Biosyntéza kyseliny citrónové na lignocelulózových materiálech

663.11
579

I. Kultivace mutanty *Aspergillus niger* LP 48 na vybraných monosacharidech

Ing. LEONA PETROVÁ, Ing. JANA PELECHOVÁ, CSc., Ing. FRANTIŠEK KVASNIČKA, CSc., Vysoká škola chemickotechnologická, Praha

Ing. LUDMILA MARTÍNKOVÁ, CSc., RNDr. EMA UJCOVÁ, CSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha

Klíčová slova: kyselina citrónová, monosacharidy, lignocelulózové odpady, vláknitá houba *Aspergillus niger*

ÚVOD

V ČSSR v současné době neexistuje výroba glukosy ani jiných sacharidů potřebných pro fermentační účely, která by nevyžádala z potravinářských surovin, tj. bilancovaného škrobu, melasy nebo sacharosy.

Zajištění potřebné surovinové základny je jedním z hlavních předpokladů pro rozvoj fermentačního biotechnologického průmyslu. Pro stát s tak malou plochou zemědělské půdy jako má ČSSR je zvláště obtížné zajištění dostatečného množství sacharidických surovin, jako je glukosa, sacharosa, melasa, škrobnaté suroviny, které jsou dosud výhradně uhlíkatými surovinami nejen při výrobě antibiotik, enzymů, organických kyselin, ale i při klasických fermentacích, jako je výroba kvasného ethanolu a pekařského droždí.

Největší nárůst spotřeby melasy je uvažován pro zajištění výroby kyseliny citrónové povrchovou fermentací a pro potenciální rozšíření o kapacitu výroby submerzním způsobem v Lachemě Kaznějov.

V posledních letech se často považují za surovinu budoucnosti pro fermentační biotechnologie lignocelulózové materiály, zvláště průmyslový dřevný odpad, dosud nevyužívaná odpadní fytohmota z lesa, zemědělské odpady a odpadní papír. Praktická aplikace dosud narážela a naráží na málo vyhovující periodický proces chemické hydrolyzy katalyzovaný minerálními kyselinami, kvalitu konstrukčního materiálu a produkci značného množství odpadních vod. Procesům ekonomičtější, modernější a ekologicky vhodnější hydrolyzy lignocelulózových materiálů je však stále věnována pozornost světového výzkumu a je pravděpodobné, že v blízké budoucnosti bude vyvinut výhodnější kontinuální proces chemické hydrolyzy. Potom bude nutno dosavadní způsoby využití lignocelulózových odpadů přehodnotit a při rebilanci vyčlenit část těchto odpadů pro posílení surovinové základny biotechnologií.

Lignocelulózové a celulosové odpady, které by podle odborné literatury přicházely v úvahu pro hydrolytické zpracování, jsou shrnuty v tab. 1. V československých podmínkách by se daly využít dřevné štěpky a smrkové piliny, odpady vzniklé při zpracování kukuřice a některé třídy sběrového papíru.

Tabulka 1. Lignocelulózové a celulosové odpadní materiály [1]

Dřevozpracující průmysl Zemědělství	piliny, dřevné štěpky kukuřičné a bavlníkové stvolky, pšeničná a rýžová sláma, baná- nové a tapiokové odpady
Bavlníkozpracující průmysl	bavlníkové liny, slupky bavlní- kových semen
Zpracování cukrové třtiny	bagasa
Průmysl zpracování rýže	rýžové slupky a otruby
Jutový průmysl	dřeň jutových stvolů
Průmysl zpracování kokosu	kokosové slupky a olej

Ke klasickým sacharidickým substrátům pro produkci kyseliny citrónové vláknitou houbou *Aspergillus niger* patří řepná a třtinová melasa, sacharosa a v západních státech také glukosový sirup. Chemické složení cukrové a třtinové melasy se v posledních letech rok od roku mění. Zvláště v důsledku vzrůstající koncentrace nesa-
charidických látek, jako jsou těžké kovy, včetně železa a manganu, dusitanů, herbicidů a insekticidů dochází ke stálému zhoršování jakosti melasy, což je příčinou častých obtíží při fermentačním procesu [2].

