиров. *G. candidum* выступает ранним колонизатором поверхности, утилизирует лактат, снижает кислотность и подготавливает субстрат к последующей колонизации *Penicillium spp.*, при этом его рост чувствителен к ионной силе, что делает соль эффективным технологическим регулятором баланса микробиоты. Таксономическая и штаммовая вариабельность сопряжена с различиями во вторичном метаболизме (в т. ч. PR-токсин/PR-имин, андрастины у *P. roqueforti*, циклопиазоновая кислота у отдельных штаммов белых пеннициллов). Это требует сочетания грамотного отбора низкопродуцирующих штаммов с режимами созревания, ограничивающими накопление нежелательных метаболитов, и регулярного мониторинга состава сообществ (вплоть до молекулярного контроля) и активности ферментативных систем.

Библиографический список

1. Kinetics (rates) of fungal growth. – MIC231. – URL: https://www.sbs.utexas.edu/mycology/bio341/bio341_topic_05.htm?utm_source=chatgpt.com#Main_points (дата обращения: 10.10.2025).
2. *Penicillium roqueforti* и «Голубые» сыры. – knowhow. – URL: https://knowhow.pp.ua/blue_cheese_roqueforti.
3. Грибы рода *Penicillium*: морфология, культуральные свойства, диагностика, лечение –dommedika. – URL: https://dommedika.com/medicinskaia_mikrobiologia/gribi_penicillium.html (дата обращения: 10.10.2025).
4. Banu M. Filamentous Fungi in Cheese Production // Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology. – 2018. – Т. 1. – С. 257-275.
5. Belyakova L. A. The Mold Species and Their Injurious Effect on Various Book Materials // Publichnaia Biblioteka. – 1967. – Т. 2. – С. 34-44.
6. Cocolin L. D. P., Alessandria V., Rantsiou K. Microbiology of fermented dairy products Encyclopedia of Microbiology // Frontiers Media SA. – 2019. – Т. 1. – С. 208.
7. Doğan M., Tekiner İ. H. Evaluating starter culture potential of wild *Penicillium roqueforti* strains from moldy cheeses of artisanal origin // Food Bioscience. – 2021. – Т. 43. – С. 101-253.
8. Lock S. S. Humidity Requirements for Mold Growth // Applied Microbiology. – 1953. – Т. 1. – С. 100.
9. Panoff J.M. Y. M. *Geotrichum candidum*. // Encyclopedia of Dairy Sciences. – 2011. – Т. 1. – С. 22-34.

10. Брахнова Л. В. Исследование процесса созревания мягких сыров с участием культур плесневых грибов // Биотехнологические аспекты создания новых функциональных продуктов. – 2018. – С. 25-28.
11. Кириленко Т. С. Определитель почвенных сумчатых грибов // Book Определитель почвенных сумчатых грибов / Editor. – Наук. думка, 1978. – С. 264.
12. Поломошных М. С. Рост и развитие микромицетов на разных типах крахмала и модификациях соевой муки // Вестник Московского университета. . – 2005. – Т. 4, № 16.
13. Полянская И. С. Видовое соотношение сыров и применяемых при их производстве заквасочных культур // Book Видовое соотношение сыров и применяемых при их производстве заквасочных культур / Editor. – Одесса, 2020. – С. 36.

Оригинальность 75%