

**VPLYV BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KYSNUTIA NA DYNAMIKU RASTU
GEOTRICHUM CANDIDUM POČAS ICH SPOLOČNEJ KULTIVÁCIE V MLIEKU
EFFECT OF LACTIC ACID BACTERIA ON GROWTH DYNAMICS OF
GEOTRICHUM CANDIDUM DURING CO-CULTURE IN MILK**

Anna Hudecová, Lubomír Valík, Denisa Liptáková

ABSTRACT

The growth dynamics of filamentous fungus *G. candidum* was studied in milk during co-culture with lactic acid bacteria culture Fresco and probiotic strain *L. rhamnosus* GG. Single and co-cultures were carried out at temperatures ranging from 5 to 37 °C and growth parameters of fungus achieved from growth curves were evaluated in relation to incubation temperature using transformed G-model. The model showed good prediction under designed experimental conditions and allowed the calculation of optimal temperature for growth. Co-culture of *G. candidum* with Fresco resulted in reduction of fungal growth rate and prolongation of lag-phase. In co-culture with *L. rhamnosus* GG, the growth profile of fungus was similar, however, stronger inhibition was observed at lower temperatures ranging from 10 to 20 °C. Therefore, usage of probiotic strain in dairy products seems to be accompanied with inhibitory effects on some filamentous fungi. This principle of inhibition of fungal growth at lower storage temperatures may be used particularly to retard the growth of *G. candidum* and thus may even improve the dietary value of dairy products such as cottage cheese or cream.

Key words: *Geotrichum candidum*, Fresco, *Lactobacillus rhamnosus* GG, predictive microbiology, G-model

ÚVOD

Vláknité huby, podobne ako kvasinky, sú súčasťou mikroflóry mnohých mliečnych výrobkov, v ktorých môžu pôsobiť ako činitele dôležité pre ich výrobu, ale aj ako kontaminanty spôsobujúce ich kazenie. To, akú úlohu v danej potravine zohrajú, závisí od typu prítomného mikroorganizmu, jeho koncentrácie a od druhu vyšetrovanej potraviny (Cosentino et al., 2001; Godič Torkar, Vengušt, 2008).

Geotrichum candidum je vláknitá huba bežne prítomná v surovom mlieku (Kocková-Kratochvílová, 1990; Boutrou, Guéguen, 2005). Často je možné stretnúť sa s jej označením ako pravej mliečnej huby (Wouters et al., 2002). Jej výskyt vo výrobkoch z mlieka je dôsledkom jej ubikvitného výskytu v prírode (Pottier et al., 2008) a skutočnosti, že mlieko podporuje jej rast a rozmnožovanie. *G. candidum*, podobne ako iné kvasinky a vláknité huby, neprežíva pasterizáciu a jej výskyt vo výrobkoch z pasterizovaného mlieka poukazuje na ich rekontamináciu (Görner, Valík, 2004; Godič Torkar, Vengušt, 2008). V prípade čerstvých, smotanových syrov, smotany a masla je jej prítomnosť nežiaduca, spôsobujúca ich kazenie (Varnam, Sutherland, 1994; Laurenčík et al., 2008). Je tomu tak aj v prípade tvarohovitých syrov typu cottage cheese alebo tvarohu (Boutrou, Guéguen, 2005).

Na druhej strane, *G. candidum* sa tiež používa ako prídavná kultúra pri výrobe mnohých čerstvých, mäkkých a polotvrdých syrov (Pottier et al., 2008). V týchto syroch, ako aj v syroch typu cottage cheese koexistuje s inými mikroorganizmami, najmä s prevládajúcimi baktériami mliečného kysnutia (BMK).

Z pohľadu *G. candidum*, či už ako kontaminanta spôsobujúceho kazenie alebo ako súčasti sekundárnej mikroflóry zúčastňujúcej sa na zretí syrov, je vhodné poznať charakter, ako aj dynamiku rastu a množenia tejto vláknitej huby. Nakoľko pri štúdiu dostupnej literatúry sme príslušné údaje nenašli, vykonali sme rad modelových pokusov, ktorých cieľom bolo získať informácie o rozmnožovaní *G. candidum* v mlieku, počas spoločnej kultivácie s komerčnou

kultúrou Fresco. Pre porovnanie sme uskutočnili tiež spoločné kultivácie *G. candidum* s probiotickým kmeňom *Lactobacillus rhamnosus* GG.

