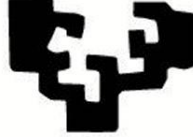


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Gradu Amaierako Lana

Elikagaien Zientzia eta Teknologia

***PENICILLIUM ROQUEFORTI-REN GARRANTZIA
GAZTA URDINEN ELABORAZIOAN***

MAGALI PIKABEA HUETE

2022-2023

Laburpena

Gazta mota anitz ezagutzen eta kontsumitzen dira gaur egun munduan baina badira batzuk haien berezitasun sentsorialengatik ezberdintzen direnak: gazta urdinak. Haien artean, aipagarriak dira Roquefort, Gorgonzola eta Stilton, Espainiako Cabrales, Valdeon edota Picon Bejes-Tresviso ere. Nahiz eta horien artean ere desberdintasunak egon ekoizpen-prozesuan, guztietan kultibo abiarazle bezala *Penicillium roqueforti* erabiltzen da, zeina gazta urdinen ezaugarri organoleptikoen arduradun nagusizat hartzen den. Izan ere, *P.roqueforti*-ren presentzia ezinbestekoa izaten da gazta urdinen azken testura, aroma, kolore zein zapore bereizgarriak lortzeko ontzean zehar ematen diren lipolisian eta proteolisian parte hartzen duelako. Lipolisian zehar sortzen diren gantz azidoek gaztaren amaierako zaporean eragin zuzena duten arren, horietatik eratorritako konposatu lurrunkorrek ere aroman zein zaporean eragiten dute; hala nola, zetonak, azidoak alkoholak, aldehidoak, esterrak eta laktonak. Bestalde, proteolisian zehar sortzen diren aminoazidoek eta peptidoek ere aroman zein zaporean eragiten dute. Horretaz gain, proteolisiak gaztaren amaierako testuran eragina du. Hala ere, beste lizunek bezala, *P.roqueforti*-k metabolito sekundario desberdinak (PR-toxina, Roquefortina C, Andrastina A eta azido mikofenolikoa) ekoizten ditu garatzen den bitartean. Horien artean, batzuk toxikoak dira, zenei arreta jarri behar zaie.

AURKIBIDEA

| | |
|--|-----------|
| 1. SARRERA | 1 |
| 2. HELBURUAK | 3 |
| 3. GARAPENA | 4 |
| 3.1 <i>P.roqueforti</i> lizunaren erabilpena gazta urdinen ekoizpenean | 4 |
| 3.2 Gazta urdinen ontzean zehar <i>P.roqueforti</i>-k parte hartzen dituen prozesuak eta horien eragina gaztaren kalitatean | 5 |
| 3.2.1 <i>P.roqueforti</i> -ren aktibitate lipolitikoa | 6 |
| 3.2.2 <i>P.roqueforti</i> -ren aktibitate proteolitikoa | 8 |
| 3.2.3 Lipolisi zein proteolisitik eratorritako konposatu lurrunkorrak | 11 |
| 3.3 <i>P.roqueforti</i>-rekin erlazionatutako metabolito sekundarioak | 13 |
| 3.3.1 PR-toxina | 13 |
| 3.3.2 Roquefortina C | 15 |
| 3.3.3 Andrastina A | 17 |
| 3.3.4 Azido mikofenolikoa | 18 |
| 4. ONDORIOAK | 20 |
| 5. BIBLIOGRAFIA | 20 |

1. SARRERA

Neolitikoko (K.a 6.000-4.000) lehen abeltzainak izan ziren gaztaren elaborazioa egiten hasi ziren lehen gizakiak. Aurkikuntza honek aurrera pauso handiak suposatu zituen elikagaien prozesamenduaren bidean, honela, esnea kontserbatzeaz gain galkortasuna murriztea, garraioa erraztea eta esnea helduentzako digestiboagoa egitea ahalbideratu zelako¹. Gaur egun gaztaren kontsumoa geroz eta handiagoa da batez ere Europa mailan, gizakion dietan esneki garrantzitsuenetakoa izatera iritsi delako². Estatu mailan, 2021eko Espainiako elikadura kontsumo-txosteneko datuak kontuan hartuz, ikusi da 2013 urtetik aurrera esnekien kontsumoa igotzen joan dela (%2,1). Hala ere, bistan da 2021. urtean esnekien kontsumoak eta hain zuzen ere gaztarenak behera (%10,8) egin zuela 2020.urteko koronabirusaren krisialdiaren eraginaren ondorioz, nahiz eta 2019ko datuekin konparatuz gaztak presentzia handiagoa du elikaduran³.

Gazten artean 1000 barietate baino gehiago existitzen dira baina mundu osoko gazta-sorten barruan, gazta urdinak dira ezagunenak edo haien ezaugarriak direla eta deigarrienak gizakiarentzako⁴. Espainiako Nekazaritza, Arrantza eta Elikadura Ministerioaren (MAPA) esnearen txostenen arabera, gazta urdinen kontsumoa 2022ko azaroan 3,83 millioi/kg-koa izan zen, nahiz eta 2021. urtearekin konparatuz, gazta urdinen kontsumoaren bilakaera 0,9 jaitzi⁵. Gazta urdin mota desberdinak daude. Ezagunen artean: Gorgonzola, Roquefort, Stilton, Cabrales, Danablu, Valdeón, Bleu d'Auvergne, Fourme d'Ambert eta Picon Bejes-Tresviso gazta urdinak⁶. Mota bakoitzerako herrialde ezberdinetan erabiltzen diren elaborazio prozesuak ezberdinak diren arren, kultibo abiarazle bezala *Penicillium roqueforti* lizuna erabiltzea dute amankomunean⁷.

P.roqueforti Fungi erreinuko lizunen artean sailkatzen da, hain zuzen ere *Penicillium* generoaren barruan. Habitat zabal batean bizi den onddo saprofito arrunta da, ingurunean zein elikagaietan topatu daitekeena, eta funtzio nagusi gisa materia organikoaren deskonposizioa duena^{8,9}. Lizuna izendatzeko *P.glaucum*, *P.stilton*, *P.gorgonzola* edota *P.aromaticum* izenak erabili izan dira, besteak beste, baina gaur egun onartzen den bakarra *P.roqueforti* da analisi fenotipikoek frogatu duten modura⁴. Bere izenak Frantziako Roquefort herrian du jatorria, urteetan egindako gazten elaborazio tradizional batek haien kobazulo naturaletan lortutako kalitate altuko gazta urdinak mundu osoan zehar ezagutzera eraman zituelako⁷.

Beste gazten kasuan bezala, gazta urdinak egiteko bakterio laktikoak kultibo abiarazle primario bezala erabiltzen dira. Hala ere, ere *P. roqueforti* gazta urdinen ezaugarri organoleptikoen arduradun nagusizat hartzen da, gazta urdinen azken testura, aroma, kolore zein zapore bereizgarriak lortzeko beharrezkoa dena. Izan ere, gaztan hazteak eta proteolisian zein lipolisian duen jarduera entzimatik indartsuak aromaren eraketan du garrantzia berezia. Gazten heltze prozesuan zehar, burutzen dituen prozesu biokimikoetatik, hainbat konposatu lurrunkor zein ez-lurrunkor sortzen dira gazten amaierako aroma zein zaporea definitzen dutenak, testuran eta itxuran eragiteaz gain¹⁰. Ikerketetan identifikatutako konposatu lurrunkor eta ez-lurrunkor nagusien artean zetonak, alkoholak, esterrak, laktonak eta aldehidoak topatu dira nagusiki. Gazta urdinen ezaugarri bereizgarriak direla eta munduan zehar ezagutzera iritsi dira interesa piztearen eraginez, hauei buruzko ikerketa zientifiko gehiago agertuz. Ikerketa horietan, ontzean zehar emandako prozesu biokimikoak aztertzeaz gain, lizunak sortutako konposatuek gaztetan duten eragina aztertu da^{11,12,13,14,15}.

Nahiz eta *P.roqueforti* aspalditik erabili den gazta urdinak modu seguruan egiteko, anduinen segurtasunaren inguruko ikerketa sakonik ez da egin egun arte⁴. Lizunak gazta urdinetan konposatu desiragarriak ekoizteaz gain ikusi da konposatu desiragaitzak ere sortu ditzakeela, metabolito sekundario deituak. Batzuk toxikoak izan arren, hauen toxizitatea ez da sakontasunez ikertu^{16,17}. Izan ere, Europako Elikagaien Osasun Erakundeak (EFSA) erabaki zuen Fungi erreinuko espezieek sortutako metabolito sekundarioak gehiago ezagutu arren, abisu bat egon arte Segurtasun Presuntzio Kualifikatuen (QPS) ebaluazioetatik kanpo geldituko zirela, hauen artean *P.roqueforti* egonez^{4,18}.

2. HELBURUAK

Lan honen helburu nagusia gazta urdinen elaborazioan zehar *Penicillium roqueforti*-ren garrantziari buruzko berrikuspen bibliografikoa egitea da. Helburu orokor hau lortzeko, hainbat helburu sekundario zehaztu dira:

- 1) Gazta urdinak ekoizteko erabiltzen den *P.roqueforti* lizuna aurkeztea eta bere erabilpena gazta urdinen ekoizpen prozesuan azaltzea.
- 2) Gazta urdinen ekoizpenean zehar *P.roqueforti*-k parte hartzen dituen prozesu biokimikoetan sakontzea eta gaztaren propietate sensorialetan eragina aztertzea.
- 3) *P.roqueforti*-rekin erlazionatutako metabolito sekundarioak deskribatzea, haien presentzia gazta urdin nagusietan eta ondorioak aztertzea.

3. GARAPENA

3.1 *P.roqueforti* lizuna eta bere erabilpena gazta urdinen ekoizpenean

Gazta urdinen ekoizpen prozesuetan baldintza ezberdinak erabili arren, azken produktua lortzeko bidean *P.roqueforti* andui ezberdinen hautaketak eragin handia du. Hainbat ikerketek ondorioztatu dute gazta urdinak egiteko *P.roqueforti* onddoaren barruan genetikoki lau populazio ezberdin daudela^{19,20,21}. Dumas eta kolaboratzaileen ikerketan oinarrituta, identifikatutako lau populazioen artean, bi gazten elaboraziorako erabilgarriak dira eta beste biak, ordea, ez. Gazten elaboraziorako populazioen artean bi mota ezberdintzen dira: Roquefort eta ez-Roquefort^{20,21,22}. Ikerketa berean, frogatu zen *P.roqueforti* lizunak bi domestikazio prozesu jasan zituela independenteki, gizakiak erabakitako hautaketa genetikoagatik²⁰. Beraz, herrialde ezberdinetan egiten diren gazta urdinak kontuan hartuz ez-Roquefort populazioa Gorgonzola, Cabrales, Danablu edota Stilton bezalako gaztak ekoizteko erabilgarria da. Bestalde, Roquefort populazioa Jatorrizko Deitura Babestua (JDB) etiketarekin egindako Roquefort gazta egiteko erabiltzen da^{19,20,23}.

