

Magdalena KRĘCIDŁO¹ i Teresa KRZYŚKO-ŁUPICKA¹

WRAŻLIWOŚĆ IZOLATÓW *Trichoderma viride* ZE STREFY PRODUKCJI ZAKŁADU SPOŻYWCZEGO NA DIVOSAN FORTE

THE SENSITIVITY OF *Trichoderma viride* ISOLATES WITH PRODUCTION SURFACE AREA ON DIVOSAN FORTE

Abstrakt: Zanieczyszczenia mikrobiologiczne mogą stanowić zagrożenie podczas wytwarzania żywności, dlatego istotne jest stosowanie odpowiednich środków dezynfekcyjnych pozwalających zredukować możliwość kontaminacji produktu gotowego mikrobiotą towarzyszącą procesowi produkcji. Celem badań była ocena wpływu preparatu Divosan Forte (DF) na szczepy *Trichoderma viride*, wyizolowane ze strefy produkcyjnej jednego z zakładów produkcji spożywczej. Materiał badawczy stanowiły szczepy *T. viride* 21 i *T. viride* 56 wyizolowane metodą selekcyjną z powierzchni technologicznej zakładu produkującego żywność. Stosowany do dezynfekcji linii technologicznej Divosan Forte (DF) testowano w przeliczeniu na czysty kwas nadoctowy w stężeniach objętościowych 0,15; 0,30 i 0,60% (v/v). Aktywność fungistatyczną preparatu DF na testowane szczepy przeprowadzono metodą zatrufania podłoża. Wyniki przedstawiono jako przyrost grzybni badanych szczepów. Preparat DF niezależnie od zastosowanego stężenia, w porównaniu do kontroli, stymulował wzrost badanych szczepów *T. viride*. Po 4 dobach odnotowano większy o blisko 50% liniowy wzrost grzybni *T. viride* 56 w porównaniu do kontroli. Wolniejszy, ale wyższy o 30%, w porównaniu do kontroli, był także rozwój szczepu *T. viride* 21.

Słowa kluczowe: przemysł spożywczy, *Trichoderma viride*, kwas nadoctowy, Divosan Forte

Wstęp

Zanieczyszczenia mikrobiologiczne mogące wystąpić podczas procesu produkcji stanowią jeden z istotniejszych problemów branży spożywczej. Wstępne badania wykazują, że w tym specyficznym środowisku występuje zróżnicowana mikrobiota [1].

Jednym z głównych zagrożeń na poszczególnych etapach produkcji są grzyby strzępkowe, gdyż mogą one doprowadzić do pogorszenia jakości produktu gotowego. Ryzyko kontaminacji grzybami związane jest w głównej mierze z łatwością rozprzestrzeniania się ich w środowisku oraz wytwarzaniem mykotoksyn. Dlatego w trosce o wysoką jakość i bezpieczeństwo żywności oraz zapobieganie stratom ekonomicznym należy dobrać odpowiednią technikę dezynfekcji oraz preparaty dezynfekcyjne pozwalające zredukować zanieczyszczenia strefy produkcyjnej i gotowego produktu [1-3]. Na wybór preparatu do mycia i dezynfekcji linii technologicznej oraz hali produkcyjnej wpływają: branża, specyfika i technologia produkcji [4]. Przy doborze preparatów dezynfekcyjnych należy więc zwrócić uwagę na ich spektrum działania i stężenie, skład konsorcjum mikroorganizmów oraz warunki fizykochemiczne w trakcie prowadzenia sanacji. Każde obniżenie efektywności działania preparatu dezynfekcyjnego może sprzyjać rozwojowi mikroorganizmów opornych, dominujących w strefie produkcyjnej, co w konsekwencji powoduje pogorszenie jakości produktu finalnego i zagrożenie zdrowia konsumentów [5]. Preparaty na bazie kwasu nadoctowego dedykowane są dezynfekcji w obiegu zamkniętym

¹ Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-032 Opole, email: teresak@uni.opole.pl

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'15, Jarnołtówek, 14-16.10.2015

CIP przede wszystkim dla takich branż, jak: produkcja napojów i soków owocowych, młeczarstwo i browarnictwo [6].

