

KATARZYNA JANDA, AGATA MARKOWSKA-SZCZUPAK,
ANTONI W. MORAWSKI

**WPLYW AKTYWNOŚCI WODY I TEMPERATURY NA WZROST ORAZ
AKTYWNOŚĆ LIPOLITYCZNĄ SZCZEPÓW *PENICILLIUM
CHRYSOGENUM* W POŻYWKACH PŁYNNYCH Z OLEJAMI ROŚLINNYMI**

Streszczenie

Szczepy *P. chrysogenum* wyizolowane z nasion rzepaku, soi i słonecznika hodowano w pożywkach płynnych z dodatkiem oleju rzepakowego, sojowego i słonecznikowego. Zbadano wpływ aktywności wody (a_w) pożywki (0,995, 0,950, 0,900 i 0,850) i temperatury (15 i 25 °C) na zawartość suchej masy grzybni i aktywność lipolityczną. Wzrost grzybni badanych szczepów był zróżnicowany w zależności od a_w i temperatury. Aktywność lipolityczna w temperaturze 15 °C była wyższa niż w 25 °C. Najwyższą aktywność *P. chrysogenum* stwierdzono w temperaturze 15 °C przy najniższej badanej aktywności wody pożywki. Otrzymane wyniki wskazują na możliwość inicjowania niekorzystnych zmian jakościowych olejów przez enzymy lipolityczne szczepów tego gatunku nawet wówczas, gdy nie ma widocznego (makroskopowo) wzrostu grzybni.

Słowa kluczowe: *Penicillium chrysogenum*, sucha masa grzybni, aktywność lipolityczna, pożywki płynne, oleje roślinne

Wprowadzenie

Obecność grzybów pleśniowych w składowanym materiale roślinnym, w tym również w nasionach roślin oleistych jest ważnym zagadnieniem ekonomicznym, jak i zdrowotnym. Ze względu na zdolność do wzrostu i rozwoju w różnych, często skrajnych warunkach środowiska, grzyby te stanowią problem w wielu dziedzinach życia i gospodarki człowieka. Zasadniczą rolę w biodegradacji nasion roślin oleistych spełniają grzyby kserofilne i kserotolerancyjne, preferujące środowiska o niskiej wilgotno-

Dr hab. K. Janda, Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka, Wydz. Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin, dr hab. inż. A. Markowska-Szczupak, prof. dr hab. A. W. Morawski, Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin. Kontakt: Katarzyna.Janda@pum.edu.pl

ści. Aktywność hydrolityczna, w tym także lipolityczna tych drobnoustrojów może obniżać jakość składowanych surowców roślinnych o dużej zawartości tłuszczu.

Szczepy *Penicillium chrysogenum* są zdolne do wzrostu w środowisku o aktywności wody $a_w < 0,800$. Optymalna temperatura wzrostu wynosi 25 °C, a minimalna – 4 °C [11, 28]. Gatunek ten występuje w produktach żywnościowych, takich jak: ziarna zbóż, mąka pszenna i ryżowa, warzywa, owoce, a także w powietrzu i w kurzu [1, 16, 20, 25]. Szczepy *P. chrysogenum* izolowane były również z przegród budowlanych, [6, 12, 22], z gleby [13], urządzeń wentylacyjnych i klimatyzacyjnych [15, 25] oraz z organizmu człowieka [5]. Szczepy tego gatunku zaliczane są do grupy BSL-1, do której należą saprofity lub patogeny roślin, natomiast u ludzi i zwierząt mogą powodować zakażenia powierzchniowe, nieinwazyjne [22]. Gatunek ten znany jest również z wytwarzania penicyliny oraz mikotoksyn: cytryniny, rokwefortyny C, patuliny, PR-toksyny, ksantocyliny X, kwasu cyklopiazonowego i penicylinowego, meleagryny, chryzogin oraz ochratoksyny A [1, 21, 23, 26, 29]. Szczepy *P. chrysogenum* syntetyzują wiele enzymów, m.in. lipolityczne, amylolityczne, proteolityczne i pektynolityczne [2, 3, 4, 29]. Wpływ aktywności wody w powiązaniu z czynnikami środowiskowymi, tj. temperaturą i wartością pH, na wzrost grzybni był przedmiotem badań wielu autorów [10, 14, 24, 26]. Tylko kilka prac odnosiło się do wpływu aktywności wody na aktywność lipolityczną grzybów [18, 19, 30], w tym jedna dotyczyła wpływu aktywności wody i temperatury na wzrost oraz aktywność lipolityczną grzybów *P. chrysogenum*, wyodrębnionych z zapleśniałych nasion rzepaku [21].