Horretaz gain, ikusi da gazta egiteko bi populazioen isolamenduari esker aniztasun funtzionalak daudela haien artean. Besteak beste, Roquefort populazioko anduiak erabiltzean konposatu lurrunkor, metilketona kopuru eta alkohol sekundarioen kantitateak handiagoak dira, eta lipolisia eta proteolisia eraginkorragoak izateaz gain, kolore urdin azalera handiagoa izaten dute gaztek^{4,23}. Hala eta guztiz ere, Roquefort populazioko anduiak erabiltzen badira, gazten ekoizpena mantsoa izaten da; ez-Roquefort populazioko anduien artean, berriz, ekoizpen industrialerako egokiagoak dira bere jarduera lipolitiko handi eta kolonizatze ahalmen eraginkorragatik. Gainera, modu tradizionalen egindako gazta urdineko anduiak eta gazta urdin industrialeko anduiak desberdinak dira^{20,23} eta, egin nahi den gaztaren arabera, batak edo besteak aukeratuko dira kultibo abiarazle bezala.

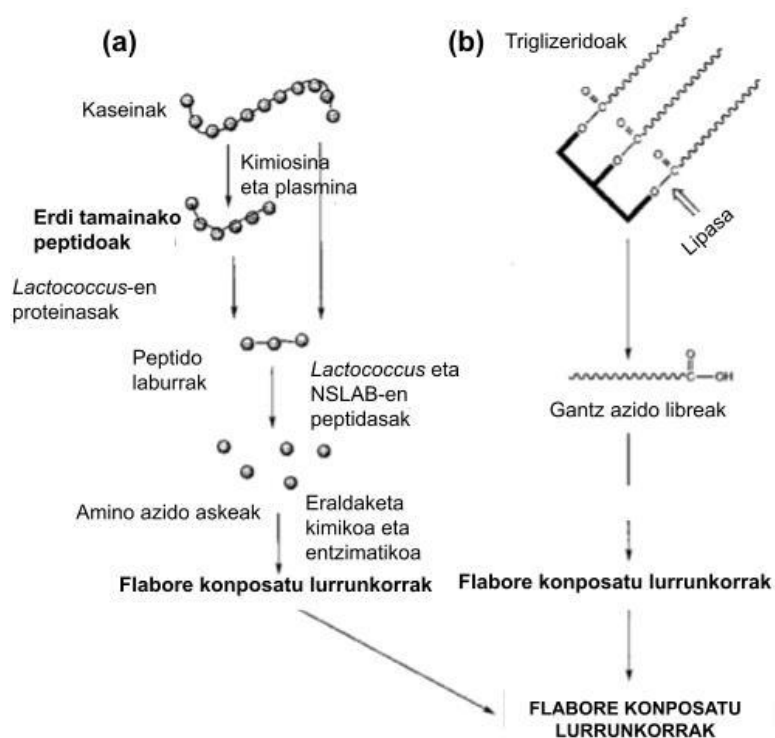
Urteetan zehar *P.roqueforti* ez da gazta urdinen ekoizpenean zehar inokulatua izan gaur egun bezala, esnea modu naturalean usteldutako ogitik kutsatzen zen *P.roqueforti* esporekin. Gerora, *P.roqueforti* esporak inokulatzen hasi ziren eta prozesu honetan hautaketa genetiko bat egin zen egokienak ziren inokuluak aukeratuz hurrengo gaztak ekoizteko. Gaur egun, ordea, inokulazioa *in vitro* egiten da²². Hala edo nola, *P.roqueforti*-ren presentzia gazta urdinen ontzean zehar ezinbestekoa da lizunak parte hartzen duen prozesu biokimikoetan sortutako konposatuek zuzenean eragiten dutelako amaierako produktuaren ezaugarrietan²⁴. Bestalde, kontuan hartu behar da

lizunaren hazkuntzak gaztaren kalitatean eragina izango duela, beraz, gaur egun gazta urdinen elaborazioan zehar *P.roqueforti* inokulatzeaz gain, esnean edo mamian txertatuz, lizunaren hazkuntza kontrolatu beharra dagoela^{7,25,26}.

Gazta urdinen elaborazioan zehar lizunaren hazkuntza bideratzeko orduan hainbat faktorek eragiten dute. Horregatik, lizunaren hazkuntza egokia izateko bere inguru baldintzak ezagutzea beharrezkoa da. Gazta urdinak tradizioz haitzulo naturaletan 10-12°C-ko tenperaturan eta %96-ko hezetasun erlatiboan ontzen uzten ziren⁷ batez ere lizuna psikrofiloa denez tenperatura baxuetan bizitzeko gai delako^{9,27}. Gainera, *P.roqueforti* mikroaerofiloa denez, oxigeno gutxiko inguruneetan bizitzeko gai dela ikusi da^{28,29}. Gazta urdin batzuetan gaztak zulatu egiten dira ontzen prozesuan zehar oxigenoaren sarrerak onddoaren hazkuntza eta garapena bultzatzeko⁷. Bere mizelioaren hazkuntzak gerora gaztari kolore bereizgarria emango dio, gazta urdinetan agertzen diren orbain urdin-berdeak *P.roqueforti* bera izanik. Gainera, pH azido eta ur aktibitate altuetan ($A_w > 0,95$) bizitzeko gai da⁷. NaCl gradienteari dagokionez, gazta ontzeko prozesuan gazta erabiltzen da kontserbazio gisa eta *P.roqueforti* NaCl gradiente sakonetan bizitzeko gai da. Hala ere, lizunaren andui ezberdinak kontuan hartu behar dira NaCl-arekiko tolerantzia ezberdintasunak dituztelako⁹.

3.2 Gazta urdinen ontzean zehar *P.roqueforti*-k parte hartzen dituen prozesuak eta horien eragina gaztaren kalitatean

Heldutako gazten ezaugarriak ontzean zehar ematen diren aldaketa biokimikoen eraginez lortzen dira. Batik bat, bakterio abiarazle zein flora sekundarioen elkarrekintzak direla eta. Flora sekundarioaren artean lizunak daude, zeinak gazta urdinen kasuan *P.roqueforti* amaierako ezaugarrien arduradun nagusia den^{26,30}. **1. Irudian** oso eskematikoki ikus daiteke nola ematen den konposatu zaporedun zein usaintsuen sorrera bide metabolito nagusietatik: proteolisia eta lipolisia³¹. Hurrengo ataletan gazten ontzean zehar ematen diren prozesu biokimiko nagusietan *P.roqueforti*-k duen zeregina azalduko da; lipolisia eta proteolisia.



1. **Irudia.** Gazten ontzean zeharreko bide biokimiko orokorrak: (a) proteolisia eta (b) lipolisia³¹ moldatua.

3.2.1 *P.roqueforti*ren aktibitate lipolitikoa

Zenbait gazta barietate ikertu ostean, ondorioztatu da lipolisia dela gazten ontzean zehar ematen den prozesu biokimiko garrantzitsuenetakoa^{11,32,33,34,35} eta, gazta urdinen kasuan, lipolisi aktibitatea askoz ere nabariagoa da^{33,36}. Ikusi da Roquefort gaztaren kasuan gantz azido kontzentrazioa 32,453 mg/kg-koa izaten dela gutxi gora behera³⁴ eta beste gazta urdinetan adibidez Cabrales-en 57,266 mg/kg³³, Picon Bejes-Tresvison 58,355 mg/kg³² edota Gamonedo 75,685 mg/kg gantz azido kontzentrazioa topatu dira³⁵. Cheddar gaztan adibidez 6,079 mg/kg, Brie gaztan 26,78 mg/kg eta Camembert gaztan, ordea, 681 mg/kg balioak detektatu dira³⁴. Hala ere, gaztaren ekoizpen baldintzek, ontze denborak eta hautatutako *P.roqueforti* anduek lipolisia baldintzatzen dute^{26,37}. Hainbat ikerketek erakutsi dute andui ezberdinen ondorioz jarduera lipolitiko ezberdintasuna eman daitekeela, anduiak kate motz zein ertainak hidrolizatzeke gaitasunaren arabera^{23,26,37,38}.

Lipolisiaren prozesu horretan *P.roqueforti* ezinbesteko agentea da, lizunak ekoizten dituen bi lipasek parte hartzen dutelako, hau da, zelulaz kanpoko bi lipasa^{11,30,31,36}.

Zelulaz kanpoko lipasa hauen artean, lipasa azidoa pH=7,5-8 optimoa eta lipasa alkalinoa pH=9-9,5 optimoa duena dira aipatu beharrekoak^{4,10,30,36}. Ekoiztutako entzimak lizunaren espora zein mizelioan sortzen dira²⁵. Hidrolasa taldekoak dira eta triglizeridoek osatzen duten gantz azidoen eta glizerolaren arteko ester loturak hidrolizatzeaz arduratzen dira; hala ere, apurtzen dituzten loturekiko espezifikitatea erakusten dute esterifikatutako gantz azido motaren arabera³⁰. Kinsella eta kolaboratzaileek ikusi zuten esne gantzeko azido taldeak honako orden honetan hidrolizatzen direla: lehendabizi 4 karbono atomokoak (4 C), ondoren 6 C, 8 C eta azkenik 3 C atomokoak²⁵. Lipasen espezifikitate hau azpimagarria da lipolisia askatutako gantz azidoak gantzaren amaierako zaporearen garapenerako ezinbestekoak direlako. Hemendik sortutako gantz azidoak kate motz eta ertainekoak dira, zuzenean zaporean eragiten dutenak^{11,25,38,39}. Gazten ontze prozesuak aurrera egin ahala, gantz azidoen kontzentrazioa handitzen doa batez ere lizunaren esporulazioa burutu ondoren. Hala ere, ontze amaieran gantz azidoen kontzentrazioa murrizten doala ikusi da, gantz azido batzuk metilketonen sorreran behar direlako²⁶.

Gantz azidoen kontzentrazioa geroz eta altuagoa izan gantzaren zaporea intentsoagoa da³⁴. Hala ere, gantz azidoen kontzentrazioaren arabera efektu ezberdinak eman daitezke, batzuk onuragarriak besteak kaltegarriak. Gantz azidoen kontzentrazioak gantzaren aroman laguntzen du, baina kontzentrazio handiek zaharmintzea eragin dezake³⁸. Gazta urdinen ontzean zehar sortutako gantz azido kontzentrazioa oso altua da beste gazta motekin konparatuz, eta horregatik hauek beste edozein gazta barietateetan zaharmindu zaporea eragingo lukete baina gazta urdinen kasuan ez²⁶. Ontzean zehar proteolisi bidez sortutako aminoazidoen desaminazioagatik sortzen diren konposatu neutro zein alkalinoek pH balioa handitzen dute. Horregatik, gantz azidoak neutralizatu egiten dira eta zaharmintze zaporea deuseztatu egiten da aroma desiragarria emanez^{12,26,40}.