W branży produkcji soków i napojów owocowych najczęściej występują zanieczyszczenia drożdżami, a w młeczarskiej najistotniejsze są zanieczyszczenia bakteriami kałowymi z rodziny Enterobacteriaceae i rodzaju *Enterococcus* [7, 8]. Zanieczyszczenia grzybami strzępkowymi w tych branżach występują okazjonalnie i najczęściej pochodzą z powietrza, powierzchni produkcyjnych lub opakowań jednostkowych [9]. Dotychczas w zakładach przemysłu spożywczego stwierdzono dominację grzybów należących do rodzajów: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* [1]. Mogą one powodować nie tylko zmiany makroskopowe tzw. pleśnienie powierzchni, surowców i produktów, ale także produkować mykotoksyny. Znanych jest około 400 mykotoksyn, ale największe zagrożenie dla człowieka stanowią: alfatoksyny, ochratoksyny, trichoteceny, fumonizyny oraz zearalenon [10, 11]. Głównymi producentami aflatoksyn jest *Aspergillus flavus*, a ochratoksyn zarówno *Aspergillus*, jak i *Penicillium*. Natomiast trichoteceny, fumonizyny i zearalenon wytwarzają grzyby rodzaju *Fusarium* [11]. Związki te wykazują działanie toksyczne oraz właściwości kancerogenne, mutagenne, teratogenne i estrogenne [12, 13].

Grzyby rodzaju *Trichoderma* występują powszechnie w bioaerozolu zarówno w budynkach mieszkalnych, jak i powietrzu atmosferycznym. Zazwyczaj nie stwarzają one zagrożenia dla człowieka, a wręcz są szeroko wykorzystywane biotechnologicznie w procesach scukrzania celulozy i biologicznej ochronie roślin. *T. viride* są niepowtarzalnym źródłem wtórnych metabolitów, obecnie wyizolowano już 373 substancje o znaczeniu medycznym lub agrotechnicznym [14, 15]. Metabolity te mogą być wykorzystywane jako substancje przeciwnowotworowe i antymikrobiologiczne (fungistatyczne i przeciwwirusowe) [16]. Szczepy *T. viride* ze względu na rozbudowany kompleks enzymatyczny mogą przetrwać w niesprzyjających warunkach środowiskowych [14]. W kwaśnym środowisku nie tylko dobrze się rozwijają, ale także wykazują wysoką sprawność enzymatyczną. Jeżeli jednak szczepy *T. viride* zdominują środowisko, mogą okazać się niebezpieczne. Są odpowiedzialne m.in. za deteriorację materiałów budowlanych, a także materiałów opakowaniowych. Badania prowadzone w Skandynawii wykazały, że są one gatunkiem dominującym w wodzie pitnej [17, 18], a Vesper [19] wskazuje je jako czynnik nasilający występowanie astmy u dzieci [17, 19]. Sugeruje to, że grzyby te nabyły oporności na stosowane preparaty dezynfekcyjne albo wykazują zdolności do biodegradacji substancji czynnych preparatów, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia skuteczności dezynfekcji.

W warunkach przemysłowych stosowane są głównie preparaty dezynfekcyjne na bazie sody lub kwasów nieorganicznych, ale coraz powszechniej wykorzystuje się mniej obciążające środowisko preparaty na bazie kwasu nadoctowego. Preparaty te można mieszać z kwaśnymi środkami myjącymi, co pozwala na wykonanie mycia i dezynfekcji w jednym zabiegu. Poza tym nie stwarzają one szczególnego zagrożenia dla środowiska, gdyż tworzą sole kwasu octowego nieobciążające ścieków. Komercyjne preparaty dezynfekcyjne na bazie kwasu nadoctowego przeważnie zawierają kwas octowy, perhydrol i kwas nadoctowy w stosunku 1:1:1 [6]. W branży młeczarskiej oraz produkcji napojów i soków stosowane są głównie preparaty dezynfekcyjne na bazie kwasu nadoctowego

np. Divosan Forte (DF), w stężeniu objętościowym (v/v) 0,1% zalecanym przez producenta [20].