MATERIÁL A METODIKA

Použité mikroorganizmy

Kmeň *G. candidum* sme izolovali z hrudkového ovčieho syra. Jeho morfológickú identifikáciu na druhej úrovni nám potvrdila Ing. E. Piecková, PhD., MPH. (Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava, Slovenská republika). Izolát sme uchovávali na šikmom agare s obsahom odstredeného sušeného mlieka (SMA, Merck, Darmstadt, Nemecko) pri 5 ± 1 °C. Komerčnú kultúru Fresco 1010 (Chr. Hansen, Hørsholm, Dánsko) sme obdržali od spoločnosti Rajo, a.s. Bratislava. Kmeň *Lactobacillus rhamnosus* GG nám za účelom vykonania experimentov poskytla Dr. A. Lauková z Ústavu fyziológie hospodárskych zvierat SAV Košice (s povolením prof. Ouwehanda z Oddelenia biochémie a potravinárskej chémie Univerzity v Turku, Fínsko). Čistú kultúru *Lactobacillus rhamnosus* GG sme priebežne preočkovávali a udržiavali pri teplote 5 ± 1 °C v MRS bujóne.

Inokulácia a zostavenie experimentov

UHT mlieko s 1,5 % obsahom tuku (Rajo, a.s. Bratislava, Slovenská republika) sme použili ako médium pre kultivačné experimenty. Štandardnú suspenziu *G. candidum* určenú na inokuláciu vzoriek mlieka sme pripravili zo 48-72 h kultúry vyrastenej na SMA agare pomocou vytrepania do fyziologického roztoku. Hustotu suspenzie sme upravili desiatkovým riedením tak, aby počiatočná koncentrácia *G. candidum* v mlieku bola $N_0 \leq 10^3$ KTJ.ml⁻¹. Na inokuláciu mlieka kultúrou Fresco sme použili 24 h zákys tejto kultúry v mlieku a počiatočné počty baktérií sa pohybovali v rozpätí od 10^6 do 10^7 KTJ.ml⁻¹. Na inokuláciu *Lactobacillus rhamnosus* GG do mlieka sme použili 24 h kultúru vyrastenú v 10 ml MRS bujóne a jeho počiatočná koncentrácia dosahovala hodnoty vždy nad 10^6 KTJ.ml⁻¹. Počas spoločnej kultivácie *G. candidum* s BMK sme tieto inokulovali do mlieka súčasne. Všetky kultivačné experimenty sme vykonali v 300 ml UHT mlieka, bez miešania, za aeróbných podmienok a pri teplotách pohybujúcich sa od 5 do $37 \pm 0,5$ °C, v dvoch paralelných pokusoch. Samostatné kultivácie *G. candidum* v mlieku sme vykonali pri dvoch hodnotách pH 5,5 a 7,0. Spoločnú kultiváciu *G. candidum* a kultúry Fresco sme uskutočnili pri normálnej pH reakcii mlieka. Počas spoločnej kultivácie s *L. rhamnosus* GG sme pH upravili na 5,5. pH hodnotu mlieka sme upravovali 10 % roztokom kyseliny mliečnej.

Stanovenie počtu mikroorganizmov

V určených časových intervaloch sme odoberali potrebné množstvo vzorky na stanovenie denzity *G. candidum* na GKCH agare (Imuna, Šarišské Michal'any, SR) podľa **STN ISO 7954** ako počet kolónií tvoriacich jednotiek na mililiter UHT mlieka (KTJ.ml⁻¹). V tom istom čase sme stanovili aj denzitu kultúry Fresco podľa normy **STN ISO 4833** ako počet mezofilných baktérií rastúcich na M17 agare (Biokar Diagnostics, Beauvais, Francúzsko) a denzitu *L. rhamnosus* GG na MRS agare (Merck, Darmstadt, Nemecko) podľa normy **STN ISO 15214**, ak išlo o spoločné kultivácie.