Celem pracy była ocena wpływu aktywności wody pożywki oraz temperatury na aktywność lipolityczną szczepów *Penicillium chrysogenum* wyizolowanych z nasion rzepaku, soi i słonecznika.

Material i metody badań

W pracy wykorzystano 9 szczepów *Penicillium chrysogenum* pochodzących z kolekcji własnej. Trzy szczepy zostały wyizolowane z rzepaku (R1, R2 i R3), trzy z soi (S1, S2, S3) i trzy ze słonecznika (S11, S12, S13). W celu otrzymania zawiesiny zarodników szczepy hodowano 5 - 7 dni na skosach z podłożem Malt Extract Agar (MEA, Merck) w temp. 25 °C. Do skosów dodawano po 7 cm³ jałowej soli fizjologicznej (0,85-procentowy roztwór NaCl) i wytrząsano w aparacie typu Vortex przez jedną minutę.

Przeprowadzono dwa doświadczenia (każde w trzech powtórzeniach):

– doświadczenie I: hodowle pleśni w pożywkach z olejami roślinnymi.

Do oznaczeń używano pożywki płynnej przygotowanej według Bancercz i wsp. [3] we własnej modyfikacji, o składzie: glukoza 10 g, KH₂PO₄ 2 g, MgSO₄·7H₂O 1 g, mocznik 4 g, d-biotyna 8 µg, tiamina 200 µg, mio-inozytol 4 µg, woda destylowana

1000 cm³, pH 5,5. W doświadczeniu wykorzystano olej rzepakowy (Rapeseedoil, from *Brassica rapa*, Fluka), sojowy (Soybeanoil, Sigma, Aldrich) i słonecznikowy (Sunflowerseedoil, Fluka). Oleje dodawano do pożywki w postaci emulsji w 7-procentowym roztworze gumy arabskiej (4 % v/v) w ilości 5 cm³ w 100 cm³ pożywki. Stężenie oleju z pożywce wynosiło 2 %. W zależności od ilości dodawanego NaCl otrzymano pożywkę o a_w 0,995, 0,950, 0,900 i 0,850. Aktywność wody (a_w) pożywki weryfikowano miernikiem firmy Decagon: DE 202 AquaLab Lite. Pożywkę z olejem rzepakowym zaszczepiano zawiesiną zarodników 3 szczepów wyodrębnionych z nasion rzepaku, pożywkę z olejem sojowym – zawiesiną zarodników 3 szczepów pochodzących z nasion soi, a pożywkę z olejem słonecznikowym – zawiesiną zarodników 3 szczepów wyizolowanych ze słonecznika. Kolby o pojemności 300 cm³, zawierające po 100 cm³ pożywki inokulowano 1 cm³ zawiesiny zarodników o gęstości 10⁶ do 10⁷ jtk/ml [8]. Hodowle statyczne prowadzono 5 dni w temp. 15 i 25 °C. Temperatura 25 °C była optymalna do wzrostu *P. chrysogenum*, a 15°C było temperaturą pomieszczeń przechowalniczych nasion;

– doświadczenie II: Oznaczenie aktywności lipolitycznej płynu pochodowlanego.