Celem badań była ocena wpływu preparatu Divosan Forte (DF) na szczepy *Trichoderma viride* wyizolowane ze strefy produkcyjnej jednego z zakładów produkcji spożywczej.

Materiały i metody

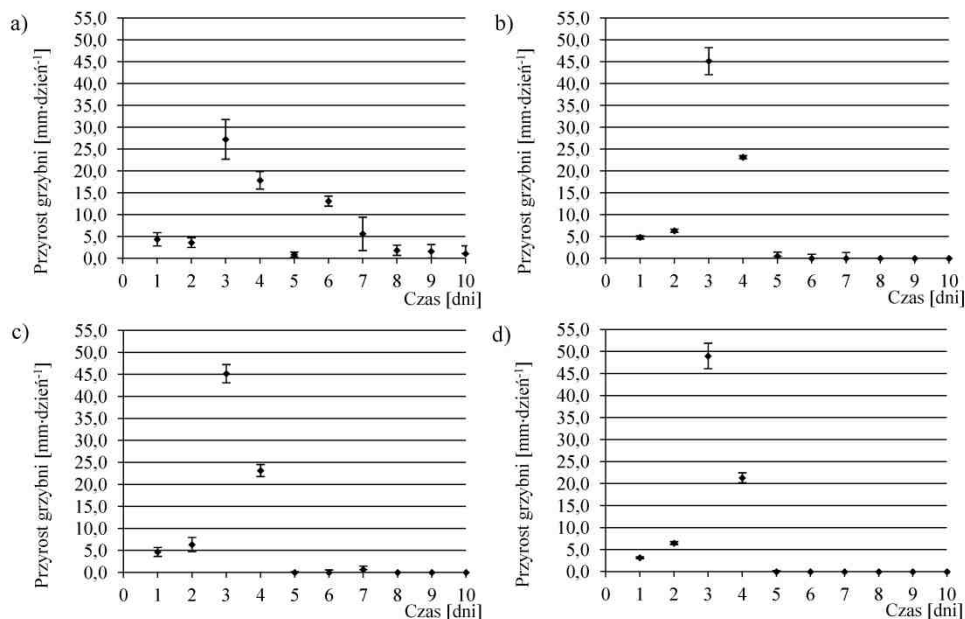
Materiał badawczy stanowiły dwa szczepy *T. viride* 21 i *T. viride* 56 wyizolowane ze strefy produkcyjnej zakładu przemysłu spożywczego metodą wymazów w podłożu selekcyjnym zawierającym DF w ilości odpowiadającej 0,1% (v/v) stężeniu kwasu nadoctowego. Wpływ preparatu DF na rozwój dwóch izolatów *T. viride* oceniano metodą zatruwania podłoża [21, 22]. Wykorzystano inokulum w formie krążków pożywki przerośniętych grzybnią o średnicy 10 mm. Inokulum otrzymano, prowadząc hodowlę testowanych szczepów *T. viride* metodą zalewową w syntetycznej pożywce Czapek Dox Agar (CYA). Upłynnione podłoże CYA inokulowano wystandaryzowaną zawiesiną zarodników o gęstości $1 \cdot 10^7$ jtk \cdot cm $^{-3}$ i inkubowano w temperaturze 25°C przez 10 dni, a następnie wycinano krążki i наносzono je centralnie na pożywkę zawierającą badany preparat dezynfekcyjny.

