

MAŁGORZATA MIZIELIŃSKA, PAULA JANKOWSKA, AGNIESZKA BIEŃ,
ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, ARTUR BARTKOWIAK

OCENA ZDOLNOŚCI WYBRANYCH SZCZEPÓW GRZYBÓW Z GROMADY *BASIDIOMYCOTA* DO SYNTEZY LIPAZ ORAZ ESTERAZ

Streszczenie

Do głównych producentów lipaz o komercyjnym znaczeniu należą grzyby rodzaju: *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* i *Penicillium*. Szacuje się, że dotychczas scharakteryzowano jedynie 1 ÷ 2 % całej populacji grzybów. Istnieje więc duże prawdopodobieństwo możliwości odkrycia nowych szczepów grzybów, mających właściwości lipolityczne. Celem pracy było sprawdzenie czy wybrane gatunki grzybów należących do gromady *Basidiomycota* wykazują zdolność do syntetyzowania lipaz oraz esteraz. Analizowano także wpływ wybranych źródeł węgla na aktywność lipolityczną badanych grzybów. Materiał do badań stanowiło 30 szczepów należących do gromady grzybów podstawkowych *Basidiomycota*.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że gatunki: *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria* sp., *R. turci*, *S17 Mycena* sp., *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus* sp., *S. variegatus* i *T. sulphureum* wykazywały zdolność do produkcji lipaz. Wykazano, że rodzaj źródła węgla dodanego do podłoża hodowlanego miał istotny wpływ na aktywność lipolityczną grzybów podstawkowych. Gatunki: *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum* i *L. edodes* nie syntetyzowały esteraz.

Słowa kluczowe: gromada *Basidiomycota*, lipazy, esterazy, rodzaj źródła węgla

Wprowadzenie

W przemyśle spożywczym lipazy używane są do syntezy strukturyzowanych triacylogliceroli, produkcji estrów sacharydów oraz otrzymywania niskocząsteczkowych estrów smakowo-zapachowych. Strukturyzowane triacyloglicerole (sTAG) to inaczej

Dr inż. M. Mizielńska, mgr inż. P. Jankowska, mgr inż. A. Bień, mgr inż. Ł. Łopusiewicz, prof. dr hab. inż. A. Bartkowiak, Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Kłemenśa Janickiego 35, 71- 270 Szczecin. Kontakt: malgorzata.mizielinska@zut.edu.pl

lipidy o pożądanej budowie strukturalnej. Położenie łańcuchów kwasów tłuszczowych w glicerydzie oraz ich kompozycja determinują walory żywieniowe lipidów. Mają również istotny wpływ na ich właściwości fizykochemiczne, takie jak: stabilność oksydacyjna, temperatura krzepnięcia i temperatura topnienia. Lipazy poprzez ukierunkowaną modyfikację struktury tłuszczów umożliwiają otrzymywanie lipidów o cennych walorach żywieniowych [1, 3, 4, 17]. Przykładem pozyskiwanych w ten sposób produktów są: tańszy substytut masła kakaowego, substytut mleka ludzkiego, tłuszcze o obniżonej kaloryczności, tłuszcze bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, a także tłuszcze o właściwościach prozdrowotnych [2, 9]. Do znanych preparatów enzymatycznych stosowanych do restrukturyzacji tłuszczów należą: Novozym®435 i Lipozyme®RMIM (Novozymes A/S, Dania) [15]. Wiadomo również, że immobilizowana lipaza syntetyzowana przez *Mucor miehei* wykorzystywana jest do biosyntezy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych *omega-3* w oleju kukurydzianym, słonecznikowym, sojowym, arachidowym oraz w oliwie z oliwek [9]. Kolejną możliwością zastosowania lipaz jest synteza estrów sacharydów. Związki te pełnią głównie rolę stabilizatorów i emulgatorów produktów spożywczych. Dodatek estrów sacharydów do produkcji sproszkowanych przypraw, sosów i mleka ułatwia ich rozpuszczanie się w wodzie oraz zapobiega zbrylaniu. Użyte w piekarnictwie i cukiernictwie lipazy pozwalają wydłużyć okres przydatności do spożycia oraz zwiększyć kruchość i objętość ciast po wypieku. W procesie produkcji czekolady zapobiegają tworzeniu się na jej powierzchni nalotu wykrystalizowanego tłuszczu, a dodane do lodów przeciwdziałają wydzielaniu się tłuszczów podczas zamrażania. Estrów sacharozu używa się również do wyrobu kiełbas, prasowanych szynek i past rybnych, aby zwiększyć w nich zawartość wody oraz poprawić ich elastyczność [2]. Liczne i wyjątkowe właściwości lipaz sprawiają, że jako biokatalizatory mają one niemal nieograniczone możliwości wszechstronnego zastosowania w przemyśle spożywczym [3, 4].