Przygotowano mieszaninę reakcyjną o składzie: 2,5 cm³ emulsji oleju (rzepakowego, sojowego lub słonecznikowego) w 7-procentowym roztworze gumy arabskiej (4 % v/v), 3,5 cm³ buforu Tris-HCl o pH 8,0 oraz 5 cm³ przesączu pochodowlanego. Mieszaninę wytrząsano w kolbach o pojemności 100 cm³ w łaźni wodnej Julabo SW 22 w temp. 30 °C przez 60 min (150 obr./min). Po godzinie inkubacji reakcję przerywano, dodając 10 cm³ 96-procentowego etanolu. Do próbek kontrolnych po inkubacji emulsji z buforem Tris-HCl w identycznych warunkach dodawano 10 cm³ etanolu, a następnie 5 cm³ przesączu pochodowlanego. W tak przygotowanych próbkach określano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych uwolnionych przez egzolipazy obecne w przesączu pochodowlanym w warunkach doświadczenia. Do miareczkowania wobec fenoloftaleiny używano 0,05 N roztworu KOH. Jedna jednostka aktywności lipazy jest to ilość enzymu potrzebna do uwolnienia jednego milimola wolnych kwasów tłuszczowych w ciągu minuty, w warunkach doświadczenia [7, 29]. Wyniki przedstawiono w jednostkach aktywności lipolitycznej (U/ml).

W celu określenia zawartości suchej masy grzybnie oddzielano na sączkach z bi-łuły filtracyjnej Whatman 1. Aby dokładnie pozbyć się składników pożywki, przepłukiwano je najpierw ciepłą wodą (wypłukanie chlorku sodu), później heksanem (wymycie tłuszczu), następnie etanolem (trzykrotnie porcjami po 10 cm³) i wodą destylowaną. Pozostałą na sączku grzybnię poduszano wstępnie w powietrzu w temp. 20 ± 2 °C i dosuszano w suszarce KBC-125G w temp. 80 °C do stałej masy [9].

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Excel oraz progra-

mu Statistica 8.0 (StatSoft). Statystyczną istotność różnic określano na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W pożywkach z olejem rzepakowym najwyższą aktywność lipolityczną grzybów (0,108 U/ml) stwierdzono w hodowlach prowadzonych w temp. 15 °C w pożywce o a_w 0,900 (tab. 1). Różniła się ona statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) od aktywności lipolitycznej grzybów rosnących w tej temperaturze w pożywce o a_w 0,850 (0,043 U/ml) oraz od aktywności lipolitycznej grzybów hodowanym w temp. 25 °C w pożywce z tym olejem przy a_w 0,950 i 0,995 (odpowiednio 0,045 i 0,030 U/ml) (tab. 1). Zawartość suchej masy grzybni szczepów hodowanych w pożywkach z tym olejem wahała się od 1,366 mg/ml (25 °C, a_w 0,850) do 5,087 mg/ml (25 °C, a_w 0,995) i tylko te wartości różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) (tab. 1).

Z kolei w pożywkach z olejem sojowym najwyższą aktywność lipolityczną grzybów (0,107 U/ml) stwierdzono w hodowlach prowadzonych w temp. 15 °C przy a_w 0,850. Aktywność lipolityczna szczepów różniła się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) jedynie w pożywkach o a_w 0,950, uzyskując w obu temperaturach taką samą wartość równą 0,037 U/ml (tab. 2). Zawartość suchej masy grzybni wahała się od 0,100 mg/ml (15 °C, a_w 0,900) do 1,267 mg/ml (25 °C, a_w 0,995), przy czym nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic ($p \leq 0,05$) (tab.2).

Najwyższą aktywność lipolityczną grzybów w pożywkach z olejem słonecznikowym (0,122 U/ml) stwierdzono w temp. 25 °C w pożywce o a_w 0,950 (tab. 3). Wykazano, że istotna ($p \leq 0,05$) była różnica pomiędzy tą wartością a najniższą (0,014 U/ml), uzyskaną w hodowli w tej samej temperaturze w pożywce o a_w 0,995 (tab. 3). Najwyższą zawartość suchej masy grzybni (3,974 mg/ml) stwierdzono po hodowli szczepów w temp. 25 °C w pożywce o a_w 0,950, a najniższą (1,761 mg/ml) po hodowli w 15 °C w pożywce o a_w 0,850 (tab. 3).