Z netradičních uhlíkatých substrátů studoval např. Elimer [3, 4] sójový olej a různé odpady z rafinace řepkového oleje, které obsahují 41 % kyseliny olejové a 36 % kyseliny linolové a linolenové a 15 % kyseliny erukové, palmitové a stearové. Po osmidenní kultivaci *A. niger* bylo získáno 2,72 g kyseliny citrónové na 100 ml média s konverzí 68 %.

Při použití různých škrobových hydrolyzátů závisí vý-
těžky kyseliny citrónové na stupni zcukření škrobu a na enzymovém vybavení (obsahu amylolytických enzymů) produkčního kmene [5, 6, 7, 8]. Dosti často se v odborné a patentové literatuře vyskytuje jako vhodná a levná surovina mléčná syrovátka [9, 10]. Pro výrobu kyseliny citrónové byly publikovány také laboratorní postupy s kultivací *A. niger* na sirupu odpadajícím při výrobě glukosy, případně ještě v kombinaci s hydrolyzátem rýžového šrotu [11].

Dalšími příklady netradičních surovin pro biosyntézu kyseliny citrónové je kultivace *A. niger* na rýžové břečce [12] nebo na jablečné matolině [13]. Při použití hydrolyzátů celulosových odpadů z bavlníkozpracujícího průmyslu byl proces veden dvoustupňově. V prvním stupni bylo nakultivováno dostatečné množství mycelia povrchovou fermentací na bavlníkových odpadech a ve druhém stupni — produkčním — bylo pak mycelium převedeno do média se sacharosou [14].

Hydrolyzou dřevné hmoty se získají vhodné roztoky hexos (D-glukosa, D-mannosa, D-galaktosa) a pentos (D-xylosa, L-arabiosa), jejichž obsahové zastoupení závisí na druhu lignocelulózových materiálů, na lokalitách růstu fytohmoty a klimatických podmínkách [15, 16]. Z hlediska ekonomiky fermentačního procesu je výhodné, jestliže produkční mikroorganismus je schopen využít všechny přítomné sacharidy. Za identických fermentačních podmínek má zdroj uhlíku markantní vliv na produkci kyseliny citrónové, ze sacharidických substrátů je preferována sacharosa, následuje D-glukosa, D-fruktosa a laktosa. Na D-galaktose není kyselina citrónová produkována, nebo jen v malém množství [18]. Podstata galaktosové inhibice v médiu, obsahujícím jako hlavní zdroj uhlíku glukosu, spočívá v negativním ovlivnění aktivity pyruvátkarboxylasy (E. C. 6.4.1.1), jejíž pokles odráží stupeň blokády citrátového cyklu. Galaktosa také snižuje rychlost utilizace glukosy, z čehož se dá usuzovat, že tyto dva monosacharidy soutěží o totéž transportní místo. Galaktosa tedy působí ve dvou směrech — inhibuje produkci kyseliny citrónové a ve směsi s glukosou zřejmě negativně ovlivňuje utilizaci glukosy [17].

Zajímavý je vliv methanolu na výtěžnost kyseliny citrónové při kultivaci některých kmenů *A. niger* na bázi galaktosy. Jak již bylo uvedeno, většina producentů není schopna kyselinu citrónovou z galaktosy syntetizovat nebo jen v nízkých výtěžcích. Podle výsledků některých autorů [18] přidavkem methanolu do média, v konečné koncentraci 1 % obj. se produkce kyseliny citrónové několikrát násobně zvýšila, i když se zároveň už projevila inhibičně vliv alkoholu na růst mycelia producenta. Prozatím není jasné, zda dochází pouze k utilizaci methanolu jako jednoduchého uhlíkatého zdroje, nebo zda kladně působí na permeabilitu buněčných stěn.