Aktywność preparatu dezynfekcyjnego w stężeniu odpowiadającemu procentowej zawartości kwasu nadoctowego - 0,15, 0,30 i 0,60% (v/v) oceniano w stosunku do kontroli negatywnej, którą stanowiła jałowa woda destylowana. Układy badawcze inkubowano w temperaturze 25°C. Średnicę grzybni mierzono w milimetrach, codziennie przez 10 dni. Wyniki przedstawiono jako przyrost grzybni w czasie trwania doświadczenia [mm \cdot dobę $^{-1}$]. Doświadczenie prowadzono aż do całkowitego pokrycia podłoża CYA (kontroli) przez grzybnię.

Wyniki i dyskusja

W przemyśle spożywczym istotne jest utrzymanie stanu sanitarnego zakładu na najwyższym poziomie. Ważny jest dobór preparatów dezynfekcyjnych o szerokim spektrum działania i nieobciążających środowiska. Wymagana jest jednak kontrola gatunków nabywających oporność na te dezynfektanty.

Preparat dezynfekcyjny DF niezależnie od zastosowanego stężenia w odniesieniu do izolatów *T. viride* 21 i 54 nie wykazywał działania biobójczego. Wzrost linearny grzybni każdego szczepu był wyższy w podłożu zmodyfikowanym dodatkiem preparatu w porównaniu do kontroli (podłoże wolne od DF). Oznacza to, że kwas nadoctowy w stężeniach od 0,15 do 0,6% powodował stymulację rozwoju grzybni badanych izolatów. Wyraźne przyspieszenie wzrostu grzybni obserwowano pomiędzy drugim a czwartym dniem trwania doświadczenia. Szczep *T. viride* 21 w trzecim dniu doświadczenia wykazał największy przyrost grzybni, a szybkość jego wzrostu była wyższa o 45% niż w podłożu bez preparatu. W konsekwencji w czwartym dniu trwania doświadczenia podłoże z preparatem DF całkowicie zostało pokryte grzybnią, tj. o 6 dni wcześniej niż w przypadku podłoża niemodyfikowanego (rys. 1).



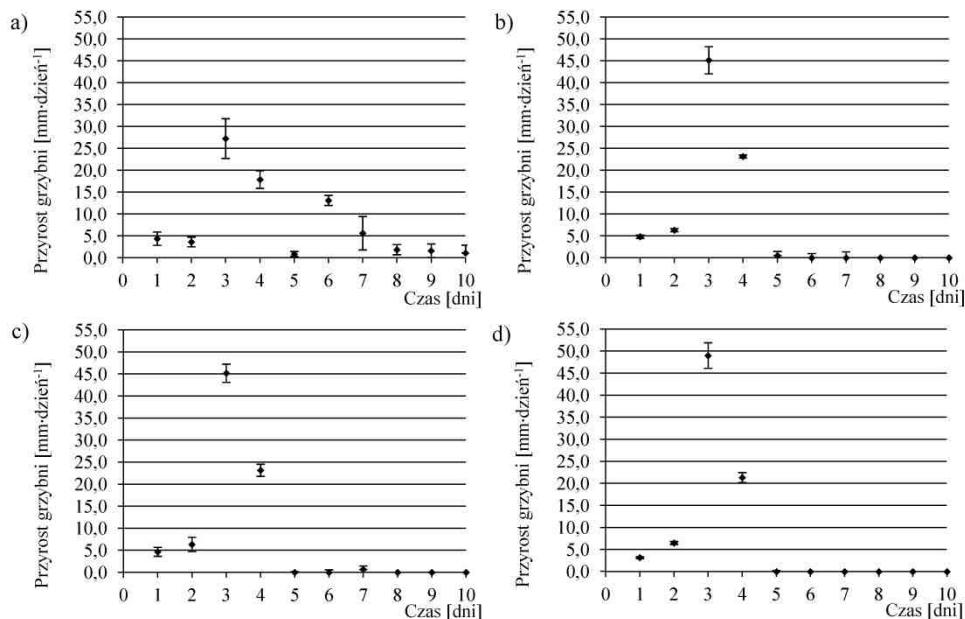
Rys. 1. Dobowy przyrost grzybni szczepu *Trichoderma viride* 21 w trakcie 10-dniowego okresu badawczego [mm-doba⁻¹ ± odchylenie standardowe]: a) próba kontrolna, b) DF w stężeniu 0,15%, c) DF w stężeniu 0,30%, d) DF w stężeniu 0,60%