Grzyby stanowią jedno z głównych źródeł lipaz do zastosowań przemysłowych. Najczęściej pozyskuje się z nich lipazy zewnątrzkomórkowe, gdyż są dużo prostsze do oddzielenia w czystej postaci od lipaz wewnątrzkomórkowych [7, 10]. Lipazy grzybowe, które są najczęściej wykorzystywane w technologiach przemysłowych to monomery o masie cząsteczkowej $(30 \div 60) \cdot 10^3$ Da, pochodzące z drożdży i grzybów nitkowatych. Do głównych producentów lipaz o komercyjnym znaczeniu należą grzyby rodzaju: *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* i *Penicillium* [16, 18]. Szacuje się, że dotychczas scharakteryzowano jedynie 1 ÷ 2 % całej populacji grzybów. Istnieje więc duże prawdopodobieństwo odkrycia nowych szczepów grzybów mających właściwości lipolityczne [3, 4].

Celem pracy było sprawdzenie czy wybrane gatunki grzybów należących do gromady *Basidiomycota* wykazują zdolność do syntetyzowania lipaz oraz esteraz. Prze-

analizowano także wpływ wybranych źródeł węgla na aktywność lipolityczną badanych grzybów.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym były szczepy 30 gatunków należących do gromady grzybów podstawkowych *Basidiomycota*: *Amanitacitrina*, *Armillariamellea*, *Auriscalpium vulgare*, *Calocera cornea*, *Cyathus striatus*, *Daedaleopsis confragosa*, *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Hypholoma lateritium*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Laccariaa methystina*, *Lactarius camphoratus*, *Lactarius vellereus*, *Lentinula edodes*, *Lycoperdon perlatum*, *Macrolepiota konradii*, *Paxillus involutus*, *Phallus impudicus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Ramaria sp.*, *Rhodocollybia butyracea*, *Russulaturci*, *S17 Mycena sp.*, *Schizophyllum commune*, *Scleroderma citrinum*, *Stereum hirsutum*, *Strobilurus sp.*, *Suillus variegatus*, *Tricholma sulphureum*. W badaniach wykorzystano również szczep *Yarrowia lipolytica*, który stanowił próbę kontrolną. Szczepy grzybów pochodziły z kolekcji Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa ZUT w Szczecinie.

Do hodowli grzybów używano pożywki Potato Dextrose Agar (PDA, Merck, Niemcy). Podłoża przygotowywano zgodnie z wytycznymi firmy. W przygotowywanych pożywkach stosowano także: olej słonecznikowy, olej rzepakowy oraz oliwę z oliwek. Oleje oraz oliwę zakupiono w sieci handlowej w Szczecinie. Wszystkie pozostałe odczynniki, których używano w trakcie realizacji doświadczeń, zakupiono w firmie Sigma i Scharlau Chemie S.A (USA).

Szczepy wymienionych gatunków grzybów izolowano z owocników. Do tego celu używano jałowej ezy, za pomocą której pobierano skrawki trzonu zawierające kawałek grzybni. Pozyskane izolaty umieszczano na płytkach Petriego z podłożem hodowlanym Potato Dextrose Agar, z dodatkiem chloramfenikolu o stężeniu 50 mg/l.

Po zaszczepieniu podłoża PDA badanymi gatunkami grzybów każdą z płytek zaklejano parafilmem i inkubowano przez 10 dni w cieplarni, w temp. 24 °C.

W celu określenia zdolności badanych gatunków grzybów do wytwarzania indukowanej lipazy wykonywano badania przesiewowe, w których stosowano różne substraty (tab. 1). Doświadczenie to miało na celu porównanie zdolności badanych gatunków grzybów do konwersji różnych źródeł węgla. Dodatkowo badano zdolność wymienionych grzybów do wytwarzania esteraz.