Niezależnie od rodzaju oleju dodanego do pożywki, szczepy hodowane w temp. 15 °C rosły słabiej niż w temp. 25 °C. Aktywność lipolityczna szczepów hodowanych w pożywkach z olejami roślinnymi w temp. 15 °C była wyższa niż rosnących w 25 °C. Dowiedziono, że w temp. 15 °C przy a_w 0,950 aktywność lipolityczna szczepów rosnących w pożywce z olejem rzepakowym była 2,72 razy wyższa niż szczepów hodowanych w tych samych warunkach temperatury i a_w , ale w pożywce z olejem sojowym. Czynnikiowa analiza wariancji wykazała, że aktywność lipolityczna *Penicillium chrysogenum* była zależna zarówno od a_w pożywki, jak i rodzaju dodanego oleju.

Tabela 1. Aktywność lipolityczna i zawartość suchej masy grzybni szczepów *P. chrysogenum* po pięciu dobach hodowli w pożywce płynnej z olejem rzepakowym.Table 1. Lipolytic activity and dry mass content of mycelium of *P. chrysogenum* strains after 5-day incubation in liquid culture medium with rapeseed oil.

Olej Oil	Temp. Temp. [°C]	Aktywność wody Water activity [a _w]	Aktywność lipolityczna [U/ml] Lipolytic activity [U/ml]			Sucha masa [mg/ml] Dry mass [mg/ml]		
			$\bar{x} \pm s / SD$	x _{min.}	x _{max.}	$\bar{x} \pm s / SD$	x _{min.}	x _{max.}
			Rzepakowy / Rapeseed	15	0,850	0,043 ^{ab} ± 0,023	0,017	0,070
0,900	0,108 ^{acd} ± 0,021	0,087			0,133	2,570 ± 1,929	0,867	4,467
0,950	0,101 ^{bc} ± 0,031	0,058			0,133	2,937 ± 2,435	0,683	5,134
0,995	0,075 ± 0,067	0,010			0,133	2,867 ± 3,080	0,150	5,570
25	0,850	0,059 ± 0,030		0,033	0,098	1,366 ^A ± 0,833	0,383	2,181
	0,900	0,075 ± 0,041		0,037	0,133	2,051 ± 1,792	0,367	3,784
	0,950	0,045 ^c ± 0,010		0,033	0,055	2,179 ± 1,959	0,417	3,920
	0,995	0,030 ^d ± 0,055		0,000	0,112	5,087 ^A ± 4,604	1,083	9,108

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; x_{min.} – wartość minimalna / minimum value; x_{max.} – wartość maksymalna / maximum value; wartości średnich oznaczonych tymi samymi literami (aa, AA, bb, cc, dd, ee) różnią się między sobą statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by the same letters vary statistically significantly (p < 0.05)

Tabela 2. Aktywność lipolityczna i zawartość suchej masy grzybni szczepów *P. chrysogenum* po pięciu dobach hodowli w pożywce płynnej z olejem sojowym.Table 2. Lipolytic activity and dry mass content of mycelium of *P. chrysogenum* strains after 5-day incubation in liquid culture medium with soybean oil.