Matematická analýza

Počty *G. candidum* a baktérií mliečneho kysnutia v závislosti od času inkubácie sme vyhodnotili pomocou primárneho modelu podľa **Baranyiho et al. (1993)**. Rastovú rýchlosť *G. candidum* získanú z primárnej matematickej analýzy sme podrobili sekundárnemu modelovaniu v závislosti od inkubačnej teploty. Na tento účel sme použili G-model, pôvodne navrhnutý **Gibson et al. (1994)**, pričom aktivitu vody sme nahradili transformáciou teploty:

$$T_w = \sqrt{T_{max} - T} \quad (1)$$

kde T_{\max} je maximálna teplota pre rast, T je konkrétna teplota a T_w je transformácia teploty. Pre popis experimentálnych údajov sa použila kvadratická funkcia:

$$\ln \mu = C_0 + C_1 T_w + C_2 T_w^2 \quad (2)$$

kde μ je špecifická rastová rýchlosť (h^{-1}) a C_0 až C_2 sú koeficienty rovnice. Optimálna teplota T_w , pri ktorej rastová rýchlosť dosiahne maximálnu hodnotu sa vypočíta podľa vzorca:

$$T_w(\text{opt}) = -\frac{C_1}{2C_2} \quad (3)$$

Validácia modelu

Sekundárny model (rov. 2) sme podrobili validácii podľa **Baranyiho et al. (1999)**. Faktor presnosti, faktor spoľahlivosti a percento diskrepancie sme vypočítali použitím nasledovných rovníc:

$$A_f = \exp\left(\sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (\ln f(\mu^k) - \ln \mu^k)^2}{n}}\right) \quad (4)$$

$$B_f = \exp\left(\frac{\sum_{k=1}^n (\ln f(\mu^k) - \ln \mu^k)}{n}\right) \quad (5)$$

$$D_f = (A_f - 1) \cdot 100\% \quad (6)$$

kde μ je rastová rýchlosť získaná z primárneho modelu, $f(\mu^k)$ = rastová rýchlosť vypočítaná z modelu f , ktorý opisuje experimentálne hodnoty, n = počet meraní, A_f = faktor presnosti, B_f = faktor spoľahlivosti a D_f = diskrepancia v percentách.

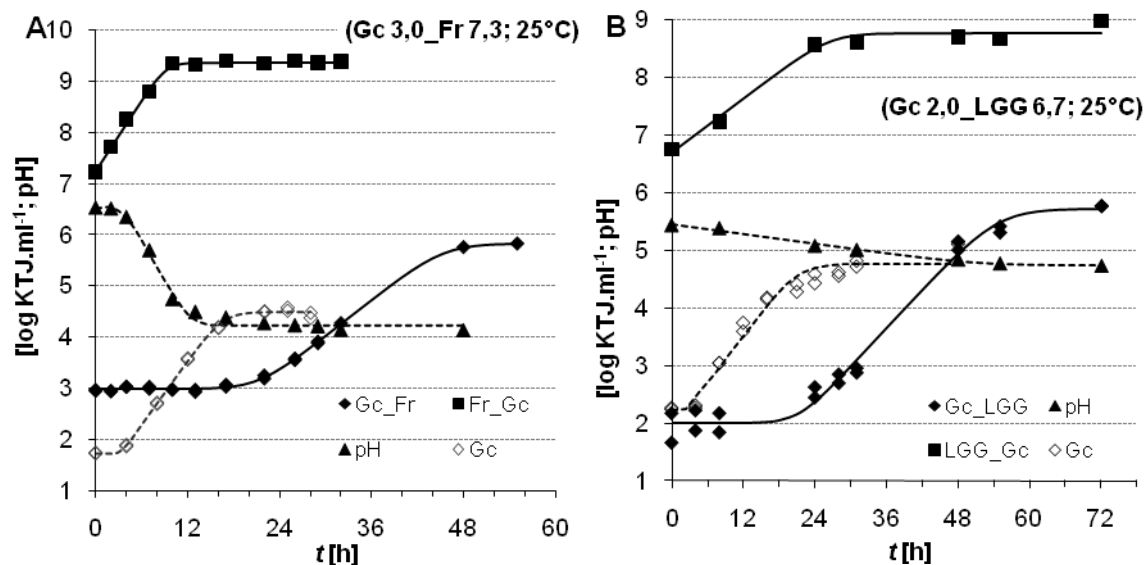
Smerodajnú odchýlku (angl. mean square error – MSE) sme vypočítali nasledovne:

$$MSE = \frac{RSS}{n} = \frac{\sum (\mu_{\text{experimentálna}} - \mu_{\text{vypočítaná}})^2}{n} \quad (7)$$

kde n je počet údajových bodov a RSS (angl. residual sum of squares) je suma štvorcov odchýlok.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vzorový priebeh rastu vláknitej huby počas jej samostatnej a spoločnej kultivácie s baktériami mliečneho kysnutia (BMK) pri 25 °C je zobrazený na obr. 1. Dynamika rastu *G. candidum* počas spoločnej kultivácie s kultúrou Fresco (obr. 1A, vľavo) je v tom istom obrázku porovnaná s jej samostatnou kultiváciou pri pH mlieka 7,0 (prerušovaná čiara, prázdne symboly). Na obr. 1B sú pre porovnanie uvedené výsledky obdobných pokusov s *L. rhamnosus* GG, ale pri pH 5,5.



Obrázok 1 Graf spoločnej kultivácie (A) *G. candidum* a kultúry Fresco a (B) *G. candidum* a *L. rhamnosus* GG pri 25 °C: Gc_Fr, Gc_LGG predstavujú dynamiku rastu *G. candidum* počas spoločnej kultivácie, Fr_Gc, LGG_Gc – dynamika rastu príslušnej kultúry baktérií počas spoločnej kultivácie, pH – zmena pH počas spoločnej kultivácie a Gc – dynamika rastu *G. candidum* počas jej samostatnej kultivácie v mlieku pri tej istej teplote.

Pri spoločnej kultivácii *G. candidum* s kultúrou Fresco sa vláknitá huba začala množiť po 21 h lag-fáze rýchlosťou $0,118 \log \text{KTJ ml}^{-1} \text{h}^{-1}$. V samostatnej kultúre nastal exponenciálny rast *G. candidum* už po 3,3 h, pričom jej rýchlosť bola $0,208 \log \text{KTJ ml}^{-1} \text{h}^{-1}$. Toto porovnanie poukazuje na oneskorenie množenia vláknitej huby a spomalenie jej rýchlosti v exponenciálnej fáze (o 43 %). Baktérie mliečneho kysnutia však nedokázali zabrániť jej pomnoženiu. Nakoniec *G. candidum* dosiahla o celý logaritmický poriadok vyššie konečné počty počas spoločnej kultivácie ako pri samostatnom množení.

Počas spoločnej kultivácie *G. candidum* s probiotickým kmeňom nastala podobná situácia. *L. rhamnosus* GG opäť ovplyvnil rýchlosť množenia vláknitej huby oproti jej samostatnej kultúre ($Gr = 0,176 \log \text{KTJ.ml}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Tá sa po 21 h lag-fáze začala rozmnožovať rýchlosťou $0,111 \log \text{KTJ.ml}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Rýchlosť množenia *G. candidum* v tomto prípade bola oproti monokultúre znížená o 37 %. Obdobne však jej konečné počty v stacionárnej fáze boli vyššie približne o jeden logaritmický poriadok.

Pri spoločnom raste s najväčšou pravdepodobnosťou dochádzalo k nešpecifickému vzájomnému ovplyvňovaniu, ku kompetícii o zložky substrátu limitujúce ich rast. V prostredí sa tiež znižoval redox potenciál, čo malo negatívne ovplyvniť skôr *G. candidum*. Fakultatívne anaeróbne BMK mohli v takomto prostredí tvoriť rôzne antimikrobiálne účinné zlúčeniny, spomedzi ktorých najúčinnnejšie (v závislosti od pK hodnoty) by mohli byť slabé organické kyseliny (Magnusson et al., 2003; Schnürer, Magnusson, 2005; Voulgari et al., 2009). Kultúra Fresco obsahuje homofermentatívne baktérie, ktoré tvoria z laktózy výhradne kyselinu mliečnu. Hodnota pH mlieka počas spoločnej kultivácie klesla na 4,2, čo po prepočte znamenalo, že v prostredí bolo približne 25 až 28 % z prítomnej kyseliny mliečnej ($pK = 3,8$) v nedisociovanej forme. Vlákňité huby sú známe aj svojou adaptáciou na podmienky vytvorené slabými organickými kyselinami a sú schopné rásť aj rozmnožovať sa v takomto prostredí. Mechanizmus fungálnej adaptácie je dobre opísaný v prácach Brula, Cooteho (1999), Pipera et al. (2001) a Hazana et al. (2004). Výsledný účinok slabých organických kyselín sa prejaví spomalením dynamiky rastu, lebo časť energie pôvodne využívaná len na rast sa potrebuje na procesy nevyhnutné pre adaptáciu.