Tabela 1. Podłoża hodowlane do biosyntezy lipaz (a, b, c, d) oraz esteraz (e)

Table 1. Culture media for lipase (a, b, c, d) and esterase synthesis (e)

Składniki podłoża Components of medium [g/l]	Podłoże agarowe z dodatkiem: / Agar medium with:				
	olejów roślinnych i rodaminy B vegetable oils and rhodamine B added	gumy arabskiej, oliwy z oliwek i rodaminy B Gum Arabic, olive oil, and rhodamine B added	Tweenu 80 i rodaminy B Tween 80 and rho-damine B added	tributyryny i rodaminy B tributyryn and rhodamine B	purpury bromo- krezolowej Bromocresol purple
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
Pepton Peptone	5	5	10	3	10
Ekstrakt drożdżowy Yeast extract	5	-	-	5	5
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,5	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	1	-	-	-	-
Agar	15	15	20	10	15
Ekstrakt wołowy Beef extract	-	3	-	-	-
Glukoza Glucose	10	10	10	-	-
NaCl	-	15	5	-	0,5
CaCl ₂	-	-	0,1	-	0,1
20 % Tween 80	-	-	50	-	-
Guma arabska Gum arabic	-	20	-	-	-
Tributyryna Tributyryn	-	-	-	10	-
Olej/Oliwa Oil/Olive	10	10	-	-	-
Purpura bromokrezolowa Bromocresol purple	-	-	-	-	10

Ocenę zdolności badanych gatunków do wytwarzania lipaz prowadzono przy użyciu transiluminatora MultiDoc-It Digital Imagine System (UV) (Ultra-Violet Products Ltd., Wielka Brytania). Aktywność lipolityczną grzybów monitorowano poprzez pomiar fluorescencji spowodowanej uwolnieniem kwasów tłuszczowych w wyniku działania lipazy. Po 4 dniach inkubacji grzybów na pożywkach opisanych w tab. 1. płytki wyciągano z inkubatora, następnie każdą z nich obserwowano w świetle UV

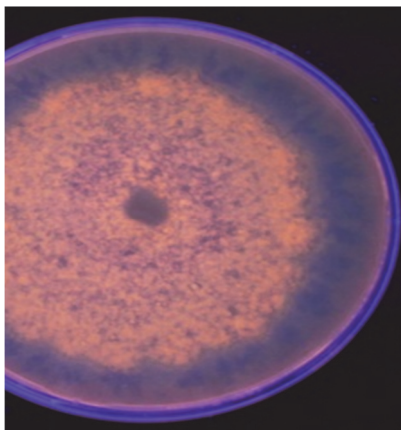
o długości fali $\lambda = 350$ nm. Próbkę kontrolną stanowiła hodowla szczepu *Y. lipolytica*. Za wynik pozytywny uznawano świecące pomarańczowo strefy wokół kolonii grzyba. Uwzględniano rozmiar świecącej strefy oraz intensywność fluorescencji, na podstawie których opracowano skalę oceny. Hodowle o największej świecącej strefie wokół grzyba (o średnicy $70 \div 90$ mm) i najintensywniejszej fluorescencji oznaczano jako (++++), hodowle o intensywnej fluorescencji i mniejszych strefach (o średnicach $40 \div 70$ mm oraz $20 \div 40$ mm) odpowiednio: (+++) i (++) , natomiast hodowle o najmniejszej strefie (o średnicy poniżej 20 mm) i najsłabszej intensywności fluorescencji oznaczano jako (+). Hodowle, w których nie zaobserwowano fluorescencji oznaczono (-).

Ocenę zdolności do wytwarzania esteraz prowadzono po 4 dniach inkubacji w temp. 24 °C. Wskaźnikiem świadczącym o zdolności badanych gatunków do syntezy esteraz była zmiana zabarwienia podłoża z żółtego na fioletowy. Opracowano skalę oceny. Hodowle o największej średnicy fioletowej strefy podłoża ($70 \div 90$ mm) oznaczano jako (++++), hodowle o średnicach stref od $40 \div 70$ mm oraz $20 \div 40$ mm odpowiednio: (+++) i (++) , natomiast hodowle o najmniejszej średnicy strefy poniżej 20 mm oznaczano jako (+). Hodowle, w których nie zaobserwowano zmiany barwy podłoża oznaczano (-).

Wyniki i dyskusja

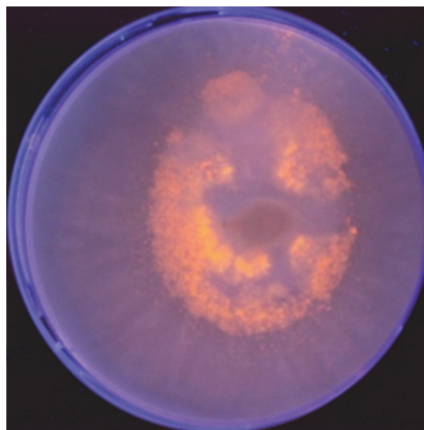
Na podstawie badań stwierdzono, że średnice świecących stref, świadczących o aktywności lipolitycznej oraz ich intensywność były zróżnicowane w zależności od gatunku grzyba. Zależały one także od rodzaju podłoża, co potwierdziło zależność średnic stref od wprowadzonego do pożywki źródła węgla (fot. 1 - 5, tab. 2).