Gazta urdin mota ezberdinetan lipolisi prozesua ikertu da; hala ere, esan behar da horren inguruko ikerketa gutxi egin direla orain arte. Horretarako, gantz azidoen kontzentrazioa aztertu da gantzaren ontze prozesuan zehar, gas edo likido kromatografia teknikaren bidez^{11,12,13,30,31,32,33}. **1.Taulan** gazta urdinetan egindako ikerketetan gantz azidoen aurkitutako kontzentrazioak biltzen dira. Ikus daitekeen bezala, aurkitutako kontzentrazioak 32-76 gazta mg/kg-ra doaz. Baliorik baxuenak Roquefort gaztan aurkitu dira; altuenak, berriz, Gamonedon. Gazta urdin moten artean hautemandako alde horiek ekoizpenean erabilitako lizunaren anduiengatik eta gazta

bakoitzaren heltze-denboragatik ez ezik, ikerketetan erabilitako teknika analitikoengatik ere izan daitezke.

1. Taula. Lipolisitik sortutako gantz azidoen kontzentrazioa gazta urdin barietate ezberdinetan mg/kg gaztan neurtuta.

| Gazta mota | Teknika analitikoa | Eraitza (mg/kg) | Erreferentzia |
|----------------------|---|----------------------------|---------------|
| Picon Bejes-Tresviso | Bereizmen altuko likido kromatografia | 58,355 | 32 |
| Cabrales | Gas-kromatografia Gas-likido kromatografia | 57,266 33,153 | 12,33 |
| Roquefort | Gas kromatografia Gas-likido kromatografia | 25,969 32,500 32,453 | 12,33,34 |
| Danablu | Gas-likido kromatografia | 35,230 | 34 |
| Gamonedo | Gas-likido kromatografia | 75,685 | 35 |

3.2.2 *P.roqueforti*-ren aktibitate proteolitikoa

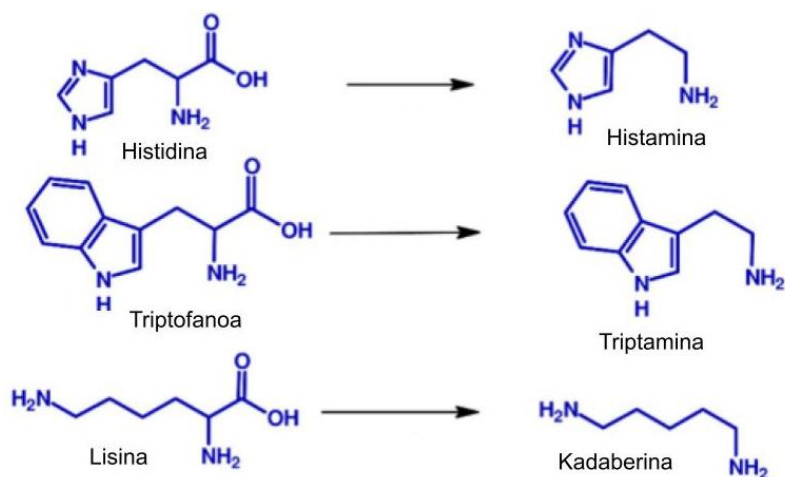
Lipolisiaren antzera, proteolisia ere gazten ontzean zehar ematen den prozesu biokimiko garrantzitsuenetarikoa da. Proteolisian, esneko proteasek, gatzagiko proteasek edota mikroorganismoek ekoiztutako proteasek parte hartzen dute^{10,41,42}. Gazta urdinei dagokienez, gazta barietate ezberdinekin konparatuz, jarduera proteolitikoa biziagoa dela ikusi da *P.roqueforti*-ren presentziagatik^{12,36,41,42,43,44,45}. Gainera, ekoizpen baldintzek, ontze denborek eta lizunaren andui ezberdinen hautaketek proteolisian eragiten dute³⁷. Zenbait ikerketen arabera, andui ezberdinak erabiltzeak proteolisi mailan eragiten du^{4,20,26,36,46}.

Proteolisia esnearen mamian ematen den kaseinen hidrolisian oinarritzen den prozesua da. Proteolisi maila altuena mizelioaren hazkuntza gorena lortzean ematen da²⁵. Hasiara batean, nagusiki, gatzagiko entzimen bidez ematen da, baina ondoren *P.roqueforti*-k sortutako entzimak prozesuan zehar menperatzaile bilakatzen dira²⁶. Zelulaz kanpoko bi peptidasa eta zelulaz barneko bi peptidasa ekoizten ditu: alde batetik, karboxilpeptidasa azidoa eta aminopeptidasa alkalinoa eta beste aldetik, metaloproteinasa eta aspartil proteasa^{26,47}. Aspartil proteasaren kasuan, bere pH optimoa azidoa da eta egonkorra da pH=3,5-6 balioen artean⁴¹. Entzima honek espezifikoki, α_1 -kaseina eta β -kaseina hidrolizatzen ditu⁴⁴. α_1 -kaseinatik 8 peptido sortzen ditu eta β -kaseinatik, aldiz bederatzi peptido. Hala ere ikusi da, β -kaseinak α_1 -kaseinak baino azkarrago degradatzen direla gazta urdinetan *P.roqueforti*-ren

entzimen ondorioz^{44,46}. Izan ere, proteolisi amaieran, α_1 -kaseina eta β -kaseina ia guztiz degradatzen dira^{36,41}. Entzimak hiru lekuetatik (Lys29-Ile30, Lys97-Val98 eta Lys99-Glu100) apurtzen duela ikusi da^{12,42}. Metaloproteinasak pH optimoa 5,5-6 balioen artean du eta egonkorra da pH=4,5-8,5 balioen artean^{42,42,46}. β -kaseinaren Lys28-Lys29, Pro90-Glu91 eta Glu100-Ala101 loturak apurtzen ditu. Glu100-Ala101 lotura apurtzeko zailtasuna dute beste entzimek, baina ez ordea, metaloproteasak^{12,26}. Zelulaz kanpoko proteasa nagusienak karboxilpeptidasa azidoa eta aminopeptidasa alkalinoa dira. Karboxilpeptidasa entzima optimoa da pH=3-5 balioen artean eta espezifikotasun handiarekin azidoak, basikoak eta hidrofobikoak diren aminoazidoak askatzen ditu^{26,41,42}. Aminopeptidasa alkalinoaren pH optimoa 8 da eta aminoazido apolarrek askatzen ditu produktu gisa⁴¹.

Ondorioz, proteolisian zehar kaseinak hidrolizatzen dira eta lortutako emaitza, peptido txiki eta aminoazido kontzentrazio handiak izaten dira zaporean eragin zuzena dutenak^{42,44}. Orokorrean, umami eta mikaztasun zaporea ematen diote gaztari, baina beti ere aminoazido edo peptido bakoitzaren arabera da^{30,42}. Bestalde, proteolisia gaztaren sendotasun zein testurarekin ere erlazionatzen da⁴⁴. Kaseinaren hidrolisi bortitzak proteinaren matrizea degradatzen du^{42,44}. Aldaketa honek gaztari biguntasun testura ematen dio^{30,36,44}. Gaztaren biguntasun gorena lortzeko, ezinbestekoa da proteolisian *P.roqueforti*-ren presentzia, bere aktibitate proteolitiko altua dela eta²⁵.

Proteolisiaren produktuek gaztan aldaketa onuragarriak eragiteaz gain, horietatik kaltegarriak izan daitezken zenbait konposatu ere sortu daitezke, hala nola amina biogenoak³⁰. Konposatu horiek aminoazidoek deskarboxilazio prozesua jasaten dutenean sortzen dira^{30,48,49}. **2.Irudian** eskematikoki ikusi daitekeen moduan aminoazidoaren talde karboxiloaren galera ematen da, dagokion amina biogenoa sortuz^{49,50}. Amina biogenoak sortzeko aminoazidoen presentzia egoteaz gain, mikroorganismoek sintetizatutako proteasak beharrezkoak dira, batez ere deskarboxilazio aktibitatea dutenak^{48,49,50,51}. Kontzentrazio txikietan, zeharka bada ere, gaztaren zaporean eragiten dute, aroma indartsu eta desatsegina emanez⁴⁸. Ikusi da, ontzeak aurrera egin ahala, aminoazidoen kantitatea handituz doala eta, ondorioz, amina biogeno kantitatea handiagoa dela^{48,52}. Honen eraginez, konposatu horien akumulazio bat eman daiteke kontzentrazio handietara iritsiz^{48,49,53}.



2. Irudia. Gazta urdinetan topatzen diren amina batzuen egitura kimikoak moldatua⁵⁰.

Europako Elikagai-entzako Segurtasun Agentzia (EFSA) arabera, kontzentrazio handietan (100 mg/kg-tik gora) toxikoak izan daitezke gizakion osasunerako⁵⁴. Pleva eta kolaboratzaileek egindako ikerketan oinarrituta, gazta urdinetan topatu ziren amina biogenoen artean tiramina, espermina, putreszina, kadaberina eta espermidina zeudela ikusi zen⁵². Komprda eta kolaboratzaileen ikerketan bezalaxe⁵¹. Pleva eta kolaboratzaileek gazta urdinetan 200-500 mg/kg-ko amina biogenoen kontzentrazioa neurtu zuten. Gainera, lortutako balioak amino biogeno bakoitzerako aldakorrak izan arren, gazta urdinen beste barietateko gaztekin konparatuz amina biogeno kantitatea gutxienez bikoitza zela determinatu zuten⁵². Hori, *P.roqueforti*-ren aktibitate proteolitiko altuarekin erlazionatuta dago. Hala eta guztiz ere, Fernandez eta kolaboratzaileek tiramina 1052 mg/kg kontzentrazioan neurtu zuten gazta urdinean eta Novella eta kolaboratzaileek egindako ikerketan ere antzeko emaitzak lortu ziren **(2.Taula)**^{55,56}. Beste amina biogenoetan balioak aldakorrak dira ikerketa batetik bestera, beraz konparazioa egitea zaila da. Dena den, kadaberina izan da detektatutako amina biogeno kontzentrazio balio altuena duena eta feniletilamina izan da kontzentrazio balio txikien detektatu den konposatua gazta urdinetan aipatutako ikerketen arabera.