Olej Oil	Temp. Temp. [°C]	Aktywność wody Water activity [a _w]	Aktywność lipolityczna [U/ml] Lipolytic activity [U/ml]			Sucha masa [mg/ml] Dry mass [mg/ml]		
			$\bar{x} \pm s / SD$	x _{min.}	x _{max.}	$\bar{x} \pm s / SD$	x _{min.}	x _{max.}
			Sojowy / Soybean	15	0,850	0,107 ^{ab} ± 0,029	0,065	0,133
0,900	0,063 ± 0,047	0,010			0,117	1,146 ± 1,027	0,100	2,109
0,950	0,037 ^a ± 0,034	0,003			0,083	1,159 ± 1,161	0,033	2,211
0,995	0,058 ± 0,070	0,000			0,142	2,594 ± 1,683	0,883	4,128
25	0,850	0,051 ± 0,032		0,017	0,083	2,547 ± 2,351	0,300	4,608
	0,900	0,061 ± 0,039		0,017	0,110	3,454 ± 3,064	0,517	6,112
	0,950	0,037 ^b ± 0,023		0,017	0,070	2,072 ± 1,848	0,267	3,826
	0,995	0,064 ± 0,074		0,000	0,130	3,957 ± 3,088	1,267	6,703

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; x_{min.} – wartość minimalna / minimum value; x_{max.} – wartość maksymalna / maximum value; wartości średnich oznaczonych tymi samymi literami (aa, bb) różnią się między sobą statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by the same letters vary statistically significantly (p < 0.05).

Tabela 3. Aktywność lipolityczna i zawartość suchej masy grzybni szczepów *P. chrysogenum* po pięciu dobach hodowli w pożywce płynnej z olejem słonecznikowym.Table 3. Lipolytic activity and dry mass content of mycelium of *P. chrysogenum* strains after 5-day incubation in liquid culture medium with sunflower oil.

Olej Oil	Temp. Temp. [°C]	Aktywność wody Water activity [a _w]	Aktywność lipolityczna [U/ml] Lipolytic activity [U/ml]			Sucha masa [mg/ml] Dry mass [mg/ml]		
			$\bar{x} \pm s / SD$	x _{min.}	x _{max.}	$\bar{x} \pm s / SD$	x _{min.}	x _{max.}
Słonecznikowy / sunflower	15	0,850	0,079 ^a ± 0,040	0,042	0,135	1,761 ± 0,870	0,733	2,540
		0,900	0,070 ± 0,037	0,017	0,098	2,181 ± 1,884	0,167	3,820
		0,950	0,062 ^b ± 0,036	0,008	0,085	2,459 ± 1,936	0,717	4,172
		0,995	0,014 ^{a c} ± 0,020	0,000	0,042	2,238 ± 2,499	0,000	4,419
	25	0,850	0,067 ± 0,014	0,050	0,083	2,663 ± 2,290	0,650	4,800
		0,900	0,070 ± 0,050	0,005	0,117	2,538 ± 2,566	0,050	4,852
		0,950	0,122 ^{b c d} ± 0,089	0,058	0,250	3,974 ± 3,887	0,583	7,350
		0,995	0,025 ^d ± 0,043	0,000	0,088	3,541 ± 3,549	0,100	6,967

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; x_{min.} – wartość minimalna / minimum value; x_{max.} – wartość maksymalna / maximum value; wartości średnich oznaczonych tymi samymi literami (aa, bb, cc, dd) różnią się między sobą statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by the same letters vary statistically significantly (p < 0.05).