Fluoryzujące pomarańczowo strefy wystąpiły prawie wokół wszystkich kolonii badanych grzybów. Pomarańczowa fluorescencja nie pojawiła się zaledwie w przypadku 3 hodowli na podłożu z gumą arabską i oliwą z oliwek (*C. striatus*, *L. camphoratus* i *Strobilurus sp.*) oraz w 5 hodowlach na pożywce z Tweenem 80 (*P. involutus*, *P. eryngii*, *L. edodes*, *S. hirsutum*, *Strobilurus sp.*) (tab. 2). Do gatunków wykazujących zdolność do syntezy lipaz na stosowanych podłożach należały: *A. citrina*, *A. mellea*, *D. confragosa*, *R. turci*, *S. variegatus*, *T. sulphureum* i *G. applanatum*. Z kolei gatunki, które przejawiały bardzo niewielką aktywność lipolityczną, niezależnie od użytego źródła węgla, to: *P. impudicus*, *P. eryngii*, *P. ostreatus* i *L. edodes* (tab. 2).



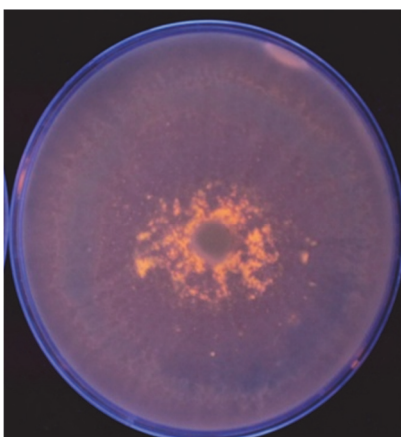
++++

Fot. 1. Obraz hodowli *D. confragosa* na podłożu z oliwą z oliwek
Photo 1. Image of *D. confragosa* culture on medium containing olive oil



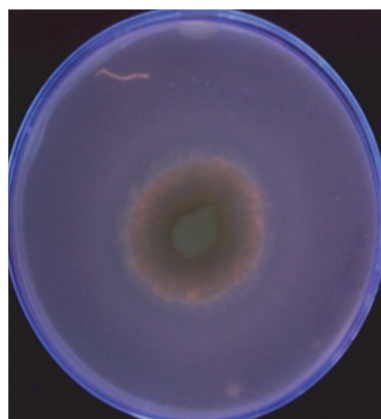
+++

Fot. 2. Obraz hodowli *L. vellerus* na podłożu z oliwą z oliwek
Photo 2. Image of *L. vellerus* culture on medium containing olive oil



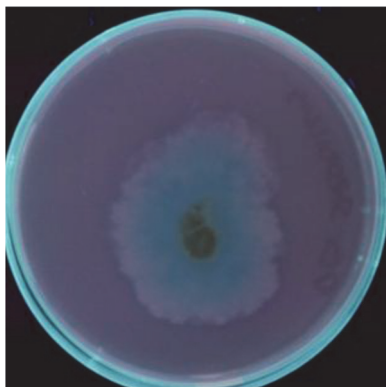
++

Fot. 3. Obraz hodowli *S. citrinum* na podłożu z olejem rzepakowym
Photo 3. Image of *S. citrinum* culture on medium containing rapeseed oil



+

Fot. 4. Obraz hodowli *G. lucidum* na podłożu z gumą arabską i oliwą z oliwek
Photo 4. Image of *G. lucidum* culture on medium containing gum arabic and olive oil



Fot. 5. Obraz hodowli *Strobilurus sp.* na podłożu z gumą arabską i oliwą z oliwek
Photo 5. Image of *Strobilurus sp.* culture on medium containing gum arabic and olive oil

Tabela 2. Zdolność wybranych grzybów z gromady *Basidiomycota* do syntezy lipaz w zależności od rodzaju źródła węgla

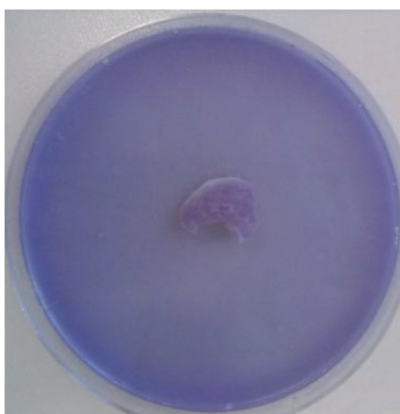
Table 2. Ability of selected fungi in *Basidiomycota* phylum to synthesize lipase depending on the type of carbon source