Maddox et al. [19] studovali biosyntézu kyseliny citrónové při submerzní kultivaci *A. niger* a kvasinky *Saccharomycopsis lipolytica* na modelových roztocích monosacharidů, které jsou zastoupeny v hydrolyzátu hemi-
celulosy dřeva. I když získané výtěžky nepřesáhly 40 %, považují autoři hydrolyzáty dřeva za perspektivní a levnou surovinu pro výrobu kyseliny citrónové.

MATERIÁL A METODIKA

Mikroorganismus

Pro pokusy byla použita UV mutanta *Aspergillus niger* LP 48 [20]. Kmen byl udržován při teplotě 4 °C na sporulační půdě následujícího složení (g/l): glukosa 91,3, NH_4NO_3 0,45, KH_2PO_4 0,072, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,12, sladový výtažek 5,30 (popř. kvasničný extrakt 2,50), agar 30,0, doplněno destilovanou vodou na objem 1 litru.

Složení média a kultivační postup

Složení inokulační půdy (g/l):

glukosa 100, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25, NH_4NO_3 2,50, KH_2PO_4 1,00, škrob 1,00, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $1,1 \cdot 10^{-3}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0,237 \cdot 10^{-3}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $6,5 \cdot 10^{-3}$

Složení produkční půdy (g/l) [21]:

monosacharid 100,00, NH_4Cl 0,80, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,50, KH_2PO_4 0,16, KCl 0,07, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $1,2 \cdot 10^{-3}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $1,1 \cdot 10^{-3}$, FeSO_4 0,01

Jako zdroj uhlíku byly pro růst a biosyntézu kyseliny citrónové studovány tyto monosacharidy: D-xylosa, D-mannosa, L-arabinosa, D-galaktosa (SAV, Chemický ústav Bratislava), D-glukosa (Lachema Brno).

Půdy byly rozlity po 50 ml do 250 ml Erlenmayerových baňek s vatovým uzávěrem, pro produkční půdy byly použity baňky s vnitřními hroty. Půdy byly sterilovány při teplotě 110 °C (inokulační půda 15 min, produkční půda 25 min), do produkční půdy bylo po sterilaci odpipetováno 0,5 ml (1 %) vodného roztoku obsahujícího 1 % hm. močoviny.

Inokulační půda v Erlenmayerové baňce byla zaočkována 1–2 kličkami spor *A. niger* LP 48. Po 48 h kultivace na rotační třepačce s frekvencí otáček 1 Hz při teplotě 30 °C, bylo 2,5 ml narostlého vegetativního inokula asepticky přeneseno do produkční půdy v baňkách s vnitřními hroty. Baňky byly kultivovány za stejných podmínek jako inokulum, doba kultivace byla 10 dní.

ANALYTICKÉ METODY

Během kultivačních pokusů byly odebrány vzorky, ve kterých byla stanovována sušina vázkově [22], pH (pHmetrem PHA 5; VD ČSAV), celkové množství redukujících látek podle Schoorla [23]. Jednotlivé monosacharidy byly stanoveny kapalinovou chromatografií [24, 25].

Stanovení kyseliny citrónové bylo prováděno během kultivací jednak orientačně zjištěním titrační acidity [22] a pro stanovení kyseliny citrónové, isocitrónové a jablečné vedle sebe byla použita izotachoforéza. Izotachoforetický analyzátor ZKI 001 (ÚRVST Písecká Nová Ves) byl vybaven předseparační kapilárou (170 × 0,8 mm) a separační kapilárou (170 × 0,3 mm) s vodivostním detektorem. Velikost hnacího proudu byla 250 μA . Složení vodícího elektrolytu: 6 mmol/l histidin-chloridu, 2 mmol/l CaCl_2 , 5 mmol/l histidinu, 0,2 % hm polyvinylpyrrolidonu. Zakončující elektrolyt: 5 mmol/l kyselina morfolinethansulfonová. Při stanovení jednotlivých kyselin na izotachoforetickém analyzátoru byl pro kyselinu jablečnou stanoven detekční limit 0,8 mg/l a pro kyselinu isocitrónovou 1,5 mg/l. Jak bylo zjištěno, tyto kyseliny jsou mutantou *A. niger* LP 48 tvořeny v koncentraci nižší, než je uvedený detekční limit.