Badaniem wpływu a_w pożywki na wzrost grzybów zajmowali się Sautour i wsp. [26] oraz Rosso i Robinson [24]. Cuppers i wsp. [10] opracowali model wpływu temperatury i zawartości NaCl na wzrost wybranych grzybów (*Penicillium roqueforti*, *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces variotii*, *Aspergillus niger* i *Emericella nidulans*), powodujących psucie się produktów żywnościowych. Gock i wsp. [14] badali wpływ aktywności wody, temperatury i poziomu pH na wzrost grzybów kserofilnych (*Eurotium rubrum*, *Eurotium repens*, *Wallemia sebi*, *Aspergillus penicillioides*, *Penicillium roqueforti*, *Chrysosporium xerophilum*, *Xeromyces bisporus*). Zaledwie kilka prac odnosiło się do wpływu a_w pożywki na aktywność lipolityczną grzybów. Wehtje i Adlercreutz [30] zaobserwowali, że wraz ze wzrostem a_w pożywki większa była aktywność lipolityczna *Rhizopus arrhizus*. Larsen i Jensen [18] określili wpływ temperatury i wzrastających stężeń NaCl (w zakresie od 0,2 do 7 %) na skład wolnych kwasów tłuszczowych, powstających w wyniku aktywności lipolitycznej *Penicillium roqueforti*. Z kolei Ludemann i wsp. [19] stwierdzili, że a_w (0,90, 0,95 i 1,00) i temperatura (14 i 25 °C) mają wpływ na wzrost oraz aktywność lipolityczną i proteolityczną wielu gatunków grzybów z rodzaju *Penicillium*. Dodatek NaCl wyraźnie stymulował aktywność proteolityczną wszystkich szczepów w temp. 25 °C. Nie zaobserwowano natomiast wyraźnego wpływu temperatury na aktywność lipolityczną.

Badania nad wpływem temperatury na aktywność lipolityczną (w teście z tributyriną i z olejem rzepakowym) wykazały, że większą aktywność lipolityczną zaobserwowano w temp. 25 °C w zakresie a_w od 0,995 do 0,90, natomiast na pożywce o a_w 0,850 nie stwierdzono ani wzrostu grzybni, ani strefy przejaśnienia pożywki. Najwyższa aktywność lipolityczna charakteryzowała grzyby hodowane na pożywce o a_w 0,995, zarówno w 15, jak i 25 °C [21]. Z kolei Bancercz i wsp. [3] badali wpływ składu pożywki płynnej, czasu hodowli i temperatury na aktywność lipolityczną *P. chrysogenum*. Hodowle prowadzono przez 5 dni w temp. 20 °C. W pożywce z olejem rzepakowym nie stwierdzono aktywności lipolitycznej, przy czym zawartość suchej masy grzybni wyniosła 9,2 mg/ml. W badaniach własnych wykazano natomiast, że szczepy *P. chrysogenum* hodowane w pożywce z olejem rzepakowym w temp. 15 °C charakteryzowała aktywność lipolityczna na poziomie od 0,043 do 0,108 U/ml, natomiast w temp. 25 °C od 0,030 do 0,075 U/ml. Zdecydowanie mniejsza, nieprzekraczająca wartości 5,09 mg/ml, była zawartość suchej masy grzybni. Podobnie tendencje zaobserwowano w przypadku szczepów rosnących w pożywkach z olejem sojowym. Według Bancercz i wsp. [3], aktywność lipolityczna szczepów *P. chrysogenum* osiągnęła wartość 0,0215 U/ml, podczas gdy w badaniach przeprowadzonych na potrzeby niniejszej pracy wartości aktywności lipolitycznej były wyraźnie wyższe i kształtowały się, w zależności od warunków hodowli, na poziomie od 0,037 do 0,107 U/ml. Uzyskane wyniki mogą być potwierdzeniem tezy, że biosynteza lipaz nie jest skorelowana z przyrostem masy grzybni [21].

Wnioski

1. Grzyby *Penicillium chrysogenum* zdolne są do syntezy lipaz w środowisku o szerokim zakresie aktywności wody ($0,995 \leq a_w \leq 0,850$) oraz w temp. 15 i 25 °C.
2. Na aktywność lipolityczną grzybów *Penicillium chrysogenum* największy wpływ ma synergistyczne oddziaływanie aktywności wody pożywki i rodzaju oleju.
3. Ryzyko inicjowania niekorzystnych zmian jakościowych olejów roślinnych przez enzymy lipolityczne grzybów *Penicillium chrysogenum* występuje nawet wówczas, gdy nie obserwuje się wzrostu grzybni.
4. Temperatura 15 °C i mała wilgotność środowiska ($a_w = 0,850$) nie zabezpieczają nasion roślin oleistych przed rozwojem grzybów i syntezowaniem przez nie lipaz.