Gatunek grzyba Fungal species	Oliwa i guma arabska Olive Oil and gum arabic	Oliwa Olive oil	Olej słonecznikowy Sunflower oil	Olej rzepakowy Rapeseed oil	Tributyryna Tributyryn	Tween 80
<i>A. citrine</i>	++	++++	++++	++++	+++	+
<i>A. mellea</i>	++++	++++	++++	++++	+++	+
<i>A. vulgare</i>	++	++++	+++	++++	++	+
<i>C. cornea</i>	+	++	++	++	+++	+
<i>C. striatus</i>	-	+++	+++	+++	++	+
<i>D. confragosa</i>	++	++++	++++	++++	+++	+
<i>G. applanatum</i>	++	+++	+++	+++	+++	+
<i>G. lucidum</i>	+	+	++	+	++	++
<i>H. lateritium</i>	+	++	++	+++	++++	+
<i>K. mutabilis</i>	++++	+	+	+	+	+
<i>L. amethystina</i>	+++	+++	+	+	+++	+
<i>L. camphoratus</i>	-	+++	+++	+++	++	+
<i>L. vellereus</i>	++	+++	+	+	+	+
<i>L. edodes</i>	++	+	+	+	+	-
<i>L. perlatum</i>	+	++	++	++	++++	++
<i>M. konradii</i>	+	+	+	++	+	+
<i>P. involutus</i>	+	++++	++	++++	+	-
<i>P. impudicus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>P. eryngii</i>	++	+	+	+	+	-

Gatunek grzyba Fungal species	Oliwa i guma arabska Olive Oil and gum arabic	Oliwa Olive oil	Olej słonecznikowy Sunflower oil	Olej rzepakowy Rapeseed oil	Tributyryna Tributyryn	Tween 80
<i>P. ostreatus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Ramaria sp.</i> ,	++	+	+	+	+++	+
<i>R. butyracea</i>	+++	++	++	++++	+++	+
<i>R. turci</i>	+	++++	++++	++++	++	+
<i>S17 Mycena sp.</i>	++	++	+	++	++++	++
<i>S. commune</i>	++++	++	++	++	+++	+
<i>S. citrinum</i>	++	++	++	++++	+++	+
<i>S. hirsutum</i>	+++	++++	++++	++	++	-
<i>Strobilurus sp.</i>	-	+++	+	+	+++	-
<i>S. variegatus</i>	++	+++	+++	+++	++	++
<i>T. sulphureum</i>	++	++++	+++	++++	+++	+

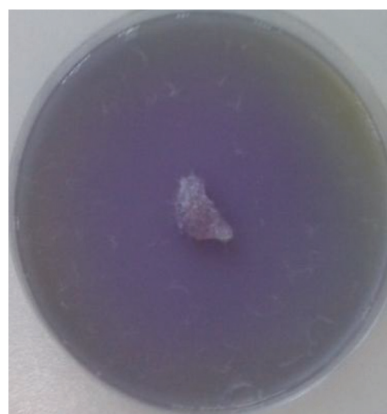
Lipazy są cennym substratem wielu procesów, stąd ich zastosowanie w technologii żywności może być szerokie. Niewiele jest jednak badań na temat zdolności grzybów wielkoowocnikowych do syntezy lipaz. Została ona potwierdzona w przypadku takich gatunków, jak: *Bjerkandera adusta*, *Antrodia cinnamomea*, *Agaricus bisporus* i *Lentinus edodes* [12, 13, 16].

W trakcie doświadczeń dokonano także oceny zdolności badanych gatunków podstawczaków do biosyntezy esteraz na podstawie zmiany barwy podłoża z żółtej na niebieską. Wielkość strefy niebieskiego zabarwienia – w skali od (++++) do (-) – świadczyła o intensywności syntetyzowania esteraz przez analizowane gatunki grzybów (fot. 6 - 10).