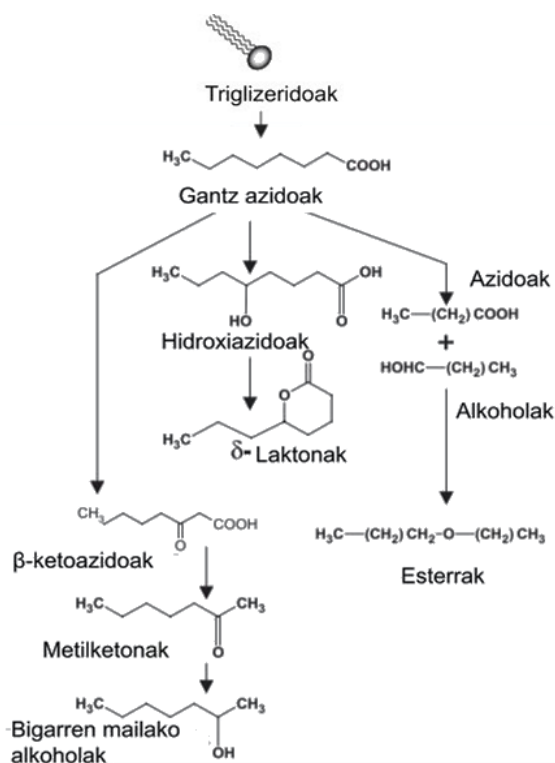
2. Taula. Gazta urdinetan aztertu diren amina biogenoen kontzentrazioak mg/kg-ko neurtuta.

| Detektatutako amina biogenoak | Neurtzeko teknika | Emaitza (mg/kg) | Erreferentziak |
|-------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|----------------|
| Tiramina | Bereizmen altuko likido kromatografia | 1052,0 Ez detektatua-1585,4 | 55,56 |
| Putreszina | | 876,0 3-257,2 | 55,56 |

| | | |
|----------------|---------------------------------|-------|
| Histidina | 1042,0 Ez detektatua-376,6 | 55,56 |
| Kadaberina | Ez detektatua-2101,4 0-757,0 | 55,56 |
| Feniletilamina | Ez detektatua-39,7 0-27,0 | 55,56 |
| Triptamina | Ez detektatua-128,8 | 55,56 |

3.2.3 Lipolisi zein proteolitic eratorritako konposatu lurrunkorak

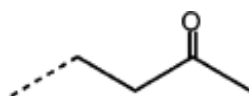
Lipolisiaren sortutako gantz azidoak zuzenean zaporean eragiteaz gain, beste konposatu batzuen sorreran eragiten du beste zapore zein konposatu lurrunkor bereizgarriak sortuz, **3. Irudian** eskematikoki ikusi daitekeena.



3. Irudia. Lipolitic sortutako konposatu lurrunkorak⁵⁷ moldatua.

Besteak beste, konposatu lurrunkorren artean gehiengoa ketonak, azidoak, alkoholak eta aldehidoak dira eta gutxienez artean esterrak eta laktonak dira^{4,11,23,25,58,59}. Jakinik, gantz azidoen kontzentrazioak gaztaren zaporean duen eragina oso garrantzitsua dela, gazta urdinen kasuan, amaierako zapore bereizgarria lortzen laguntzen duen konposatu ugariena dira metilketonak^{4,25,58}; hainbat ikerketaren arabera, horiek konposatu lurrunkor totalaren %50-75 suposatzen dute^{4,11,26,37,58}.

Zetona horiek lortzeko, 4-12 karbonoko gantz azidoen oxidazio prozesu bat ematen da, zehazki β -oxidazioa^{59,60}. *P.roqueforti*-k β -oxidazio bidez β -ketoazil-Koa sortzen du eta tiohidrolasaren bidez β -ketoazidoak lortzen dira. Azken hauen deskarboxilazioaren ondorioz, metilketonak eta karbono dioxidoa sortzen dira^{25,31,41}. Gazta urdinetan sortutako metilketona nagusia alkan-2-ona (2-metilketona) da; **4.irudian** bere egitura kimikoa ikusi daiteke. Metilketonen artean, hauen artean 2-heptanona da ugariena, eta segidan 2-nonanona, 2-pentanona eta 2-undernona daude²⁵. Orokorrean, fruta edo lore usaina izaten dute, eta bereziki 2-heptanonak pikante sentrazioa ematen dio gaztari^{26,61}.



4. Irudia. 2-Metilketonaren egitura kimikoa³¹.

Metilketonek ere degradazio prozesu bat jasaten dute; deskarboxilazio prozesuaren bidez, bigarren mailako alkohol bihurtu daitezke beti ere *P.roqueforti*-ren presentziarekin¹¹. Bigarren mailako alkoholen artean 2-heptanola da gazta urdinen zapore tipikoaren sorreran laguntzen duena, 2-pentanola eta 2-nonanol-ekin batera^{11,37}. Konposatu hauen zapore tipikoa metilketonen antzekoa da bina kontzentrazio handietan topatzen denez, zapore “lizundua” bezala definitua izan da^{26,62}.

Nahiz eta kantitate txikiagotan izan, zaporean ere eragina duten konposatu lurrunkorren artean esterrak eta laktonak ditugu^{11,25}. Lipolisitik lortutako kate motz zein ertaineko gantz azidoek alkoholarekin erreakzionatzen dutenean esterifikazio prozesua ematen da, esterrak sortuz³⁰. Bestalde, gantz azidoek esterifikazio intramolekularra jasan dezakete gantz azidoak alkoholarekin eta ur galera emanez eraztun egitura duten laktonak eratuz¹¹. Bi konposatu mota horiek, esterrak eta laktonak, fruta eta lore zapore gisa definituak izan dira^{4,37}. Bestalde, esterrak ere fruta zaporeaz gain, intxaur zaporea izan dezaketela identifikatu da²⁵.

Lipolisiaz gain, proteolisitik ere konposatu lurrunkorrek sortzen dira^{42,44}. Ikerketa desberdinek proteolisiak gaztaren zaporean zein aroman duen eragina aztertu dute. Askatutako peptido eta aminoazidoek zuzenean gaztaren zaporean eragiten dute, zapore gozo edo mikatza emanez gaztari^{26,63}. Izan ere, glizina, alanina, edota prolina aminoazidoek gozotasun zaporea ematen diote gaztari, eta hidrofobikoak diren aminoazido eta zisteinak, berriz, mikaztasuna²⁵. Hala ere, peptido motzen askapenak umami zaporea eman ahal dio gaztari⁴². Aromari dagokionez, aminoazidoak aroma

eragile nagusienak ez diren arren⁶⁴, horietatik konposatu lurrunkor batzuk sor daitezke, aroman eraginez: aldehidoak, alkoholak eta azidoak. Zehazki, leuzina aminoazidoaren katabolismoan Strecker degradazio bidez ematen da aldehidoen sorrera. Orokorrean gazta urdinen zaporean eragiten dute, baina ikusi da 3-metilbutanal konposatua aroma eragile garrantzitsua dela^{31,37}. Horretaz gain, aldehidoek erredukzio bat jasan dezakete produktu gisa lehenengo mailako alkoholak sortuz. Kantitate handienean etanola sortzen da eta, gaztaren aroman eragiteaz gain, esterren eraketan parte hartzen du^{30,37}. Detektatu direnen artean gozo, fruta eta intxaur kutsu aromatikoa dute³⁷. Harira, aminoazidoak oxidatzean azidoak sortzen dira, haien artean garrantzitsuenak azido butanoikoa eta azido hexanoikoa direlarik^{31,37,62}. Azido butanoikoa zaharmintze usainarekin lotzen da eta azido hexanoikoa, aldiz, gaztaren zapore indartsuarekin³⁷.

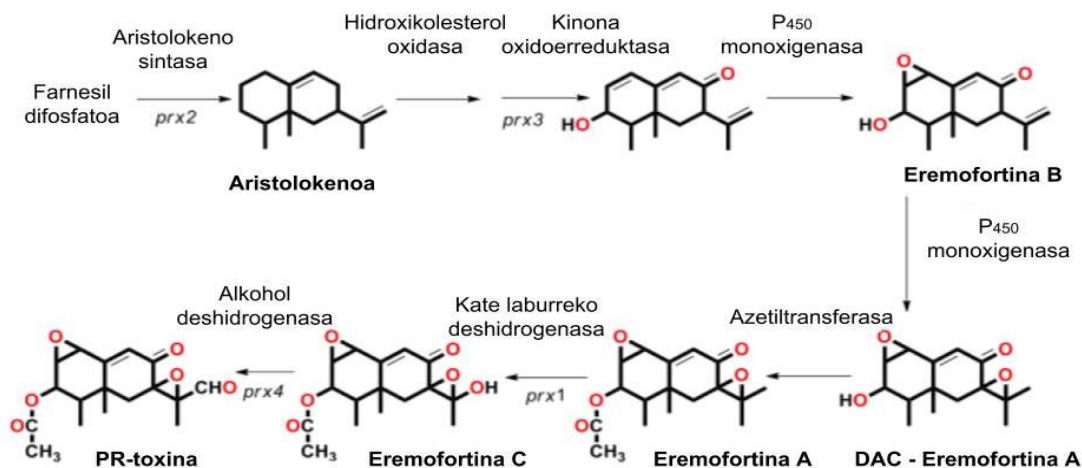
3.3 *P.roqueforti*-rekin erlazionatutako metabolito sekundarioak

Lizunak orokorrean elikagai hondatzaileak izan arren, zenbait elikagairen azken ezaugarriak lortzeko ezinbestekoak diren mikroorganismoak dira. Gazta urdinen kasuan, helburu teknologiko gisa erabiltzen dira^{65,66}. Hala ere, lizun hau metabolito sekundarioak ekoizteko gai dela ikusi da^{17,65,67,68,69}. Onddoek sortutako metabolito sekundarioak inguruko mikroorganismoei aurre egiteko birulentzia eta defentsa ezaugarriak dituzten konposatuak dira⁶⁸. Metabolito sekundario batzuk onuragarriak dira baina beste batzuk kaltegarriak. Azken horien artean, ezagunak diren mikotoxinak ditugu^{16,68}. Mikotoxinak substantzia toxikoak dira eta, behin elikagaian sortuta, zaila izaten da bertatik deuseztatzea inguruneke muturreko baldintzetara egokitzeko gaitasuna dutelako⁶⁵. Azken urteetan gizaki zein animalietan eragin dituzten osasun kalteengatik kezka piztu da ikertzaileen artean. *P.roqueforti*-k hainbat mikotoxina ekoizteko gaitasuna du^{14,65,70,71}. Hala eta guztiz ere, gazta komertzialen artean detektatutako mikotoxinek toxizitate baxua dute isolaturik daudenean orokorrean^{66,71}. Lizunak ekoizten dituen metabolito sekundarioen artean toxikoak direnak PR-toxina eta Roquefortina C dira azpimarragarrienak. Bestalde, metabolito sekundario ez kaltegarrien artean Andrastina A eta azido mikofenolikoa dira nagusienak^{14,16,17,66,68,69,71,72,73}.