Praca finansowana z projektów MNiSW 2P06R 025 30, NCN numer UMO-2012/06/A/ST5/00226

Literatura

- [1] Al-Julaifi M.Z., Al-Khaliel A.S., Elkhider K.A.: Patulin production by fungi isolated from barley locally grown in Saudi Arabia. J. King Saud Univ. Sci., 1996, **8** (1), 19-24.

- [2] Balkan B., Ertan F.: Production and properties of alpha-amylase from *Penicillium chrysogenum* and its application in starch hydrolysis. Prep. Biochem. Biotechnol., 2005, **35** (2), 169-178.
- [3] Bancercz R., Ginalska G., Fiedurek J., Gromada A.: Cultivation conditions and properties of extracellular crude lipase from the psychrotrophic fungus *Penicillium chrysogenum* 9. J. Ind. Microbiol. Biot., 2005, **32**, 253-260.
- [4] Banu A.R., Devi M.K., Gnanaprabhal G.R., Pradeep B.V., Palaniswamy M.: Production and characterization of pectinase from *Penicillium chrysogenum*. Ind. J. Sci. Technol., 2010, **3** (4), 377-381.
- [5] Biedunkiewicz A.: Grzyby pleśniowe izolowane z górnych odcinków układu oddechowego i pokarmowego zdrowych studentów medycyny weterynaryjnej. Med. Pr., 2011, **62** (3), 259-267.
- [6] Buczyńska A., Cyprowski M., Piotrowska M., Szadkowska-Stańczyk I.: Grzyby pleśniowe w powietrzu pomieszczeń biurowych – wyniki interwencji środowiskowej. Med. Pr., 2007, **58** (6), 521-525.
- [7] Cho H.Y., Bancercz R., Ginalska G., Leonowicz A., Cho N.S., Ohga S.: Culture conditions of psychrotrophic fungus *Penicillium chrysogenum* and its lipase characteristics. J. Faculty. Agr. Kyushu Univ., 2007, **52** (2), 281-286.
- [8] Chopra A.K., Chander H., Singh J.: Lipolytic activity of *Syncephalastrum racemosum*. J. Dairy Sci., 1982, **65**, 1890-1894.
- [9] Colen G., Junqueira G.R., Moraes-Santos T.: Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil. World J. Microb. Biot., 2006, **22**, 881-885.
- [10] Cuppers H.G.A.M., Oomes S., Brul S.: A model for the combined effects of temperature and salt concentration on growth rate of food spoilage molds. Appl. Environ. Microbiol., 1997, **63**, 3764-3769.
- [11] Dantigny P., Guilmar A., Bensoussan M.: Basis of predictive mycology. Int. J. Food Microbiol., 2005, **100**, 187-196.
- [12] Ejdys E.: Fungi isolated in school buildings. Acta Mycol., 2007, **42** (2), 245-254.
- [13] Głowacka A., Przychodzień A., Szwedek A.: Grzyby glebowe potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka i zwierząt z leśnych terenów rekreacyjnych Łodzi. Mikol. Lek., 2007, **14** (2), 89-94.
- [14] Gock M.A., Hocking A.D., Pitt J.I., Poulos P.G.: Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. Int. J. Food Microbiol., 2003, **2481**, 11-19.
- [15] Gołofit-Szymczak M., Jeżewska A., Ławniczek-Wałczyk A., Górny R.L.: Narazenie pracowników konserwujących instalacje wentylacyjne na szkodliwe czynniki biologiczne i chemiczne. Med. Pr., 2012, **63** (6), 711-722.
- [16] Hell K., Gnonlonfin B.G.J., Kodjogbe G., Lamboni Y., Abdourhamane I.K.: Mycoflora and occurrence of aflatoxin in dried vegetables in Benin, Mali and Togo, West Africa. Int. J. Food Microbiol., 2009, **135** (2), 99-104.
- [17] Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P.: Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agriculture commodities. Crop Prot., 2008, **27**, 891-905.
- [18] Larsen M.D., Jensen K.: The effects of environmental conditions on the lipolytic activity of strains of *Penicillium roqueforti*. Int. J. Food Microbiol., 1999, **46**, 159-166.
- [19] Ludemann V., Pose G., Pollio M.L., Segura J.: Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of *Penicillium* strains isolated from Argentinean salami. Int. J. Food Microbiol., 2004, **96**, 13-18.
- [20] Lugauskas A., Raila A., Railiene M., Raudonienė V.: Toxic micromycetes in grain raw material during its processing. Ann. Agric. Environ. Med., 2006, **13**, 147-161.
- [21] Magan N., Jenkins N.E., Howarth J.: Lipolytic activity and degradation of rapeseed oil and rapeseed by spoilage fungi. Int. J. Food Microbiol., 1993, **19**, 217-227.
- [22] Miklaszewska B., Grajewski J.: Patogenne i alergogenne grzyby pleśniowe w otoczeniu człowieka. Alergia 2005, **2** (24), 45-50.