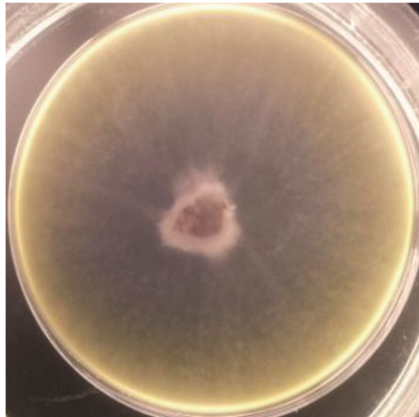
++++

Fot. 6. Obraz hodowli *S. variegatus*
Photo 6. Image of *S. variegates* culture



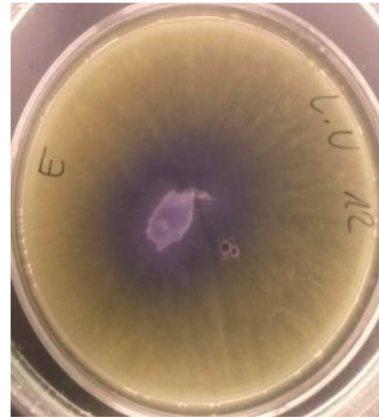
+++

Fot. 7. Obraz hodowli *A. citrina*
Photo 7. Image of *A. citrina* culture



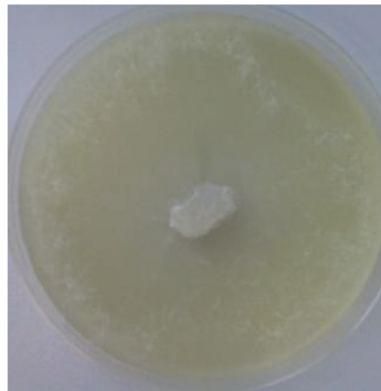
++

Fot. 8. Obraz hodowli *L. amethystina*
Photo 8. Image of *L. amethystina* culture



+

Fot. 9. Obraz hodowli *L. vellereus*
Photo 9. Image of *L. vellereus* culture



-

Fot. 10. Obraz hodowli *S. citrinum*
Photo 10. Image of *S. citrinum* culture

Stwierdzono, że nie wszystkie gatunki analizowanych w pracy grzybów podstawkowych miały zdolność do wytwarzania esteraz (tab. 3). Zdolności tej nie wykazywały gatunki *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum*, *L. edodes*, pomimo że w hodowli w pożywce z Tweenem 80 oraz z dodatkiem tributyriny charakteryzowały się zdolnością do syntetyzowania lipaz. Największą aktywnością esteraz cechowały się gatunki: *C. striatus*, *D. confragosa*, *L. perlatum*, *M. konradii*, *P. involutus* i *S. variegatus*.

Tabela 3. Zdolność wybranych grzybów z gromady *Basidiomycota* do syntezy esterazTable 3. Ability of selected fungi in *Basidiomycota* phylum to synthesise esterases

Gatunek grzyba Fungal species	Synteza esteraz Synthesis of esterases	Gatunek grzyba Fungal species	Synteza esteraz Synthesis of esterases
<i>A. citrina</i>	+++	<i>M. konradii</i>	++++
<i>A. mellea</i>	+++	<i>P. involutus</i>	++++
<i>A. vulgare</i>	+++	<i>P. impudicus</i>	+++
<i>C. cornea</i>	++	<i>P. eryngii</i>	+++
<i>C. striatus</i>	++++	<i>P. ostreatus</i>	+
<i>D. confragosa</i>	++++	<i>Ramaria sp.</i>	+++
<i>G. applanatum</i>	+	<i>R. butyracea</i>	-
<i>G. lucidum</i>	-	<i>R. turci</i>	+
<i>H. lateritium</i>	+++	<i>S17 Mycena sp.</i>	+++
<i>K. mutabilis</i>	+	<i>S. commune</i>	++
<i>L. amethystina</i>	++	<i>S. citrinum</i>	-
<i>L. camphoratus</i>	++	<i>S. hirsutum</i>	+++
<i>L. vellereus</i>	+	<i>Strobilurus sp.</i>	+++
<i>L. edodes</i>	-	<i>S. variegatus</i>	++++
<i>L. perlatum</i>	++++	<i>T. sulphureum</i>	+