VÝSLEDKY

Fermentační pokusy byly zahájeny kultivací mutanty *Aspergillus niger* LP 48 na jednotlivých monosacharidech (D-glukose, D-xylose, D-mannose a L-arabinose), které se vyskytují v hydrolyzátech běžných lignocelulosových materiálů. Z výsledků těchto fermentací (obr. 1) vyplývá, že výtěžnost kyseliny citrónové klesá v řadě glukosa,

Obr. 1. Biosyntéza kyseliny citrónové kmenem *Aspergillus niger* LP 48 s využitím různých monosacharidů jako substrátů
t = čas

mannosa, xylosa a arabinosa. Maximální výtěžek kyseliny citrónové na glukose, mannose a arabinose byl dosažen ve 168. hodině kultivace, v případě xylosy až ve 192. hodině kultivace. Bylo zjištěno, že ze studovaných monosacharidů je nejpomaleji využívána L-arabinosa, protože ve 160. hodině kultivace bylo v produkční půdě ještě 36 % zbytkového sacharidu z původních 10 g/100 ml.

Vzhledem k uvažovanému studiu možnosti biosyntézy kyseliny citrónové na hydrolyzátech odpadních lignocelulosových materiálů, které obsahují směsi monosacharidů, byl kmen *A. niger* LP 48 kultivován také na modelových substrátech obsahujících dva i více monosacharidů přibližně v poměru, ve kterém jsou nejčastěji zastoupeny v hydrolyzátech lignocelulosových odpadů, tzn. po degradaci hemicelulosa a celulosa.

Nejprve byly sledovány směsné substráty dvou monosacharidů, a to glukosa s mannose a glukosa s xylose, s převládajícím množstvím glukosy, v poměru 4:1. Za přítomnosti mannosy v produkční půdě se maximální množství kyseliny citrónové vytvořilo již ve 144. hodině, v případě směsného substrátu glukosy s xylose se maximum posunulo až na 216. h. Výsledky kapalinové chromatografie ukazují, že během prvních 96 hodin kultivace bylo z původních 8 g glukosy ve 100 ml produkčního média spotřebováno 5,44 g (tj. 68 % původního množství sacharidu), zatímco z výchozích 2 g xylosy bylo využito pouze 0,2 g (tj. 10 %). Od 192. hodiny kultivace byla v půdě přítomna pouze xylosa. Utilizace glukosy a xylosy během fermentace je znázorněna na obr. 2.

V další sérii pokusů bylo sledováno inhibiční působení L-arabinosy a D-galaktosy na utilizaci glukosy a produkci kyseliny citrónové. Podle literárních údajů se arabinosa a galaktosa v hydrolyzátech běžných lignocelulosových materiálů vyskytují v poměrně malém množství, proto byly ve směsných substrátech zastoupeny v nízkých koncentracích (poměr glukosa: inhibující sacharid = 23:2).

Směsné uhlíkaté substráty obsahující více monosacharidů simulovaly složení hydrolyzátní pilin smrků a borovic. Na směsi glukosa, xylosa a mannosa v poměru 8:2:1 bylo dosaženo výtěžnosti kyseliny citrónové na vnesený sacharid 64,9 % a na spotřebovaný sacharid 69,3 %. Při kultivaci na dalším směsném substrátu, obsahujícím glukosu, xylosu, mannosu a arabinosu v poměru 35:9:5:2 se výtěžnost snížila na 63,6 % a 64,2 %. Průběh kultivace

je znázorněn na obr. 3, utilizace jednotlivých monosacharidů na obr. 4.