3.3.1 PR-toxina

PR-toxina *P.roqueforti* lizunak sortu ditzakeen metabolito sekundario toxikoen artean potentzialki toxikoena eta hilkorrena da^{14,16,17,65,70,74}. Hala ere, gazta urdinetan PR-toxinaren presentzia *P.roqueforti*-ren eraginez ematen dela ikusi arren, gaur egun arte ez da gizakian oraindik inongo alertarik eman⁷⁴. PR-toxinak proteinen biosintesia eta

transkripzioaren inhibizioan parte hartzen du^{72,74,75}. Bere dosi hilgarria 5 mg/kg ingurukoa da saguetan⁷⁵. Chen eta kolaboratzaileek egindako ikerketan sagu zein arratoietan PR-toxinak zuen eragina aztertu zuten. Aztertutako balioen artean, peritoneo barnekoa LD50 = 11,6 mg/kg, zain barnekoa LD50 = 8,2 mg/kg eta ahozkoa LD50 = 115 mg/kg arratoian eta 5,8 mg/kg saguan izan ziren⁷⁰. Konposatu horren toxizitatea C-12 posizioan dagoen aldehido taldearekin erlazionatzen da, honek bitarteko konposatu edota eratorrietatik ezberdindu^{64,67,73}.



5. Irudia. *P.roqueforti*-k ekoiztutako PR-toxinaren bide katabolikoa moldatua⁷⁴.

PR-toxina bi zikloko seskiterpenoa da eta, bere talde funtzionalen artean, azetoxi talde bat, aldehido talde bat, bi zetona eta bi epoxido talde ditu **5.irudian** bere egitura kimikoa ikusi daitekeen moduan^{17,67,73,74}. Hiru molekula isopentenildifosfatotik eratorritako hiru molekula farnesil difosfatok kondentsazioa eta ziklazio prozesu bat jasatean aristolokeno sintasak katalizatuta, aristolokeno molekula sortzen da^{17,67,74}. Aristolokenoa 3 entzimen bidez katalizatzen da, Eremofortina B sortuz. Hiru entzima horien artean, hidroxikolesterol oxidasa, kinona oxidoerreduktasa eta P450 monooxigenasa daude. Jarraian, P450 monoxigenasak C-7 eta C-11 arteko loturak ezartzen ditu eta Eremofortina A konposatutik kate laburreko deshidrogenasak eragindako oxidazio bidez Eremofortina C sortzen da. Oxidazioaren bidez eta kate laburreko alkohol deshidrogenasak katalizatuta, PR-toxina sortzen da Eremofortina C konposatutik abiatuta, **5. Irudiko** eskeman ikusi daitekeen moduan^{17,74}. Lizunaren prx1, prx2, prx3 eta prx4 geneek hartzen dute parte prozesuan zehar nagusiki^{67,74}.

PR-toxina gaztaren ingurunean ezegonkorra da^{17,65,74}, beraz bere eratorriak diren konposatuetan bihurtzen da berehala. Esneko proteinetako amino taldeek C-12

posizioko aldearekin erreakzionatzen dute degradazio bidez konposatu eratorriak sortuz^{16,17}: hala nola, toxina PR-imina, PR-amida eta PR-azidoa, zeinak potentzialki ez diren hain toxikoak^{14,65,67,74,77}. PR-azidoari dagokionez, PR-toxinaren oxidaziotik sortu^{17,67,77} eta PR-amida molekula egonkorrean bilakatzen da PR-amida sintasa bidez. PR-iminari dagokionez, PR-toxina eta amoniakoaren erreakziotik sortzen da eta ezegonkorra¹⁷.

PR-toxina gazta urdinetan oso gutxitan detektatu da, gaztaren ontzean zeharreko baldintzetan molekula hau sortzea zaila delako. Hala ere, sortzen bada ezegonkorra da gaztan dauden aminoazido, amina edota kaseinen presentziagatik^{78,79}. Horregatik, konposatu nitrogenatuen presentzian PR-toxina toxizitate baxuko PR-iminan sortzen da berehala⁷⁶. Hala ere, Siemens eta kolaboratzaileak egindako ikerketan PR-imina gazta urdinen 60 lagin ezberdinetan aztertu zen. PR-imina 19-42 µg/kg balioen artean detektatu zen 50 laginetan (gehiengoa Danimarkako gazta urdinak izanik). Hala eta guztiz ere, azken ikerketa honetan ondorioztatu zen konposatu honek ez zuela garrantzi toxikologiko handirik⁸⁰ **3.Taulan** ikusi daitekeen bezala.

3. Taula. Metabolito sekundarioen kontzentrazioak gazta urdin ezberdinetan (µg/g-ko).

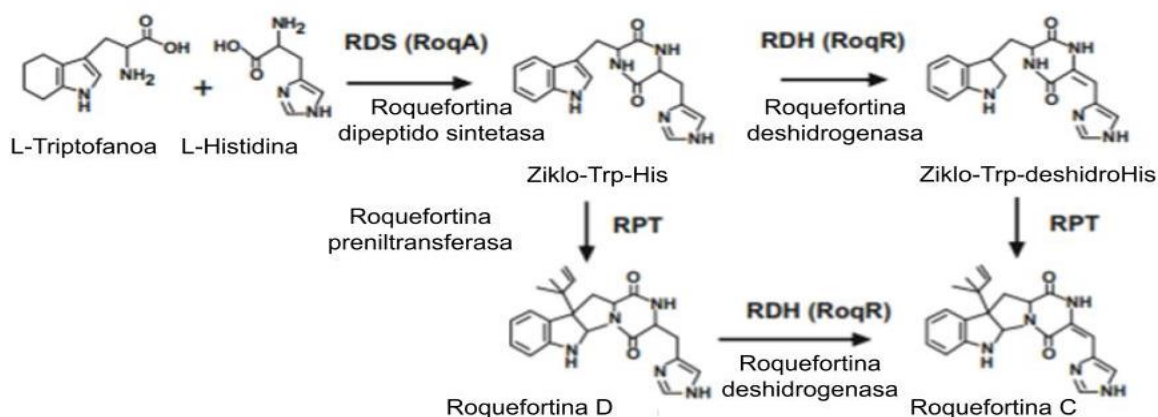
| Metabolito sekundario mota | Kontzentrazioak batuz bestekoak (µg/g) | Gazta urdin mota (laginak) | Teknika analitikoa | Erreferentzia |
|----------------------------|---|---|---------------------------------------|---------------|
| PR-toxina | 30,5 | Danimarkako gazta urdina (n=50) | Bereizmen altuko likido kromatografia | 80 |
| Roquefortina C | 1,74 1,20 0,72 0,65 | Danablue (n=6) Gorgonzola (n=21) Roquefort (n=4) Stilton (n=2) | | 76,81 |
| Andrastina A | 10,83 2,90 1,90 11,62 1,40 1,10 17,02 17,55 19,57 | Danablue (n=7) Blue D´auvergne (n=1) Forme d´Ambert (n=1) Saint Agur (n=2) Gorgonzola (n=5) Stilton (n=1) Cabrales (n=1) Tresviso (n=1) Valdeon (n=2) | | 14,82 |
| Azido mikofenolikoa | 740,00 3,80 2,00 1,10 7,65 | Roquefort (n=5) Cabrales (n=1) Danablue (n=1) Stilton (n=1) Gorgonzola (n=2) | | 83,84 |

3.3.2 Roquefortina C

P.roqueforti-k ekoizten dituen metabolito sekundario toxikoen artean, bigarrena, Roquefortina C da. Ikusi da molekula honek neurotoxizitatea duela saguetan P450 zitokromoarekin elkarrekintzak edukitzen dituelako ARN molekularen eraginez^{16,17,68,75,76,85}

eta bakterioen aurkako ezaugarriak dituela¹⁶. Bere toxizitatea animalietan gutxi aztertu bada ere, Arnold eta bere kolaboratzaileen ikerketa zaharrea oinarrituta Roquefortina C toxinarene kontzentrazioa ahozkoan sagu emean LD₅₀ = 184 mg/kg balikoko eta sagu arran LD₅₀ = 169 mg/kg baliokoa zela determinatu zuten⁸⁶.

Alkaloide familiakoa da **6.Irudian** bere egitura kimikoa ikusi daitekeen moduan. L-triptofanotik eta L-histidinatik eratorritako molekula da^{85,87}. Bi aminoazido horiek roquefortina dipeptido sintetetasak katalizatuta ziklo-triptofano-histidina konposatua sortzen dute. Jarraian, roquefortina deshidrogenasak katalizatuta ziklo-triptofano-deshidrohistidina sortzen da, eta azkenik Roquefortina C konposatuaren sorrera ematen da. Roquefortina C sortzeko ere, roquefortina preniltransferasa bidez Roquefortina D sortu ahal da, ondoren roquefortina deshidrogenasa bidez oxidatu, eta Roquefortina C lortuz (begiratu **6.Irudia**)¹⁷.



6. Irudia. *P.roqueforti*-k ekoiztutako Roquefortina C mikotoxinaren sorrera bidea⁸⁵ moldatua.

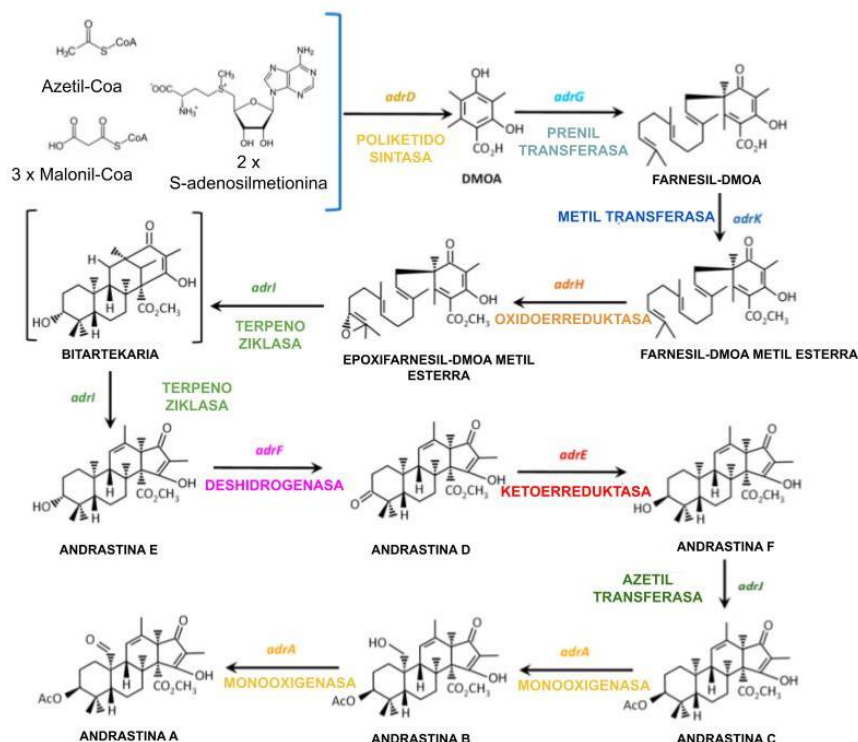
3.Taulan ikusi daitekeen moduan, Noroozian eta kolaboratzaileen ikerketan, Danablu gaztan toxinarene 2 mg/kg inguruko balioak detektatu ziren, Gorgonzola eta Roquefort gaztetan baino gehiago; izan ere, gazta urdin mota horietan 0,95 mg/kg eta 0,75 mg/kg detektatu zuten, hurrenez hurren⁸¹. Finoli eta kolaboratzaileek antzeko kontzentrazioak aurkitu zituzten gazta urdinetan, baliorik altuenak Danablu (1,47 mg/kg) eta Gorgonzola (1,44 mg/kg) gaztetan detektatuz; baliorik baxuenak Roquefort (0,69 mg/kg) eta Stilton (0,65 mg/kg) gaztei dagozkie⁷⁶. Era berean, iaz egindako ikerketa batean, 0,05-1,47 mg/kg arteko balioak detektatu ziren 20 Gorgonzola gazta ezberdinetan⁸⁸. Potentzialki toxikoa izan daitekeen konposatu gisa definitu arren,

oraindik ez da alertarik topatu gizakian. Beraz, toxizitate baxua duen toxina bezala ezagutzen da⁸⁵.