Fig. 1. Daily increase of mycelium of *Tichoderma viride* 21 in duration of 10 days research period [mm-day⁻¹ ± standard deviation]: a) control sample, b) DF in concentration of 0.15%, c) DF in concentration of 0.30%, d) DF in concentration of 0.60%

Również w przypadku szczepu *T. viride* 56 w układach zawierających preparat dezynfekcyjny, niezależnie od jego stężenia, stwierdzono szybszy przyrost grzybni w porównaniu do kontroli. Stymulujące działanie preparatu DF na przyrost średnicy grzybni obserwowano od 3 do 7 dnia inkubacji, a następnie tempo rozwoju było podobne jak w kontroli. Największy przyrost grzybni odnotowano pomiędzy drugim a czwartym dniem doświadczenia. Natomiast najwyższą różnicę w szybkości jej przyrostu - pomiędzy szczepami rozwijającymi się na podłożu z dezynfektantem a kontrolnym odnotowano w czwartym dniu doświadczenia i wynosiła ona 35%. Szczep ten cechował się wolniejszym wzrostem w porównaniu do izolatu *T. viride* 21, gdyż całkowite pokrycie podłoża grzybnią zaobserwowano dopiero w 8 dniu doświadczenia (podobnie jak w przypadku podłoża kontrolnego) (rys. 2).

Uzyskane wyniki badań wykazały oporność szczepów *Trichoderma* na preparat dezynfekcyjny na bazie kwasu nadoctowego - Divosan Forte. Potwierdzeniem są doniesienia na temat ograniczonej skuteczności preparatów dezynfekcyjnych na bazie kwasu nadoctowego nie tylko w stosunku do grzybów strzępkowych. Badania przeprowadzone w magazynach żywnościowych wykazały, że 75% testowanych szczepów było całkowicie opornych na preparat zawierający kwas nadoctowy [22]. Odnotowano również oporność bakterii na tego typu preparaty, np. izolatów *Bacillus subtilis*

i *Micrococcus luteus* pochodzących z urządzeń dezynfekcyjnych [23] oraz biofilmów bakteryjnych obecnych na stali nierdzewnej [24].



Rys. 2. Dobowy przyrost grzybni szczepu *Trichoderma viride* 56 w trakcie 10-dniowego okresu badawczego [mm·doba⁻¹ ± odchylenie standardowe]: a) próba kontrolna, b) DF w stężeniu 0,15%, c) DF w stężeniu 0,30%, d) DF w stężeniu 0,60%

Fig. 2. Daily increase of mycelium of *Tichoderma viride* 56 in duration of 10 days research period [mm·day⁻¹ ± standard deviation]: a) control sample, b) DF in concentration of 0.15%, c) DF in concentration of 0.30%, d) DF in concentration of 0.60%

Do tej pory jednak preparaty utleniające stanowiły jeden z najskuteczniejszych sposobów redukcji zanieczyszczeń mykologicznych [23]. Stwierdzona oporności szczepów rodzaju *Trichoderma* na preparaty zawierające kwas nadctowy może być spowodowana przez dwa różne mechanizmy. Po pierwsze szczepy *T. viride* mogą wykazywać zdolność do włączania składników preparatów dezynfekcyjnych do szlaków metabolicznych. Dowiedziono, że szczep *T. reesei* jest w stanie metabolizować kwas octowy obecny w podłożu, a dodatkowa obecność furfuralu zwiększa poziom wydzielania celulazy [25, 26].