Eichlerová i wsp. [6] przeprowadzili badanie aktywności enzymatycznej (w tym lipaz i esteraz) 111 gatunków *Basidiomycota*. Uwzględniono m.in. gatunki: *D. confragosa*, *A. mellea*, *G. applanatum*, *L. edodes*, *L. perlatum*, *P. ostreatus* oraz *R. butyracea*. Wymienieni autorzy wykazali, że *A. mellea*, *D. confragosa*, *G. applanatum*, *L. perlatum*, *P. ostreatus* i *R. butyracea* przejawiają zdolność biosyntezy lipaz, co potwierdzono w badaniach własnych. W przypadku *L. edodes* autorzy [6] użyli do testu 3 szczepów tego gatunku, z czego jeden nie syntetyzował lipaz. Dowiedli oni, że zdolność do syntezy esteraz wykazują gatunki: *D. confragosa*, *G. applanatum*, *L. edodes*, *L. perlatum*, *R. butyracea* oraz *P. ostreatus*, natomiast *A. mellea* zdolności tej nie przejawia. Wyniki uzyskane przez Eichlerową i wsp. [6] w odniesieniu do esteraz nie korespondują z wynikami własnymi. W niniejszych badaniach zaobserwowano bowiem zdolność do produkcji esteraz przez *A. mellea* i jej brak w przypadku *L. edodes* i *R. butyracea*. Badania zdolności wybranych grzybów podstawkowych do wytwarzania różnych enzymów przeprowadzili także Goud i wsp. [8] oraz Krupodorova i wsp. [11]. Oba zespoły badawcze wykazały zdolność gatunków *G. lucidum* i *S. commune* do produkcji lipaz. Aktywność lipolityczną stwierdzono również w przypadku *G. applanatum*, *P. ostreatus*, *L. edodes* [11] oraz *D. confragosa* [8]. Przytoczone wyżej wyniki potwierdzono w badaniach własnych. Z kolei w obu pracach zaobserwowano brak aktywności lipaz w przypadku gatunku *P. eryngii*, w przeciwieństwie do wyników badań własnych, a Goud i wsp. [8] wykazali dodatkowo brak aktywności lipaz pochodzących z *G. ap-*

planatum. Goud i wsp. [8] oznaczyli także zdolność wybranych podstawczaków do syntezy esteraz. Uzyskane przez nich wyniki są zbieżne z rezultatami badań własnych tylko w odniesieniu do gatunku *D. confragosa*. Zespół stwierdził bowiem zdolność do produkcji esteraz przez gatunek *G. applanatum* oraz wykazał jej brak w przypadku *P. eryngii* i *G. lucidum*. Wyniki te były także odmienne od uzyskanych przez Nietera i wsp. [14], którzy potwierdzili zdolność gatunku *P. etungii* do wytwarzania esteraz. Zdolność wytwarzania lipaz na podłożach agarowych z tributyriną i czerwienią fenolową przez gatunek *S. commune* potwierdzili również Singh i wsp. [18]. Ponadto Cruz Ramírez i wsp. [5] stwierdzili aktywność lipolityczną grzybów wyizolowanych w Meksyku, wśród których zidentyfikowano rodzaj *Schizophyllum*.

W literaturze przedmiotu brak informacji na temat aktywności lipolitycznej następujących gatunków należących do *Basidiomycota*: *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria sp.*, *R. turci*, *S17 Mycena sp.*, *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus sp.*, *S. variegatus* i *T. sulphureum*, dlatego wyniki uzyskane w niniejszej pracy mogą zainicjować dalsze badania nad możliwością wykorzystania aktywności lipolitycznej wybranych gatunków grzybów podstawkowych do różnych zastosowań biotechnologicznych.

Wnioski

1. Gatunki należące do *Basidiomycota*: *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria sp.*, *R. turci*, *S17 Mycena sp.*, *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus sp.*, *S. variegatus* i *T. sulphureum* wykazują zdolność do produkcji lipaz.
2. Rodzaj źródła węgla dodanego do podłoża hodowlanego ma istotny wpływ na aktywność lipolityczną grzybów podstawkowych.
3. Gatunki *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum* i *L. edodes* nie mają zdolności wytwarzania esteraz.

Literatura

- [1] Adamczak M., Bednarski W.: Doskonalenie wybranych właściwości lipaz oraz ich zastosowanie w kontrolowanej modyfikacji lipidów. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 275-294.
- [2] Antczak T., Szczęsna-Antczak M., Patura J.: Wykorzystanie lipaz do otrzymywania estrów sacharydów, ich charakterystyka i zastosowanie. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 295-311.
- [3] Bednarski W., Adamczak M.: Właściwości lipaz oraz ich zastosowanie. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 241-274.