3.3.3 Andrastina A

Metabolito sekundarioen artean, toxikoak diren konposatuak sortzeaz gain, *P.roqueforti*-k kaltegarriak ez diren molekula sortzeko gaitasuna du. Honen adibide da Andrastina konposatua. Andrastina molekula A-D izaten dira, baina gazta urdinetan ugariena Andrastina A da^{17,87,89}. Molekula honek kolesterolaren biosintesian nagusiki parte hartzen duen farnesil-transferasa entzima inhibitzeko gaitasuna du ^{14,69,89,90}. Tumoreen aurkako jarduera indartsua duenez, tumoreen aurkako konposatuak eta haien metaketak areagotzeko gai da. Ras proteinaren farnesilazioa ezinbestekoa da minbizia eragiten duten zelulen funtzionamendurako. Horregatik, minbiziaren aurkako eragilea izan daiteke Andrastina A Ras proteinaren farnesil-transferasa inhibitzeko gai delako^{17,68,69,89,90,91}.

Meroterpenoide konposatuen familiakoa da eta dimetilo azido orselikotik eratorritakoa da⁸⁷. Bere biosintesi bidea orain arte oso argi ez badagoen ere, Chávez eta kolaboratzaileek haien ikerlanean Andrastina A-ren biosintesia azaldu dute (begiratu **7.Irudia**). Irudian ikus daitekeen moduan, Azetil-CoA, 3 Malonil-CoA molekula eta 2 S-adenosilmetionina molekulatik 3,5-dimetilorseliniko azidoa (DMOA) sortzen da poliketido sintasari esker. Ondoren, prenil transferasak katalizatuta, farnesil-3,5-dimetilorseliniko azido (FDMOA) bihurtu, zeina metil transferasa bidez farnesil-dimetilorseliniko azido metil esterrean bilakatzen den. Jarraian, oxidoerreduktasak epoxifarnesil-dimetilorseliniko azido metil esterra sortu eta terpeno ziklasak bitartekaritik Andrastina E molekula sortzen du. Deshidrogenazioz, Andrastina D eratzen da eta horrek ketoerreduktasak katalizatuta Andrastin F konposatuaren sorrera eragiten du. Azetil transferasaren aktibitatea dela eta, Andrastina C sortu eta monooxigenasa bidez Andrastina B lortzen da. Azkenik, Andrastina B molekulatik Andrastina A molekula sortzen da monooxigenasa bidez. Prozesu honetan zehar adrA, adrC, adrD, adrE, adrF, adrG, adrH, adrI, adrJ eta adrK *P.roqueforti*-ren geneek parte hartzen dute^{69,87,91}.



7. Irudia. Andrastina A molekularen biosintesi prozesua⁸⁷ moldatua.

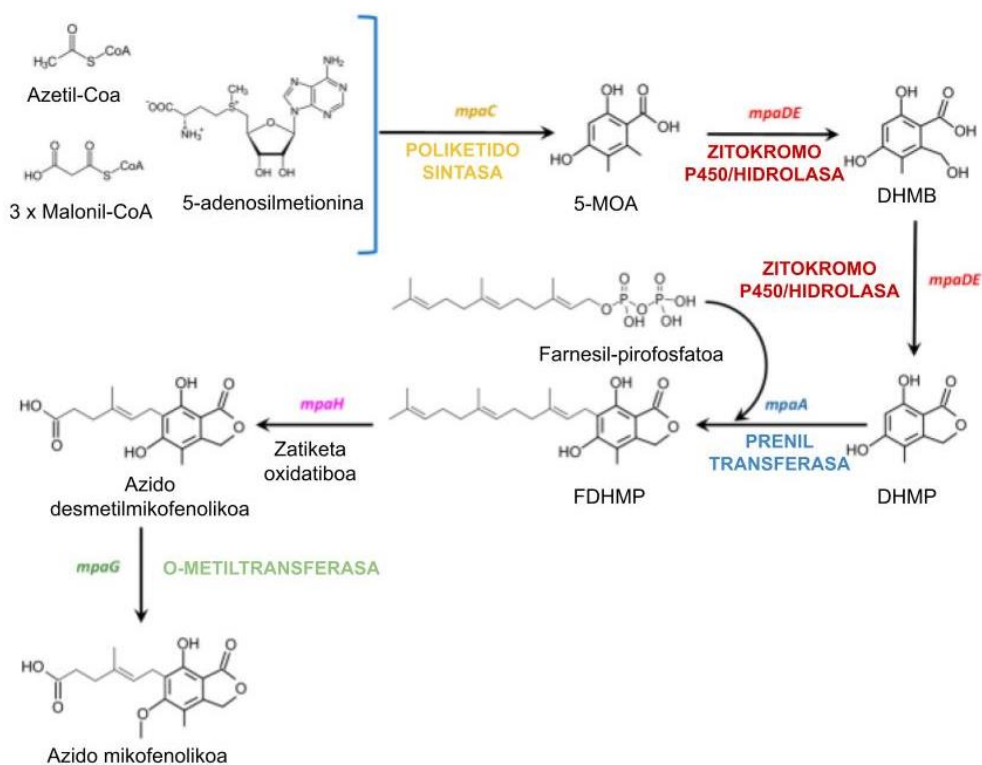
Gazta urdinetan presentziari dagokionez, **3.Taulan** ere ikerketa desberdinetan aurkitutako kontzentrazioak biltzen dira. Nielsen eta bere kolaboratzaileek Danablu gaztan 3,4 µg/g, Blue D´ auvergne gaztan 2,9 µg/g, Forme d´Ambert 1,9 µg/g, Saint Agur 3,7 µg/g, Gorgonzola 1,4 µg/g edota Stilton gazta urdinean 1,1 µg/g kontzentrazio balioak determinatu zituzten¹⁴. Kontzentrazio horiek Fernandez-Bodega eta kolaboratzaileek aurkitutakoak baina askoz ere txikiagoak dira⁸⁰; izan ere, Danablu eta Saint Agur gaztetan 18,26 µg/g eta 19,54 µg/g kontzentrazioak topatu zituzten. Egileek Espainiako gazta urdinak ere aztertu zituzten (Cabrales, Tresviso eta Valdeon gaztetan), baliorik altuena Valdeón gaztetan detektatuz (19,57 µg/g).

3.3.4 Azido mikofenolikoa

P.roqueforti-k sortzen dituen metabolito sekundario ez kaltegarrien artean, azido mikofenolikoa ere badago. Konposatu honek, bakterio¹⁴, fungi⁹², tumore eta birusen aurkako jarduera du¹⁷. Gainera, organoen transplanteen prebentziorako immunosupresore gisa erabiltzeagatik ezaguna da^{14,16,17,68,92}. Inosina eukarioto monofosato deshidrogenasaren inhibitzaile ez-lehiakor gisa jokatzen du, T eta B

linfuzitoen ugaritzeko beharrezkoa dena, eta horrek eragiten du bere jarduera immunosupresorea⁸⁴.

Azido mikofenolikoa azido organiko ahul bat da, meroterpenoide taldekoa¹⁷; **8.Irudian** bere egitura kimikoa eskematikoki ikusi daiteke. Inosina-5'-monofosfato deshidrogenasa inhibitzeko gai dela ikusi da. Entzima honek guaninaren sintesia katalizatzen du, egiten duen funtzioa beharrezkoa izenez linfuzitoen ugalketarako⁹². Substratu gisa azetil-Coa molekula bat, 3 malonil-Coa eta S-adenosilmetionina molekulak behar dira. Molekula horietatik poliketido sintasak katalizatuta, azido 5-metilorsellinikoa (5-MOA) sortzen da. Ondoren, zitokromo P450/hidrolasa bidez, azido 4,6-dihidroxi-2-(hidroximetil)-3-metilbenzoikoa (DHMB) sortu eta hortik entzima berarekin 5,7-dihidroxi-4-metilftalida (DHMP) eratzen da. Jarraian, farnesil-difosfato molekula batetik prenil transferasa entzimak katalizatuta, 6-farnesil-5,7-dihidroxi-4-metilftalida sortzen da. Zatiketa oxidatibo bidez, azido demetilmikofenolikoa (FDHMP) sortzen da. Azkenik, O-metiltransferasa bidez azido mikofenolikoa sortzen da^{17,87}. Biosintesian zehar mpaA, mpaB, mpaC, mpaDE, mpaF, mpaG eta mpaH geneak *Penicillium brevicompactum* lizunean identifikatuak izan diren arren, *P.roqueforti* lizunean antzeko gene egitura dagoela ondorioztatu da⁸⁷.



8. Irudia. *P.roqueforti*-k ekoiztutako azido mikofenoliko konposatuaren biosintesi prozesua⁸⁷ moldatua.

Zenbait ikerketatan azido mikofenolikoren presentzia gazta urdin mota desberdinetan aztertu da (begiratu **3.Taula**). Adibidez, Uselber eta kolaboratzaileen ikerketan, batez besteko kontzentrazioarik altuena Roquefort gaztan aurkitu zen (740 µg/kg) askogatik. Izan ere, Cabrales, Danabluue eta Stilton motako gaztetan, 3,8 µg/kg, 2,0 µg/kg eta 1,1 µg/kg kontzentrazioak detektatu ziren. Gorgonzola gaztan beste gaztetan baino gehiago kontzentrazio altuagoak lortu zituzten emaitza 8,3 µg/kg balioa izanik⁸³. Gainera aurretik, Lafont-ek eta bere kolaboratzaileek topatu zuten azido mikofenolikoaren presentzia Gorgonzola gaztan ere balio altukoa izan zen 7 µg/kg kontzentrazioa detektatuz⁸⁴.