Drugim typem mechanizmu jest wytworzenie systemu obrony przed substancjami wchodzącymi w skład preparatu. Chambergo i in. [27] opisali u izolatów z rodzaju *Trichoderma* dysmutazę nadtlenkową Cu/Zn-SOO i Mn-SOO. Obecność tych złożonych kompleksów białkowych warunkuje oporność na stres oksydacyjny wywołany wolnymi rodnikami, cyjankiem sodu i potasu oraz pozwala na rozwój w obecności stężonego H₂O₂ [27]. Oporności na stres oksydacyjny u *T. viride* może być też związana z wydzielaniem glutatnionu i tioredukcy [28].

Zdolność do metabolizowania lub unieczynnienia niektórych składników preparatów dezynfekcyjnych stanowi poważne zagrożenie dla skuteczności mycia i dezynfekcji. Produkowane przez oporną mikrobiotę enzymy, takie jak dysmutaza nadtlenkowa czy katalaza, mogą powodować redukcję rodników tlenowych oraz obniżyć skuteczność preparatu nawet w stosunku do mikroorganizmów niewykazujących oporności na wysoki stres oksydacyjny [29].

Szeroki zakres uzdolnień enzymatycznych oraz zdolność do wzrostu i prowadzenia przemian metabolicznych w $\text{pH} < 2$ sprawiają, że grzyby rodzaju *Trichoderma* mogą być użyteczne w wielu procesach technologicznych [30]. Jednak te same cechy biochemiczne mogą powodować ich rozwój w warunkach nieprzyjaznych innym mikroorganizmom, jak np. hale produkcyjne w przemyśle spożywczym, a stosowanie kwaśnych preparatów dezynfekcyjnych może dodatkowo stymulować ich rozwój.

Pomimo że do tej pory poznano bardzo mało toksyn wytwarzanych przez szczepy *T. viride*, ich dominacja w środowisku produkcji oraz niewrażliwość na środki dezynfekcyjne może stanowić zagrożenie dla strefy produkcyjnej. Wytworzone produkty o zmienionym smaku, zapachu czy innych właściwościach świadczących o rozwoju i aktywności mikroorganizmów nie nadają się do sprzedaży i generują straty firmy. Dodatkowo nadmierne stężenie zarodników jednego gatunku w powietrzu może stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia pracowników.

Pomimo szerokiego stosowania preparatów dezynfekcyjnych na bazie kwasu nadctowego w przemyśle spożywczym należy liczyć się z ograniczoną ich skutecznością, zwłaszcza w stosunku do grzybów strzępkowych.

Podsumowanie i wnioski

Zastosowany dezynfektant nie ograniczał rozwoju izolatów *T. viride* 56 i 21. Nie uzyskano efektu biobójczego nawet przy użyciu stężeń wyższych niż zalecane przez producenta preparatu. Co więcej, obecność w podłożu preparatu DF stymulowała wzrost testowanych izolatów. Izolowane z powierzchni produkcyjnych metodą selekcyjną szczepy zarówno bakterii, jak i grzybów odporne na preparaty dezynfekcyjne mogą stanowić istotny wskaźnik skuteczności działania preparatu dezynfekcyjnego i jakości produktu finalnego w zakładach przemysłu spożywczego. Wprowadzenie tego typu wskaźników wydaje się być zasadne, zwłaszcza że pojawienie się mikrobioty odpornej może spowodować dominację jednej grupy mikroorganizmów, co jest zjawiskiem niepożądanym.

Literatura

- [1] Koszałkowska M, Kręcidło Ł, Krzyśko-Łupicka T. Microbiological analysis of bioaerosol in food industry. Proc ECOpole. 2014;8(1):43-47. DOI: 10.2429/proc.2014.8(1)005.
- [2] Larsena MH, Dalmassob M, Ingmera H, Langsrudc S, Malakauskaskd M, Madere A, et al. Persistence of foodborne pathogens and their control in primary and secondary food production chains. Food Control. 2014;44:92-109. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.03.039.
- [3] Bonetta S, Mosso S, Sampò S, Carraro E. Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. Environ Monit Assess. 2010;161:473-483. DOI: 10.1007/s10661-009-0761-8.
- [4] Olesiak P, Stępnik L. Skuteczność wybranych związków dezynfekcyjnych wobec przetrwalników *Bacillus*. Inż Ochr Środ. 2012;15(1):41-45. https://is.pcz.pl/static/pdf/2012/zeszyt1/2012_1_4-OLESIAK.pdf.