Vyššie konečné počty dvoch kmeňov *G. candidum* počas spoločnej kultivácie s BMK v mlieku pri tej istej teplote zaznamenali aj **Álvarez-Martín et al. (2008)**. Mezofiné baktérie ako *L. lactis* a termofilný *S. thermophilus* tvoria z laktózy v mlieku glukózu a galaktózu, pričom metabolizujú prednostne glukózu na kyselinu mliečnu (**Liu, Tsao, 2009**). Galaktóza zostávala v médiu a mohla byť ľahko metabolizovaná prítomnou vláknitou hubou.

Spoločná kultivácia vláknitej huby s *L. rhamnosus* GG sa uskutočnila pri hodnote pH 5,5. Predpokladáme, že pomalšie znižovanie pH na hodnotu 4,7 nemalo výrazný vplyv na spomalenie množenia vláknitej huby. *L. rhamnosus* patrí medzi fakultatívne heterofermentatívne laktobacily, ktoré síce fermentujú hexózy skoro výlučne na kyselinu mliečnu (**Görner, Valík, 2004**), avšak napríklad **Østlie et al. (2003)** zaznamenali neschopnosť tohto kmeňa fermentovať disacharid laktózu. Preto je pravdepodobné, že inhibičný vplyv tohto kmeňa sa prejavil hlavne ako dôsledok vzájomnej nešpecifickej kompetície. Otázkou zostáva, či sa na dokumentovaných vzťahoch zúčastňovali aj iné metabolity *L. rhamnosus* GG, ako napríklad kyselina pyroglutámová (**Liptáková et al., 2007**), diacetyl, acetoín alebo etanol (**Østlie et al., 2003; Østlie et al., 2005**).

SEKUNDÁRNA MATEMATICKÁ ANALÝZA

Na vyjadrenie vplyvu teploty a prítomnej kultúry BMK na špecifickú rastovú rýchlosť (h^{-1}) *G. candidum* sme použili transformáciu G-modelu podľa teploty. Hodnoty špecifických rastových rýchlostí vláknitej huby použitých na sekundárne modelovanie sa pohybovali od 5 do 37 °C (pre kultiváciu s Frescom od 5 do 35 °C a pre kultiváciu s *L. rhamnosus* GG od 10 do 35 °C). Teplota 38 °C bola určená ako maximálna pre rast vláknitej huby. Príslušný model sme použili na vyhodnotenie dynamiky rastu *G. candidum* počas jej samostatnej kultivácie v mlieku pri pH 5,5 (Rov. 8) a 7,0 (Rov. 9):

$$\ln \mu = -5,0376 + 2,7281T_w - 0,4217T_w^2 \quad R_{\mu}^2 = 0,9126 \quad (8)$$

$$\ln \mu = -4,5633 + 2,5261T_w - 0,3981T_w^2 \quad R_{\mu}^2 = 0,9817 \quad (9)$$

a počas spoločných kultivácií *G. candidum* s kultúrou Fresco (Rov. 10) a *L. rhamnosus* GG (Rov. 11):

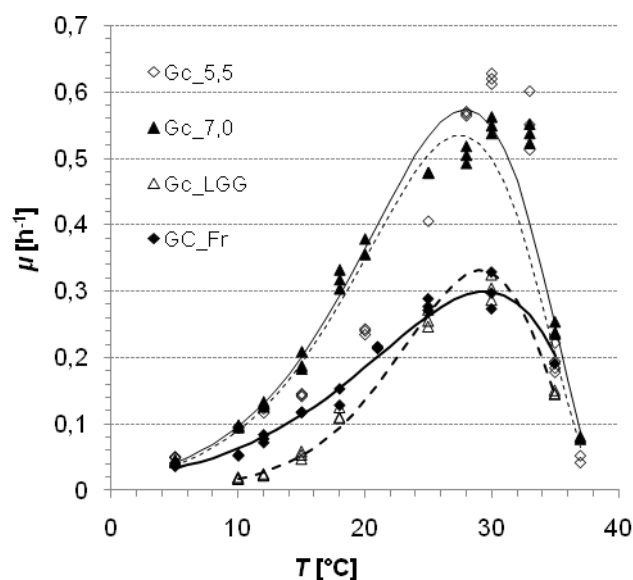
$$\ln \mu = -3,5635 + 1,6166T_w - 0,2769T_w^2 \quad R_{\mu}^2 = 0,9773 \quad (10)$$