4. ONDORIOAK

Gazta urdinen elaborazioan *P.roqueforti*-ren beharra ezinbestekoa dela egiaztatu dute ikerketa interesgarri anitzek. Lizun honek beste gaztekin alderatuz proteolisi eta lipolisi jarduera maila altuak dituela ziurtatu da, aipatutako prozesu biokimiko hauetan lizunaren entzimek parte hartzen dutelako. Izan ere, prozesu hauetan sortutako konposatu zein eratorriek zaporean eta aroman eragin zuzena dutela frogatu da, produktuaren amaierako ezaugarri bereizgarrietan eragiten dutelarik. Horretaz gain, *P.roqueforti*-ren presentziak gazta urdinen itxura eta testura ere definitzen ditu. Gainera, produktuaren azken emaitza ekoizpen-baldintzen, heltze-denboren eta anduien aukeraketen arabera dela aurreikusi da ikerketa batzuen arabera. Baina, adierazitako guztia erabat baldintzatuta dago arlo honetako ikerketa urrietan neurtutako balioak aldakorrak direlako eta emaitzak ezin direlako orokortu kasu guztietara. Bestalde, lizunen antzera *P.roqueforti* bera ere metabolito sekundarioak sortzeko gai dela ikusi da. Hauen artean Andrastina A eta azido mikofenolkoa onuragarriak dira gizakiarentzat. Aldiz, PR-toxina eta Roquefortina C mikotoxinak osasunerako toxikoak direla ondorioztatu dute ikerketa gutxi batzuk. Hala eta guztiz ere, gizakietan oraindik mikotoxina hauen alertarik eman ez den arren, arreta jarri beharra dago, mikotoxina hauen akumulazioak gizakiaren osasunean eduki ditzakeen efektuak argitzeke daudelako. Guzti honengatik, oraindik konposatu kaltegarri zein onuragarrien eraginak sakonki ikertu beharra dago haien mekanismoa, gizakiengan duten toxizitatea eta efektuak ulertu ahal izateko.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Ropars J, Giraud T. Convergence in domesticated fungi used for cheese and dry-cured meat maturation: beneficial traits, genomic mechanisms, and degeneration. *Curr Opin Microbiol.* 2022;70(102236):102236.
2. Dairy production and products: publications [Internet]. Fao.org. [Azken kontsulta 2023ko ekainak 5]. Eskuragarri: https://www.fao.org/3/i9166e/i9166e_Chapter7_Dairy.pdf

3. Informe del consumo alimentario en España 2021 [Internet]. Gob.es. [Azken kontsulta 2023ko ekainak 5]. Eskuragarri: <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-tendencias/panel-de-consumo-alimentario/ultimos-datos/default.aspx>
4. Gillot G, Jany J-L, Poirier E, Maillard M-B, Debaets S, Thierry A, et al. Functional diversity within the *Penicillium roqueforti* species. *Int J Food Microbiol.* 2017;241:141–150.
5. Información de consumo de leche y derivados [Internet]. Gob.es. [Azken kontsulta 2023ko ekainak 5]. Eskuragarri: <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-tendencias/panel-de-consumo-alimentario/ultimos-datos/consumo-leche-y-derivados.aspx>
6. Flórez AB, Ruas-Madiedo P, Alonso L, Mayo B. Microbial, chemical and sensorial variables of the Spanish traditional blue-veined Cabrales cheese, as affected by inoculation with commercial *Penicillium roqueforti* spores. *Eur Food Res Technol.* 2006;222(3–4):250–257.
7. Albillos SM, García-Estrada C, Martín J-F. Spanish blue cheeses: Functional metabolites. En: Cheese: Types, Nutrition and Consumption. Nova Science Publishers, Inc. 2011. p. 89–104.
8. Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Hong S-B, Klaassen CHW, Perrone G, et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud Mycol.* 2014;78(1):343–371.
9. Abbas A, Dobson ADW, Yeast and Molds. *Penicillium roqueforti*. En: Fuguay JW, editor, *Encyclopedia of Dairy Science*. San Diego, CA, Estados Unidos de América: Elsevier; 2011. p. 772-775.
10. Martín JF, Coton M. Blue Cheese. En: Frias J, Martínez-Villaluenga C, Peñas E, editores. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. San Diego, CA, Estados Unidos de América: Elsevier; 2017. p. 275–303.
11. Collins YF, McSweeney PLH, Wilkinson MG. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *Int Dairy J.* 2003;13(11):841–66.
12. Alonso L, Juárez M, Ramose M, Martín-Alvarez PJ. Overall composition, nitrogen fractions and fat characteristics of Cabrales cheese during ripening. *Z Lebensm Unters Forch.* 1987;185(6):481–486.
13. Orlyuk Y-, Stepanishchev M-. Assessment of Proteolysis and Lipolysis Intensity in *Pechersky Cheese Ripening in the Presence of Penicillium Camemberti and Penicillium Roqueforti*. *Molds Foods Raw Mater.* 2014;2(1):31–35.
14. Nielsen KF, Sumarah MW, Frisvad JC, Miller JD. Production of metabolites from the *Penicillium roqueforti* complex. *J Agric Food Chem.* 2006;54(10):3756–3763.
15. Jeleń HH. Volatile sesquiterpene hydrocarbons characteristic for *Penicillium roqueforti* strains producing PR toxin. *J Agric Food Chem.* 2002;50(22):6569–6774.
16. Vallone L, Giardini A, Soncini G. Secondary metabolites from *Penicillium roqueforti*, A starter for the production of Gorgonzola cheese. *Ital J Food Saf.* 2014;3(3):2118.
17. García-Estrada C, Martín J-F. Biosynthetic gene clusters for relevant secondary metabolites produced by *Penicillium roqueforti* in blue cheeses. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016;100(19):8303–8313.
18. EFSA on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2011 update): QPS 2011 update. *EFSA J.* 2011;9(12):2497.
19. Crequer E, Ropars J, Jany J-L, Caron T, Coton M, Snirc A, et al. A new cheese population in *Penicillium roqueforti* and adaptation of the five populations to their ecological niche. *BioRxiv.* 2023. p. 2023.01.21.524518.
20. Dumas E, Feurtey A, Rodríguez de la Vega RC, Le Prieur S, Snirc A, Coton M, et al. Independent domestication events in the blue-cheese fungus *Penicillium roqueforti*. *Mol Ecol.* 2020;29(14):2639–2660.
21. Gallone B, Steensels J, Verstrepen KJ. Moulded by humans: The domestication of blue-veined cheese fungi. *Mol Ecol.* 2020;29(14):2517–2520.
22. Ropars J, López-Villavicencio M, Snirc A, Lacoste S, Giraud T. Blue cheese-making has shaped the population genetic structure of the mould *Penicillium roqueforti*. *PLoS One.* 2017;12(3):e0171387.
23. Caron T, Piver ML, Péron A-C, Lieben P, Lavigne R, Brunel S, et al. Strong effect of *Penicillium roqueforti* populations on volatile and metabolic compounds responsible for aromas, flavor and texture in blue cheeses. *Int J Food Microbiol.* 2021;354(109174):109174.
24. Dupont J, Dequin S, Giraud T, Le Tacon F, Marsit S, Ropars J, et al. Fungi as a source of food. *Microbiol Spectr.* 2017;5(3).
25. Kinsella JE, Hwang DH. Enzymes of *Penicillium roqueforti* involved in the biosynthesis of cheese flavor. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 1976;8(2):191–228.
26. Cantor MD, van den Tempel T, Hansen TK, Ardö Y. Blue Cheese. En: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD, Everett DW, editores. *Cheese*. San Diego, CA, Estados Unidos de América: Elsevier; 2017. p. 929–954.

27. Boysen M, Skouboe P, Frisvad J, Rossen L. Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. *Microbiology*. 1996;142 (Pt 3)(3):541–549.
28. Boysen ME, Jacobsson KG, Schnürer J. Molecular identification of species from the *Penicillium roqueforti* group associated with spoiled animal feed. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(4):1523–1526.
29. Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA. Sex in *Penicillium* series *Roqueforti*. *IMA Fungus*. 2010;1(2):171–180.
30. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH. Biochemistry of cheese ripening. En: *Fundamentals of Cheese Science*. Boston, MA: Springer US; 2017. p. 391–442.
31. McSweeney PLH, Sousa MJ. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*. 2000;80(3):293–324.
32. Prieto B, Franco I, Fresno JM, Bernardo A, Carballo J. Picón Bejes-Tresviso blue cheese: an overall biochemical survey throughout the ripening process. *Int Dairy J*. 2000;10(3):159–167.
33. Fuente MA, Fontecha J, Juárez M. Fatty acid composition of the triglyceride and free fatty acid fractions in different cows-, ewes- and goats-milk cheeses. *Z Lebensm Unters Forch*. 1993;196(2):155–158.
34. Woo AH, Kollodge S, Lindsay RC. Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *J Dairy Sci*. 1984;67(4):874–878.
35. González de Llano D, Ramos M, Rodríguez A, Montilla A, Juárez M. Microbiological and physicochemical characteristics of Gamonedo blue cheese during ripening. *Int Dairy J*. 1992;2(2):121–135.
36. Larsen MD, Jensen K. The effects of environmental conditions on the lipolytic activity of strains of *Penicillium roqueforti*. *Int J Food Microbiol*. 1999;46(2):159–166.
37. Wolf IV, Perotti MC, Zalazar CA. Composition and volatile profiles of commercial Argentinean blue cheeses. *J Sci Food Agric*. 2011;91(2):385–193.
38. Karali F, Georgala A, Massouras T, Kaminarides S. Volatile compounds and lipolysis levels of Kopanisti, a traditional Greek raw milk cheese: Volatile compounds and lipolysis levels of Kopanisti cheese. *J Sci Food Agric*. 2013;93(8):1845–151.
39. Perotti MC, Bernal SM, Meinardi CA, Zalazar CA. Free fatty acid profiles of Reggianito Argentino cheese produced with different starters. *Int Dairy J*. 2005;15(11):1150–1155.
40. Hayaloglu AA, Brechany EY, Deegan KC, McSweeney PLH. Characterization of the chemistry, biochemistry and volatile profile of Kufllu cheese, a mould-ripened variety. *Lebenson Wiss Technol*. 2008;41(7):1323–1334.
41. Fox PF. Cheese: Chemistry, physics and microbiology: Volume 2 major cheese, groups. 2a ed. Fox PF, editor. Philadelphia, PA: Aspen; 2012.
42. Ardö Y, McSweeney PLH, Magboul AAA, Upadhyay VK, Fox PF. Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis. En: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD, Everett DW, editores. *Cheese*. San Diego, CA, *Estados Unidos de América: Elsevier*; 2017. p. 445–482.
43. Mane A, Ciocia F, Beck TK, Lillevang SK, McSweeney PLH. Proteolysis in Danish blue cheese during ripening. *Int Dairy J*. 2019;97:191–200.
44. Seratlić SV, Miloradović ZN, Radulović ZT, Mačej OD. The effect of two types of mould inoculants on the microbiological composition, physicochemical properties and protein hydrolysis in two Gorgonzola-type cheese varieties during ripening. *Int J Dairy Technol*. 2011;64(3):408–416.
45. Fernandez-Salguero J, Marcos A, Alcalá M, Esteban MA. Proteolysis of Cabrales cheese and other European blue vein cheese varieties. *J Dairy Res*. 1989;56(1):141–145.
46. Fernandez-Salguero. Internal mould – Ripened cheeses: Characteristics, composition and proteolysis of the main European blue vein varieties. *Italian Journal of Food Science*. 2004;16:437-445.
47. Le Bars D, Gripon J-C. Role of *Penicillium roqueforti* proteinases during blue cheese ripening. *J Dairy Res*. 1981;48(3):479–487.
48. Moreira GMM, Costa RGB, Teodoro VAM, Paula JCJ, Sobral D, Fernandes C, et al. Effect of ripening time on proteolysis, free amino acids, bioactive amines and texture profile of Gorgonzola-type cheese. *Lebenson Wiss Technol*. 2018;98:583–590.
49. Rodríguez MBR, Carneiro C da S, Feijó MB da S, Júnior CAC, Mano SB. Bioactive amines: Aspects of quality and safety in food. *Food Nutr Sci*. 2014;05(02):138–146.
50. Tsafack PB, Tsopmo A. Effects of bioactive molecules on the concentration of biogenic amines in foods and biological systems. *Heliyon*. 2022;8(9):e10456.
51. Komprda T, Dohnal V, Závodníková R. Contents of some biologically active amines in a Czech blue-vein cheese. *Czech J Food Sci*. 2008;26(6):428–440.
52. Pleva P, Buňková L, Theimrová E, Bartošáková V, Buňka F, Purevdorj K. Biogenic amines in smear and mould-ripened cheeses. *Potravinarstvo*. 2014;8(1):321–3277.