Obr. 2. Utilizace jednotlivých monosacharidů ze směsného substrátu glukosa:xylosa (4:1) $t = \text{čas}$

Obr. 4. Utilizace jednotlivých monosacharidů ze směsného substrátu při kultivaci kmenem *Aspergillus niger* LP 48.

DISKUSE

Pro studium růstu mutanty *A. niger* LP 48 a ověření její schopnosti produkovat kyselinu citrónovou na různých sacharidech, bylo vybráno pět různých monosacharidů, které byly aplikovány jako jediné zdroje uhlíku nebo jejich směsi do produkčních médií. Tyto sacharidické substráty, svým hexoso-pentosovým charakterem a různou koncentrací, s převládajícím množstvím glukosy, simulovaly složení hydrolyzátů běžných lignocelulových odpadních materiálů. Při 10denních submerzních kultivacích byl nejlepší nárůst mycelia a nejvyšší výtě-

Tabulka 1. Produkce kyseliny citrónové na jednotlivých monosacharidech a jejich směsích

	Koncentrace sacharidů		Výtěžnost kyseliny citrónové	
	g/100 ml		na vnesený sacharid %	na spotřebovaný sacharid %
D-glukosa	10,16 ^a	0,50 ^b	70,9 ^c	74,5 ^c
D-mannosa	9,87	0,56	57,2	60,7
D-xylosa	11,35	0,24	30,5	31,1
L-arabinsosa	11,20	4,01	14,0	21,8
D-glukosa, D-mannosa (4:1)	9,98	1,44	60,5	70,7
D-glukosa, D-xylosa (4:1)	10,00	1,13	57,8	65,2
D-glukosa, L-arabinsosa (23:2)	10,00	0,74	63,5	71,4
D-glukosa, D-galaktosa (23:2)	10,2	1,00	62,2	69,0
D-glukosa, D-mannosa (8:2:1)	10,14	0,64	64,9	69,3
D-glukosa, D-xylosa, D-mannosa, L-arabinsosa (35:9:5:2)	9,78	0,10	63,6	64,2

Poznámka

- a) počáteční koncentrace sacharidů v půdě
b) koncentrace sacharidů v době maximální produkce kyseliny citrónové
c) výtěžnosti byly vypočítány pro dosaženou maximální produkci kyseliny citrónové během kultivace
Poměr sacharidů je hmotnostní

Obr. 3. Biosyntéza kyseliny citrónové kmenem *Aspergillus niger* LP 48 na směsném substrátu obsahujícím glukosu, xylosu, mannosu a arabinosu

žek kyseliny citrónové, ve srovnání s hodnotami získanými na samotné glukóze jako kontrole, dosažen na D-mannose. Pomalejší nárůst mycelia a pouze jen poloviční hodnota výtěžku kyseliny citrónové byla získána při kultivaci mutanty LP 48 na samotné D-xylose. Našimi pokusy bylo také potvrzeno inhibiční působení D-galaktosy přítomné v médiu na biosyntézu kyseliny citrónové, a to jak v případě samotné galaktosy, tak i ve směsi s jinými monosacharidy, i když samotný fakt není rozhodující z hlediska její nízké koncentrace v hydrolyzátech.

Z dosažených výsledků vyplývá, že mutanta *A. niger* LP 48 je schopna růstu a biosyntézy kyseliny citrónové na všech testovaných monosacharidech a jejich směsích, kromě D-galaktosy. I když získané výtěžky byly nižší ve srovnání s výtěžky kyseliny citrónové na samotné glukóze, domníváme se, že vzhledem k relativně nízké koncentraci D-galaktosy, resp. L-arabinosy, jež bývají přítomny v hydrolyzátech např. dřevných odpadů, není tato skutečnost překážkou pro racionální využití těchto levných a stále dostupných druhotných surovin. Výhodou testované mutanty LP 48 je také poměrně nízká koncentrace zbytkových sacharidů v produkční půdě.