- [23] Płaskowska E., Korol M., Ogórek R.: Grzyby występujące w pomieszczeniach klimatyzowanych. Cz. I. Mikol. Lek., 2011, **18 (4)**, 178-186.
- [24] Rosso L., Robinson T.P.: A cardinal model to describe the effect of water activity on the growth of moulds. Int. J. Food Microbiol., 2001, **63**, 265-273.
- [25] Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. (Eds): Introduction to food- and airborne fungi (revised 6th Edition), Centraal bureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2002, p. 389.
- [26] Sautour M., Mensur S.C., Divies C., Bensoussan M., Dantigny P.: Comparision of the effects of temperature and water activity on growth rate of food spoilage moulds. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2002, **28**, 311-315.
- [27] Shukla P., Gupta K., Kango N.: Production of lipase by typer-lipolytic *Rhizous oryzae* KG-10 on low-value oil emulsions. Res. J. Microbiol., 2007, **2 (9)**, 671-677.
- [28] Soroka P.M., Cyprowski M., Szadkowska-Stańczyk I.: Narażenie zawodowe na mykotoksyny w różnych gałęziach przemysłu. Med. Pr., 2008, **59 (4)**, 333-345.
- [29] Ul-Haq I., Muchtar H., Umber H.: Production of protease by *Penicillium chrysogenum* through optimization of environmental conditions. J. Agric. Soc. Sci., 2006, **2 (1)**, 23-25.
- [30] Wehtje E., Adlercreutz P.: Water activity and substrate effects on lipase activity. Biotechnol. Bioeng., 1997, **55**, 798-805.

EFFECT OF WATER ACTIVITY AND TEMPERATURE ON GROWTH AND LIPOLYTIC ACTIVITY OF *PENICILLIUM CHRYSOGENUM* STRAINS IN LIQUID CULTURE MEDIA WITH PLANT OILS

S u m m a r y

Penicillium chrysogenum strains, isolated from rapeseeds, soybean, and sunflower seeds, were incubated in a liquid medium with rapeseed oil, soybean oil, and sunflower oil added. The effects of water activity (a_w) of the medium (0.995; 0.950; 0.900; 0.850) and temperature (15 and 25 °C) were studied on the dry mass content of mycelium and on the lipolytic activity. The growth of the mycelium of the strains analyzed varied depending on a_w and temperature. The lipolytic activity at a temperature of 15 °C was higher than that at a temperature of 25 °C. The highest lipolytic activity of *P. chrysogenum* strains was reported at a temperature of 15 °C at the lowest tested water activity of the culture medium ($a_w = 0.850$). The results obtained prove that the lipolytic enzymes produced by the strains of that fungus can initiate disadvantageous quality changes in oils, and this is possible even where there is no visible growth of the mycelium.

Key words: *Penicillium chrysogenum*, dry mass of mycelium, lipolytic activity, liquid culture media, plant oils ☒