- [4] Bednarski W., Adamczak M., Tomasiak J., Kowalczyk M., Stasiewicz K.: Biotechnologiczna modyfikacja składu i właściwości tłuszczów odpadowych. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2005, ss. 355-371.
- [5] Cruz Ramírez M.G., Rivera-Ríos J.M., Téllez-Jurado A., Maqueda Gálvez A.P., Mercado-Flores Y., Arana-Cuenca A.: Screening for thermotolerant ligninolytic fungi with laccase, lipase, and protease activity isolated in Mexico. *J. Environ. Manag.*, 2012, **95**, 256-259.
- [6] Eichlerová I., Homolka L., Žifčáková L., Lisa P., Baldrian P.: Enzymatic systems involved in decomposition reflects the ecology and taxonomy of saprotrophic fungi. *Fungal Ecol.*, 2015, **13**, 10-22.
- [7] Gopinath S.C.B., Anbu P., Lakshmi Priya T., Hilda A.: Strategies to characterize fungal lipases for applications in medicine and dairy industry. *BioMed Res. Inter.*, 2013, **#154549**, 1-10.
- [8] Goud M.J.P., Suryam A., Lakshmi pathi V., Charya M.A.S.: Extracellular hydrolytic enzyme profiles of certain South Indian *Basidiomycetes*. *Afr. J. Biotechnol.*, 2009, **8**, 354-360.
- [9] Hasan F., Shah A.A., Hameed A.: Industrial applications of microbial lipases. *Enzym. Microb. Tech.*, 2006, **39 (2)**, 235-251.
- [10] Hernández-Rodríguez B., Córdova J., Bárzana E., Favela-Torres E.: Effects of organic solvents on activity and stability of lipases produced by thermotolerant fungi in solid-state fermentation. *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, 2009, **61 (3-4)**, 136-142.
- [11] Krupodorova T., Ivanova T., Barshteyn V.: Screening of extracellular enzymatic activity of macrofungi. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, 2014, **4 (3)**, 315-318.
- [12] Lin E.S., Ko H.C.: Glucose stimulates production of the alkaline-thermostable lipase of the edible *Basidiomycete Antrodia cinnamomea*. *Enzym. Microb. Tech.*, 2005, **37 (2)**, 261-265.
- [13] Lin E.S., Wang C.C., Sung S.C.: Cultivating conditions influence lipase production by the edible *Basidiomycete Antrodia cinnamomea* in submerged culture. *Enzym. Microb. Tech.*, 2006, **39 (1)**, 98-102.
- [14] Nieter A., Haase-Aschoff P., Linke D., Nímtz M., Berger R.G.: A halotolerant type A feruloyl esterase from *Pleurotus eryngii*. *Fungal Biol.*, 2014, **118 (3)**, 348-357.
- [15] Ptasznik S., Jerzewska M., Ropelewska M.: Enzymatyczna restrukturyzacja triacylogliceroli mieszanek tłuszczowych. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. Red. E. Kołakowski, W. Bednarski, S. Bielecki. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin, 2005, ss. 313-333.
- [16] Shu C.H., Xu C.J., Lin G.C.: Purification and partial characterization of a lipase from *Antrodia cinnamomea*. *Process Biochem.*, 2006, **41 (3)**, 734-738.
- [17] Siepka M., Gładkowski W.: Właściwości i zastosowanie lipaz w biotechnologii. W: Nowe trendy nauk przyrodniczych. Wyd. II. Creative Time, Kraków 2011, ss. 158-167.
- [18] Singh M.K., Singh J., Kumar M., Thakur I.S.: Novel lipase from basidiomycetes *Schizophyllum commune* ISTL04, produced by solid state fermentation of *Leucaena leucocephala* seeds. *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, 2014, **110**, 92-99.

ASSESSMENT OF ABILITY OF SELECTED FUNGAL STRAINS IN *BASIDIOMYCOTA* PHYLUM TO SYNTHESIZE LIPASES AND ESTERASES

S u m m a r y

Amidst the major producers of commercially important lipases are the following genera of fungi: *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, and *Penicillium* genus. It is estimated that only 1 to 2 % of the entire population of fungi have, by now, been characterized. Therefore, there is a high probability that new fungal strains having lipolytic properties might be discovered. The objective of the research study was to verify whether or not some selected species of fungi belonging to the *Basidiomycota* phylum have the ability to synthesize lipases and esterases. Also, the effect was analyzed of some selected sources

of carbon on the lipolytic activity of the fungi studied. The research material consisted of 30 strains of fungi from a *Basidiomycota* phylus.

Based on the research results, it was found that the genera of *A. citrina*, *A. vulgare*, *C. cornea*, *C. striatus*, *H. lateritium*, *K. mutabilis*, *L. amethystina*, *L. camphoratus*, *L. vellerus*, *M. konradii*, *P. involutus*, *P. impudicus*, *Ramaria* sp., *R. Turci*, *S17 Mycena* sp., *S. citrinum*, *S. hirsutum*, *Strobilurus* sp., *S. variegatus*, and *T. sulphureum* had the ability to produce lipases. It was proved that the type of a carbon source added to the culture medium had a significant effect on the lipolytic activity of the *Basidiomycota* fungi. The *G. lucidum*, *R. butyracea*, *S. citrinum*, and *L. edodes* genera did not synthesize esterases.

Key words: *Basidiomycota* phylum, lipases, esterases, type of carbon source ☒