- [5] Chapman JS, Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants. *Int Biodet Biodeg.* 1998;4:241-245. DOI: 10.1016/S0964-8305(98)00025-0.
- [6] Pakulska D, Czerniak S. Kwas nadoctowy. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podst Met Oceny Środ Przyr.* 2014;1(79):25-54.
- [7] Stratford M. Food and beverage spoilage yeasts. In: Querol A, Fleet G. editors. *Yeast in Food and Beverages.* Berlin Heidelberg: Springer. 2006;335-381.
- [8] Raats D, Offek M, Minz D, Halpern M. Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food Microbiol.* 2011;28(3):465-471. DOI: 10.1016/j.fm.2010.10.009.
- [9] Nussinovitch A, Rosen B. Influence of oxygen concentration and temperature on cloud-destroying molds in aseptically filled citrus juices. *LWT-Food Sci Technol.* 2014;55(2):674-679. DOI: 10.1016/j.lwt.2013.10.003.
- [10] Wagacha JM, Muthomi JW. Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *Int J Food Microbiol.* 2008;124:1-12. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.01.008.
- [11] Tchana AN, Moundipa PF, Tchouanguep FM. Aflatoxin contamination in food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7:178-188. DOI: 10.3390/ijerph7010178.
- [12] Perkowski J, Chełkowski J, Goliński P. Occurrence of mycotoxins in cereals, plants, foods and feeds in Poland. In: Logrieco A, Visconti A. editors. *An Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe.* Dordrecht: Springer Science+Business Media. 2004;161-172. DOI: 10.1007/978-1-4020-2646-1_11.
- [13] Ibáñez-Vea M, González-Peñas E, Lizarraga E, López de Cerain A. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in barley from a northern region of Spain. *Food Chem.* 2012;132:35-42. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.10.023.
- [14] Jiang X, Geng A, He N, Li Q. New isolate of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. *J Biosci Bioeng.* 2011;111:121-127. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2010.09.004.
- [15] Crutcher FK, Parich A, Schuhmacher R, Mukherjee PK, Zeilinger S, Kenerley CM. A putative terpene cyclase, *vir4*, is responsible for the biosynthesis of volatile terpene compounds in the biocontrol fungus *Trichoderma virens*. *Fungal Genet Biol.* 2013;56:67-77. DOI: 10.1016/j.fgb.2013.05.003.
- [16] Saravanakumar K, Vivek R, Sithranga Boopath N, Yaqian L, Kathiresan K, Chen J. Anticancer potential of bioactive 16-methylheptadecanoic acid methyl ester derived from marine *Trichoderma*. *J Appl Biomed.* 2015;13:199-212. DOI: 10.1016/j.jab.2015.04.001.
- [17] Hageskal G, Lima N, Skaar I. The study of fungi in drinking water. *Mycol Res.* 2009;113:165-172. DOI: 10.1016/j.mycres.2008.10.002.
- [18] Hageskal G, Knutsen AK, Gaustad P, de Hoog GS, Skaar I. Diversity and significance of mold species in Norwegian drinking water. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72:7586-7593. DOI: 10.1128/AEM.01628-06.
- [19] Vesper SJ, McKinstry C, Yang C, Haugland RA, Kerckmar CM, Yike I, et al. Specific molds associated with asthma in water-damaged homes. *J Occup Environ Med.* 2006;48:852-858. PMID: 16902378.
- [20] http://www.pesan.pl/karty/CHEMIA%20MYJACA/Divosan_Forte_leaflet_pol.pdf (dostęp w dniu 20.05.2016).
- [21] Kumar R, Dubey NK, Tiwari OP, Tripathi YB, Sinha KK. Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stored food commodities from fungal infestation. *J Sci Food Agric.* 2007;87:1737-1742. DOI: 10.1002/jsfa.2906.
- [22] Kręciđło Ł, Krzyśko-Łupicka T. Sensitivity of molds isolated from warehouses of food production facility on selected essential oils. *Inż Ekol.* 2015;43:100-108. DOI: 10.12912/23920629/58910.
- [23] Książczyk M, Krzyżewska E, Futoma-Kołodziej B, Bugła-Płońska G. Oddziaływanie związków dezynfekcyjnych na komórki bakteryjne w kontekście bezpieczeństwa higieny i zdrowia publicznego. *Postępy Hig Med Dośw.* 2015;69:1042-1055. www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1170051.
- [24] Królasik J, Żakowska Z, Krepska M, Klimek L. Resistance of bacterial biofilms formed on stainless steel surface to disinfecting agent. *Pol J Microbiol.* 2010;59(4):281-287. <http://www.pjm.microbiology.pl/archive/vol5942010281.pdf>.
- [25] Jourdir E, Poughon L, Larroche Ch, Chaabane FB. Comprehensive study and modeling of acetic acid effect on *Trichoderma reesei* growth. *Ind Biotechnol.* 2013;9(3):132-138. DOI: 10.1089/ind.2013.0002.
- [26] Szengyel Z, Zacchi G. Effect of acetic acid and furfural on cellulase production of *Trichoderma reesei* RUT C30. *Appl Biochem Biotechnol.* 2000;89(1):31-42. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.08.007802.