Uvedené sacharidické substráty ovšem představují pouze modelové „hydrolyzáty lignocelulosových odpadních materiálů“, protože o skutečné kvalitě z hlediska použitelnosti pro produkci biosyntézy kyseliny citrónové bude rozhodující vlastní proces hydrolýzy (u chemické hydrolýzy je to např. otázka vzniku ve vyšší koncentraci inhibičně působícího 2-furankarbaldehydu, kyseliny mravenčí a propanové) a kvalitativní a kvantitativní zastoupení jednotlivých monosacharidů ve výchozím materiálu.

Literatura

- [1] KLYOSOV, A. A.: UNIDO/IS 476, 12 July 1984.
- [2] ZAKOWSKA, Z., JALOCHA, A.: Acta Biotechnol. 4, (2), 1984, s. 171.
- [3] Pol. pat. PL 123 840.
- [4] ELIMER, E.: Pr. Nauk. Akad. Ekon. im. Oskara Langego Wrocławiu, 291, 1985, s. 15.
- [5] BOLACH, E., PODGORSKI, W.: Pr. Nauk. Akad. Ekon. im. Oskara Langego Wrocławiu, 191, 1982, s. 25.
- [6] BOLACH, E., PODGORSKI, W.: Pr. Nauk. Akad. Ekon. im. Oskara Langego Wrocławiu, 199, 1982, s. 29.
- [7] BOLACH, E., LESNIAK, W., ZIOBROWSKI, J.: Acta Aliment. Pol., 11(1), 1985, s. 97.
- [8] VASILEV, N., GANCHEV, I., VASILEVA, M.: Acta Microbiol. Bulg., 18, 1986, s. 62.
- [9] HOSSAIN, M., BROOKS, J. D., MADDOX, I. S.: Appl. Microbiol. Biotechnol., 19(6), 1984, s. 393.
- [10] SOMKUTI, G. A., BENCIVENGO, M. M.: Dev. Ind. Microbiol., 22, 1981, s. 557.
- [11] ZHU, H., ZHAO, G., WANG, X.: Weishengwuxue Tongbao, 11(4), 1984, s. 156.
- [12] CHANG, L. Y., TSAY, S. S.: Kó Hsueh Fa Chan Yueh K'an, 11(12-3), 1984, s. 1582.
- [13] HANG, Y. D., VOODAMS, E. E.: Biotechnol. Letters, 9(3), 1987, s. 183.
- [14] KIEHL, H., GUVIN, R., HENIS, Y.: Appl. Environ. Microbiol., 42(1), 1981, s. 1.
- [15] HOLOTA, J., BAXA, P.: Kvas. prům., 31, 1985, s. 176.
- [16] ROŽIČKA, V., ZBÍROVSKÝ, M., SEIFERT, R.: Chem. prům., 32/57, 1982, s. 317.
- [17] HOSSAIN, M., BROOKS, J. D., MADDOX, I. S.: Appl. Microbiol. Biotechnol., 19, 1984, s. 393.
- [18] MADDOX, I. S., HOSSAIN, M., BROOKS, J. D.: Appl. Microbiol. Biotechnol., 23, 1986, s. 203.
- [19] MADDOX, I. S. et al.: Biotechnol. Letters, 7, 1985, s. 815.
- [20] PELECHOVÁ, J. et al.: Folia Microbiol. (v tisku)
- [21] SÁNCHEZ-MARROQUIN, A., CARRENO, R., LEDEZMA, M.: Appl. Microbiol., 20, 1970, s. 882.
- [22] GRÉGR, V., RYCHTERA, M.: Analytické metody ke cvičení z kvasné chemie a technologie, III. část, 1. vyd. SNTL, Praha 1966.
- [23] BROWNE, C. A., ZERBAN, F. W.: Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis, 1. vyd., New York 1941.