$$\ln \mu = -6,0033 + 3,2996T_w - 0,5553T_w^2 \quad R_{\mu}^2 = 0,9881 \quad (11)$$

Grafické prevedenie modelu pri všetkých podmienkach kultivácie demonštruje obr. 2. Pomocou modelu bolo možné vypočítať aj optimálnu teplotu pre rast *G. candidum* pri jednotlivých kultivačných podmienkach použitím rovníc 1 a 3 (Tab. 1.). Jej výsledná hodnota zapadá do optimálneho teplotného rozpätia 25 až 30 °C uvedeného v literatúre (**Boutrou, Guéguen, 2005**).

Dynamika rastu vláknitej huby sa počas jej samostatnej kultivácie v mlieku pri dvoch rôznych pH významne nelíšila (Obr. 2). Tento výsledok je v zhode so skutočnosťou, že pH rovné 5,5 predstavuje ešte optimálnu hodnotu pre rast *G. candidum* (**Boutrou, Guéguen, 2005**) a antimikrobiálny účinok slabých organických kyselín je významný iba pri pH hodnote blízkej ich pK hodnote (pre kyselinu mliečnu 3,8) (**De Muynck et al., 2004; Görner, Valík, 2004**). Iná situácia nastala počas spoločnej kultivácie vláknitej huby s BMK. V oboch prípadoch nastalo spomalenie rastu vláknitej huby. Pričom z obr. 2 vidieť, že vplyv zákysovej kultúry Fresco a aj *L. rhamnosus* GG na rast vláknitej huby bol podobný hlavne v oblasti okolo jej

teplotného optima. Pri teplotách od 25 do 30 °C sa hodnota rastovej rýchlosti *G. candidum* počas jej kultivácie s Frescom znížila oproti jej samostatnej kultivácii v mlieku v priemere o 48 % a pri kultivácii s laktobacilom bola nižšia o 41 %. Pri nízkych teplotách na rast vláknitej huby pôsobil viac inhibične *L. rhamnosus* GG (v intervale teplôt od 10 do 20 °C dosiahlo zníženie rastovej rýchlosti oproti samostatnej kultivácii hodnoty 81 až 61 %) než kultúra Fresco (od 10 do 20 °C zníženie od 34 do 49 %). Probiotický kmeň je schopný rasti už pri 6 °C, i keď s dlhšou lag-fázou (51 h) a nízkou rastovou rýchlosťou 0,019 log KTJ.ml⁻¹.h⁻¹ (Valík et al., 2008). *L. rhamnosus* GG patrí medzi mezofilné mikroorganizmy, ale na základe uvedených výsledkov mu možno prisúdiť psychrotrofné vlastnosti. Počas spoločnej kultivácie s *G. candidum* pri 10 °C bol schopný množiť sa rýchlejšie než kultúra Fresco (výsledky nie sú uvedené).



Obrázok 2 Grafické znázornenie funkcie špecifickej rastovej rýchlosti od inkubačnej teploty pre samostatnú (Gc_5,5; Gc_7,0) a spoločnú (Gc_LGG; Gc_Fr) kultiváciu *G. candidum* s BMK v mlieku. Symboly predstavujú rastové rýchlosti získané z rastových kriviek a funkcia $\mu = \exp(C_0 + C_1 T_w + C_2 T_w^2)$ je reprezentovaná kontinuálnymi čiarami.