53. Fiechter G, Sivec G, Mayer HK. Application of UHPLC for the simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in ripened acid-curd cheeses. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013;927:191–200.
54. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods: Biogenic amines in fermented foods. *EFSA J.* 2011;9(10):2393.
55. Fernández M, Linares DM, del Río B, Ladero V, Alvarez MA. HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms. *J Dairy Res.* 2007;74(03):276.
56. Novella-Rodriguez S, Veciana-Nogues MT, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou MC. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *J Food Sci.* 2003;68(3):750–7516.
57. Marilley L, Casey MG. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *Int J Food Microbiol.* 2004;90(2):139–59.
58. Karali F, Georgala A, Massouras T, Kaminarides S. Volatile compounds and lipolysis levels of Kopanisti, a traditional Greek raw milk cheese: Volatile compounds and lipolysis levels of Kopanisti cheese. *J Sci Food Agric.* 2013;93(8):1845–1851.
59. Contarini G, Toppino PM. Lipolysis in Gorgonzola cheese during ripening. *Int Dairy J.* 1995;5(2):141–155.
60. Cao M, Fonseca LM, Schoenfuss TC, Rankin SA. Homogenization and lipase treatment of milk and resulting methyl ketone generation in blue cheese. *J Agric Food Chem.* 2014;62(25):5726–5733.
61. Curioni PMG, Bosset JO. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *Int Dairy J.* 2002;12(12):959–984.
62. Lawlor JB, Delahunty CM, Sheehan J, Wilkinson MG. Relationships between sensory attributes and the volatile compounds, non-volatile and gross compositional constituents of six blue-type cheeses. *Int Dairy J.* 2003;13(6):481–494.
63. Yvon M, Rijnen L. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int Dairy J.* 2001;11(4–7):185–201.
64. Nasrollahi A, Nasrollahi S, Esmaeili P, Kaviani M, Shariati M. An introduction to flavor compound production in cheese. 2016.
65. Benkerroum N. Mycotoxins in dairy products: A review. *Int Dairy J.* 2016;62:63–75.
66. Cakmakci S, Cetin B, Gurses M, Dagdemir E, Hayaloglu AA. Morphological, molecular, and mycotoxigenic identification of dominant filamentous fungi from moldy civil cheese. *J Food Prot.* 2012;75(11):2045–2049.
67. Hidalgo PI, Ullán RV, Albillos SM, Montero O, Fernández-Bodega MÁ, García-Estrada C, et al. Molecular characterization of the PR-toxin gene cluster in *Penicillium roqueforti* and *Penicillium chrysogenum*: cross talk of secondary metabolite pathways. *Fungal Genet Biol.* 2014;62:11–24.
68. Rojas-Aedo JF, Gil-Durán C, Goity A, Vaca I, Levicán G, Larrondo LF, et al. The developmental regulator Pcz1 affects the production of secondary metabolites in the filamentous fungus *Penicillium roqueforti*. *Microbiol Res.* 2018;212–213:67–74.
69. Rojas-Aedo JF, Gil-Durán C, Del-Cid A, Valdés N, Álamos P, Vaca I, et al. The biosynthetic gene cluster for andrastin A in *Penicillium roqueforti*. *Front Microbiol.* 2017;8:813.
70. Chen FC, Chen CF, Wei RD. Acute toxicity of PR toxin, a mycotoxin from *Penicillium roqueforti*. *Toxicon.* 1982;20(2):433–441.
71. Fontaine K, Hymery N, Lacroix MZ, Puel S, Puel O, Rigalma K, et al. Influence of intraspecific variability and abiotic factors on mycotoxin production in *Penicillium roqueforti*. *Int J Food Microbiol.* 2015;215:187–193.
72. O'Brien M, Nielsen KF, O'Kiely P, Forristal PD, Fuller HT, Frisvad JC. Mycotoxins and other secondary metabolites produced in vitro by *Penicillium paneum* Frisvad and *Penicillium roqueforti* Thom isolated from baled grass silage in Ireland. *J Agric Food Chem.* 2006;54(24):9268–9276.
73. Jeleń HH. Volatile sesquiterpene hydrocarbons characteristic for *Penicillium roqueforti* strains producing PR toxin. *J Agric Food Chem.* 2002;50(22):6569–6574.
74. Dubey MK, Aamir M, Kaushik MS, Khare S, Meena M, Singh S, et al. PR toxin – biosynthesis, genetic regulation, toxicological potential, prevention and control measures: Overview and challenges. *Front Pharmacol.* 2018;9.
75. Riclea R, Dickschat JS. Identification of Intermediates in the Biosynthesis of PR Toxin by *Penicillium roqueforti*. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2015;54(41):12167–12170.
76. Finoli C, Vecchio A, Galli A, Dragoni I. Roquefortine C occurrence in blue cheese. *J Food Prot.* 2001;64(2):246–251.
77. Chang S-C, Cheng M-K, Wei Y-H. Production of PR-imine, PR-acid, and PR-amide relative to the metabolism of PR toxin by *Penicillium roqueforti*. *Fungal Biology.* 2003;19:39-46.

78. Scott PM. Toxins of *Penicillium* species used in cheese manufacture. *J Food Prot.* 1981;44(9):702–710.
79. Erdogan A, Sert S. Mycotoxin-forming ability of two *Penicillium roqueforti* strains in blue moldy tulum cheese ripened at various temperatures. *J Food Prot* [Internet]. 2004;67(3):533–535.
80. Siemens K, Zawistowski J. Occurrence of PR imine, a metabolite of *Penicillium roqueforti*, in blue cheese. *J Food Prot.* 1993;56(4):317–319.
81. Noroozian E, Lagerwerf F, Lingeman H, Brinkman UA, Kerkhoff MA. Determination of roquefortine C in blue cheese using on-line column-switching liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 1998;17(6–7):1215–1223.
82. Fernández-Bodega MA, Mauriz E, Gómez A, Martín JF. Proteolytic activity, mycotoxins and andrastin A in *Penicillium roqueforti* strains isolated from Cabrales, Valdeón and Bejes–Tresviso local varieties of blue-veined cheeses. *Int J Food Microbiol.* 2009;136(1):18–25.
83. Usleber E, Dade M, Schneider E, Dietrich R, Bauer J, Märtlbauer E. Enzyme immunoassay for mycophenolic acid in milk and cheese. *J Agric Food Chem.* 2008;56(16):6857–6862.
84. Lafont P, Debeauvais JP, Gaillardin M, Payen J. Production of mycophenolic acid by *Penicillium roqueforti* strains. *Appl Environ Microbiol.* 1979;37(3):365–368.
85. Kosalková K, Domínguez-Santos R, Coton M, Coton E, García-Estrada C, Liras P, et al. A natural short pathway synthesizes roquefortine C but not meleagrín in three different *Penicillium roqueforti* strains. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015;99(18):7601–7612.
86. Arnold DL, Scott PM, McGuire PF, Harwig J, Nera EA. Acute toxicity studies on roquefortine and pr toxin, metabolites of *Penicillium roqueforti*, in the mouse. *Food Cosmet Toxicol.* 1978;16(4):369–371.
87. Chávez R, Vaca I, García-Estrada C. Secondary metabolites produced by the blue-cheese ripening mold *Penicillium roqueforti*; Biosynthesis and regulation mechanisms. *J Fungi (Basel).* 2023;9(4):459.
88. Maragos CM. Roquefortine C in blue-veined and soft-ripened Cheeses in the USA. *Food Addit Contam Part B Surveill.* 2022;15(1):1–9.
89. Petyaev IM, Bashmakov YK. Could cheese be the missing piece in the French paradox puzzle? *Med Hypotheses.* 2012;79(6):746–749.
90. Mioso R, Toledo Marante FJ, Herrera Bravo de Laguna I. *Penicillium roqueforti*: a multifunctional cell factory of high value-added molecules. *J Appl Microbiol.* 2015;118(4):781–791.
91. Matsuda Y, Awakawa T, Abe I. Reconstituted biosynthesis of fungal meroterpenoid andrastin A. *Tetrahedron.* 2013;69(38):8199–8204.
92. Del-Cid A, Gil-Durán C, Vaca I, Rojas-Aedo JF, García-Rico RO, Levicán G, et al. Identification and functional analysis of the mycophenolic acid gene cluster of *Penicillium roqueforti*. *PLoS One.* 2016;11(1):e0147047.