[24] PELECHOVÁ, J. et al.: Kvas. prům., 21, 1979, s. 56.

[25] PELECHOVÁ, J. et al.: Kvas. prům., 30, 1984, s. 156.

[26] LEOPOLD, H., ULČ, J.: Zbl. Bact., 133, 1978, s. 217.

Lektoroval RNDr. Leopold Seichert, CSc.

Petrová, L. - Pelechová, J. - Kvasnička, F. - Martínková, L. - Ujcová, E.: Biosyntéza kyseliny citrónové na lignocelulosových materiálech. I. Kultivace mutanty Aspergillus niger LP 48 na vybraných monosacharidech. Kvas. prům., 35, 1989, č. 12, s. 359—362.

Mutanta *Aspergillus niger* LP 48 byla submerzně kultivována v produkčních půdách obsahujících jako zdroj uhlíku jednotlivé monosacharidy, a to D-glukosu, D-mannosu, D-xylosu a L-arabinosu. Výtěžnost kyseliny citrónové klesala v řadě glukosa, mannosa, xylosa a arabinosa. Dále byly sledovány kultivace na smíšených substrátech dvou, tří nebo čtyř monosacharidů, které měly přibližně simulovat sacharidické spektrum běžných lignocelulosových odpadů.

Петрова, Л. - Пелехова, Я. - Квасничка, Ф. - Мартинкова, Л. - Уйцова, Е.: Биосинтез лимонной кислоты на лигноцеллюлозных материалах. I. Культивирование мутанта Aspergillus niger LP 48 на избранных моносахаридах. Квас. прум., 35, 1989, № 12, стр. 359—362.

Мутант *Aspergillus niger* LP 48 культивировался в водных культивационных средах, содержащих в качестве источника углерода отдельные моносахариды, и то D-глюкозу, D-маннозу, D-ксилозу и L-арабинозу. Выход лимонной кислоты понижался порядком глюкоза, манноза, ксилоза и арабиноза. Далее исследовались процессы культивирования на смесных субстратах двух, трех или четырех моносахаридов, которые приблизительно представляли собой сахаридический спектр нормальных лигноцеллюлозных отходов.

Petrová, L. - Pelechová, J. - Kvasnička, F. - Martínková, L. - Ujcová, E.: Biosynthesis of Citric Acid on Lignocellulosic Materials. I. Cultivation of Mutant Aspergillus niger LP 48 on Some Monosaccharides. Kvas. prům., 35, 1989, No. 12, pp. 359—362.

The mutant of *Aspergillus niger* LP 48 has been cultured in submerged cultivations on production media with D-glucose, D-mannose, D-xylose and L-arabinose as the carbon sources. The yield of citric acid decreased in the following manner: glucose, mannose, xylose and arabinose. Further, cultivations on the mixture of two, three or four monosaccharides were performed. These experiments approximately have simulated the saccharidic spectrum of real lignocellulosic wastes.

Petrová, L. - Pelechová, J. - Kvasnička, F. - Martínková, L. - Ujcová, E.: Biosynthese der Zitronensäure auf Lignozellulose-Materialien. I. Kultivierung der Mutante Aspergillus niger LP 48 auf ausgewählten Monosacchariden. Kvas. prům., 35, 1989, Nr. 12, S. 359—362.

Die Mutante *Aspergillus niger* LP 48 wurde submers kultiviert auf Produktionsböden, die als Kohlenstoffquelle die einzelnen Monosaccharide enthielten, und zwar D-Glukose, D-Mannose, D-Xylose und L-Arabinose. Die Ausbeute der Zitronensäure verminderte sich in der Reihe Glukose, Mannose, Xylose und Arabinose. Im weiteren wurden Kultivationen auf Mischsubstraten von 2, 3 oder 4 Monosacchariden verfolgt, die das sacharidische Spektrum der geläufigen Lignozellulose-Abfälle approximativ simulieren sollten.