Na základe vypočítaných parametrov validácie (Tab. 1) môžeme potvrdiť vhodnosť použitého modelu na predpovedanie rastu *G. candidum* za použitých experimentálnych podmienok. Liptáková et al. (2007) pri vyšetrení rastu *Candida maltosa* počas jej spoločnej kultivácie s *Lactobacillus rhamnosus* VT1 v mlieku uviedli hodnoty A_f pohybujúce sa od 1,04 do 1,23 a B_f od 1,00 do 1,04. Valík, Piecková (2001) použili G-model na popísanie vplyvu aktivity vody na rast termorezistentných vláknitých húb s výslednými A_f 1,070-1,106 a B_f 1,007-1,019 hodnotami. Kombinovaný vplyv aktivity vody a teploty na rast *Botrytis cinerea* bol študovaný Lahlali et al. (2007), ktorý uvádzajú A_f od 1,070 to 1,260 a B_f od 0,860 do 1,036.

Tabuľka 1 Optimálna teplota pre rast *G. candidum* vypočítaná pomocou sekundárneho modelu a jeho parametre validácie pri jednotlivých podmienkach kultivácie

Rovnica č.	T_{opt} [°C]	A_f	B_f	% D_f	R^2	MSE
8	27,5	1,299	1,000	29,9	0,9126	0,0077
9	27,9	1,117	1,000	11,7	0,9817	0,0024
10	29,5	1,115	1,000	11,53	0,9773	0,0002
11	29,2	1,121	0,999	12,12	0,9881	0,0002

ZÁVER

V predloženej práci sa kvantitatívne popísal vplyv teploty a prítomnej kultúry BMK na rast a rozmnožovanie *G. candidum* v mlieku. Sekundárny model použitý v práci bol vhodným nástrojom na predikciu rastu vláknitej huby počas jej samostatnej ako aj počas spoločných kultivácií s vybranými BMK. Údaje spoločnej kultivácie *G. candidum* s kultúrou Fresco poskytli užitočné informácie o raste a o vzájomnom ovplyvňovaní sa prítomných skupín mikroorganizmov, čo je dôležité hlavne z hľadiska možnej kontaminácie a rastu tejto vláknitej huby v syre cottage cheese. Probiotický kmeň *L. rhamnosus* GG preukázal zvýšenú mieru inhibície vláknitej huby pri nízkych teplotách (od 10 do 20 °C) čo je perspektívne s ohľadom na zníženie jej rastu v mliečnych výrobkoch, kde je jej prítomnosť nežiaduca.

LITERATÚRA

- ÁLVAREZ-MARTÍN, P., FLÓREZ, A.B., HERNÁNDEZ-BARRANCO, A., MAYO, B. 2008. Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. In *Food Control*, roč. 19, 2008, s. 62-70.
- BARANYI, J., PIN, C., ROSS, T. 1999. Validating and comparing predictive models. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 48, 1999, s. 159-166.
- BARANYI, J., ROBERTS, T.A., McCLURE, P. 1993. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. In *Food Microbiology*, roč. 10, 1993, s. 43-59.
- BOU Trou, R., GUÉGUEN, M. 2005. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 102, 2005, s. 1-20.
- BRUL, S., COOTE, P. 1999. Preservative agents in foods – Mode of action and microbial resistance mechanisms. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 50, 1999, s. 1–17.
- COSENTINO, S., FADDA, M.E., DEPLANO, M., MULARGIA, A.F., PALMAS, F. 2001. Yeasts associated with Sardinian ewe's dairy products. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 69, 2001, s. 53-58.
- DE MUYNCK, C., LEROY, A.I.J., DE MAESENEIRE, S., ARNAUT, F., SOETAERT, W., VANDAMME, E.J. 2004. Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites. In *Microbiological Research*, roč. 159, 2004, s. 339–346.
- GIBSON, A.M., BARANYI, J., PITT, J.I., EYLES, M.J., ROBERTS, T.A. 1994. Predicting fungal growth: the effect of water activity an *Aspergillus flavus* and related species. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 23, 1994, s. 419-431.
- GODIČ TORKAR, K., VENGUŠT, A. 2008. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M₁ in raw milk and cheese in Slovenia. In *Food Control*, roč. 19, 2008, s. 570-577.
- GÖRNER, F., VALÍK, L. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívateľín*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