- [27] Chambergo FS, Valencia EY, Ferreira-Júnior JR, Camilo CM, Campana PT. Conformational stability of recombinant manganese superoxide dismutase from the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Int J Biol Macromol.* 2012;50:19-24. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.09.015.
- [28] Wang G, Wang H, Xiong X, Chen S, Zhang D, Mitochondria thioredoxin's backup role in oxidative stress resistance in *Trichoderma reesei*. *Microbiol Res.* 2015;171: 32-38. DOI: 10.1016/j.micres.2015.01.005.
- [29] Ezzi MI, Lynch J. M. Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. *Enzyme Microb Technol.* 2005;36:849-854. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2004.03.030.
- [30] Onilude AA, Adebayo-Tayo BC, Odeniyi AO, Banjo D, Garuba EO. Comparative mycelial and spore yield by *Trichoderma viride* in batch and fed-batch cultures. *Ann Microbiol.* 2013;63:547-553. DOI: 10.1007/s13213-012-0502-z.

THE SENSITIVITY OF *Trichoderma viride* ISOLATES WITH PRODUCTION SURFACE OF FOOD AREA ON DIVOSAN FORTE

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, University of Opole

Abstract: Microbiological contamination may constitute a risk during food production. Therefore is highly important to apply appropriate disinfectant that reduces the possibility of contamination of the finished product by microorganisms associated with production process. The aim of this study was the assessment of influence of Divosan Forte disinfectant on resistant strains of *Trichoderma viride* isolated from production area of food facility. Microbial materials were two strains of *Trichoderma viride* collected from production surfaces in the food facility by selection method. Divosan Forte (DF) was the solution of peracetic acid, acetic acid and hydrogen peroxide which was applied to clean the production line. The activity of the disinfectant at volume concentrations [v/v] of 0.15, 0.30 and 0.60 percentages was evaluated with respect to the negative control (sterile distilled water). The antifungal activity of that preparation was tested by medium poisoning method. The result were shown as increase of growth [$\text{mm}\cdot\text{day}^{-1}$]. Disinfecting independently of the concentrations used, compared to the control, stimulated the growth of mycelium of the test strains. On the 4th day of the study reported a faster mycelial growth of *T. viride* 56 isolate by nearly 50% in comparison to control. Slower but 30% higher than control was growth of *T. viride* 21.

Keywords: food industry, *Trichoderma viride*, peracetic acid, Divosan Forte