- HAZAN, R., LEVINE, A., ABELIOVICH, H. 2004. Benzoic acid, a weak organic acid food preservative, exerts specific effects on intracellular membrane trafficking pathways in *Saccharomyces cerevisiae*. In *Applied and Environmental Microbiology*, roč. 70, 2004, s. 4449–4457.
- KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. 1990. *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990. 673 s. ISBN 80-05-00644-6.
- LAHLALI, R., SERRHINI, M.N., FRIEL, D., JIJAKLI, M.H. 2007. Predictive modelling of temperature and water activity (solutes) on the in vitro radial growth of *Botrytis cinerea* Pers. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 114, 2007, s. 1-9.
- LAURENČÍK, M., SULO, P., SLÁVIKOVÁ, E., PIECKOVÁ, E., SEMAN, M., EBRINGER, L. 2008. The diversity of eukaryotic microbiota in the traditional Slovak sheep cheese – bryndza. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 127, 2008, s. 176–179.
- LIPTÁKOVÁ, D., VALÍK, Ľ., LAUKOVÁ, A., STROMPFOVÁ, V. 2007. Characterisation of *Lactobacillus rhamnosus* VT1 and its effect on the growth of *Candida maltosa* YP1. In *Czech Journal of Food Science*, roč. 25, 2007, s. 272-282.
- LIU, S.-Q., TSAO, M. 2009. Inhibition of spoilage yeasts in cheese by killer yeast *Williopsis saturnus*. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 131, 2009, s. 280-282.
- MAGNUSSON, J., STRÖM, K., ROOS, S., SJÖGREN, J., SCHNÜRER, J. 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. In *FEMS Microbiology Letters*, roč. 219, 2003, s. 129-135.
- ØSTLIE, H.M., HELLAND, M.H., NARVHUS, J.A. 2003. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 87, 2003, s. 17-27.
- ØSTLIE, H.M., TREIMO, J., NARVHUS, J.A. 2005. Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. In *International Dairy Journal*, roč. 15, 2005, s. 989-997.
- PIPER, P., CALDERON, C.O., HATZIXANTHIS, K., MOLLAPOUR, M. 2001. Weak acid adaptation: the stress response that confers yeasts with resistance to organic acid food preservatives. In *Microbiology*, roč. 147, 2001, s. 2635–2642.
- POTTIER, I., GENTE, S., VERNOUX, J.P., GUÉGUEN, M. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 126, 2008, s. 327-332.
- SCHNÜRER, J., MAGNUSSON, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. In *Trends in Food Science & Technology*, roč. 16, 2005, s. 70-78.
- STN ISO 4833. 1997. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1997, 9 s.
- STN ISO 7954. 1997. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 25 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1997, 6 s.
- STN ISO 15214. 2002. Mikrobiológia potravín a krmív: Horizontálna metóda stanovenia mezofilných baktérií mliečneho kysnutia. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 2002, 12 s.
- VALÍK, Ľ., MEDVEĎOVÁ, A., LIPTÁKOVÁ, D. 2008. Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. In *Journal of Food and Nutrition Research*, roč. 47, 2008, s. 60-67.
- VALÍK, Ľ., PIECKOVÁ, E. 2001. Growth modeling of heat-resistant fungi: the effect of water activity. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 63, 2001, s. 11-17.

VARNAM, A.H., SUTHERLAND, J.P. 1994. *Milk and milk products: Technology, chemistry and microbiology*. Vol. 1. London: Chapman and Hall, 1994. 451 p. ISBN 041245730X.

VOULGARI, K., HATZIKAMARI, M., DELEPOGLOU, P., GEORGAKOPOULOS, E., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., TZANETAKIS, N. 2009. Antifungal activity of non starter lactic acid bacteria isolates from dairy products. In *Food Control*, 2009 (v tlači).

WOUTERS, J.T.M., AYAD, E.H.E., HUGENHOLTZ, J., SMIT, G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. In *International Dairy Journal*, roč. 12, 2002, s. 91-109.

Pod'akovanie

Ďakujeme Dr. Elene Pieckovej, MPH. za rodovú identifikáciu izolátu vláknitej huby, ktorá bola predmetom tejto štúdie a Dr. A. Laukovej za poskytnutie kmeňa *L. rhamnosus* GG.

Kontaktná adresa:

Ing. Anna Hudecová, Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika.
Tel. č.: 02/59325515 E-mail: xhudecova@stuba.sk

Doc. Ing. Ľubomír Valík, PhD., Ing. Denisa Liptáková, PhD.