

ELŻBIETA GAŚIOREK, WŁADYSŁAW LEŚNIAK

WPLYW DODATKU SUROWCÓW POCHODZENIA NATURALNEGO NA WYDAJNOŚĆ BIOSYNTETY KWASU CYTRYNOWEGO METODĄ HODOWLI W PODŁOŻU STAŁYM

Streszczenie

W pracy badano wpływ dodatku naturalnych surowców pochodzenia roślinnego na biosyntezę kwasu cytrynowego, prowadzoną metodą hodowli w podłożu stałym z użyciem pleśni *Aspergillus niger*. W tym celu do głównego surowca, wysłodków buraczanych, dodawano różne ilości tapioki, skrobi kukurydzianej, otrąb pszennych i żytnich, wycierki ziemniaczanej oraz melasy buraczanej i trzcinowej. Wydajność kwasu cytrynowego wahała się, w zależności od stosowanego surowca, od 68 g/kg s.s., w przypadku otrąb pszennych do 160 g/kg s.s., przy zastosowaniu wycierki ziemniaczanej oraz do ponad 200 g/kg s.s., w przypadku dodania tapioki lub melasy trzcinowej.

Słowa kluczowe: fermentacja na podłożu stałym, kwas cytrynowy, tapioka, melasa, skrobia kukurydziana, otręby pszenne, wycierka ziemniaczana.

Wprowadzenie

Kwas cytrynowy można otrzymywać nie tylko na drodze fermentacji węgłbnej czy powierzchniowej pożywek płynnych, ale też metodą hodowli w podłożu stałym. Świadczą o tym wyniki licznych prac badawczych oraz zastosowanie tej metody w skali przemysłowej w Japonii i Tajlandii [14].

Zaletą metody hodowli w podłożu stałym jest możliwość wykorzystania, jako głównych komponentów podłoża, tanich produktów ubocznych, a nawet odpadowych przetwórstwa rolno-spożywczego oraz to, że stosowany surowiec skrobiowy lub celulozowy nie musi być hydrolizowany przed fermentacją, gdyż szczepy *Aspergillus niger* przy wzroście w takich podłożach tworzą odpowiednie enzymy hydrolityczne [4]. Uważa się, że surowce stosowane w procesach hodowli w podłożu stałym powinny spełniać następujące warunki [10]:

- 1) zawierać odpowiednią ilość przyswajalnego węgla,
- 2) charakteryzować się składem chemicznym dostarczającym niezbędnych substancji odżywczych,
- 3) substancje odżywcze z podłoża powinny być łatwo dostępne dla drobnoustrojów,
- 4) wykazywać wysoką, maksymalną moc utrzymywania wody, pozwalającą na rozpuszczenie składników odżywczych,
- 5) zapewniać możliwie dużą powierzchnię do wzrostu drobnoustrojów,
- 6) zapewniać strukturę podłoża umożliwiającą swobodną cyrkulację powietrza.

Liczba surowców, spełniających wymienione powyżej warunki jest ograniczona. Większość z nich można podzielić na trzy grupy, tzn. surowce zawierające [10]:

- 1) skrobię,
- 2) celulozę i lignocelulozę,
- 3) cukry rozpuszczalne.

Do stosowanych surowców skrobiowych należą ziarna zbóż, otręby zbożowe, ziemniaki i produkty odpadowe przemysłu ziemniaczanego, słodkie ziemniaki, maniok [6, 12].

Surowce lignocelulozowe obejmują wytloki trzciny cukrowej, słomę zbożową, wysłodki buraka cukrowego, trociny i wióry drzewne [7, 8, 11]. Niektóre z nich są dostępne w dużych ilościach, np. słoma zbożowa i materiały drzewne.

Stałe substraty zawierające znaczne ilości cukrów rozpuszczalnych to: odpady owoców – jabłek, winogron, ananasów, skórki kiwi, jak też słodkie sorgo, strąki chleba świętojańskiego [1, 5, 13].

Inną grupę stanowią podłoża, w których stały materiał, taki jak wytloki trzciny cukrowej lub wysłodki buraczane nasącza się roztworem cukrów rozpuszczalnych [1, 3, 7].

Źródłem węgla, podstawowego pierwiastka niezbędnego do budowy biomasy i metabolizmu komórki, są w wysłodkach buraczanych związki wielkocząsteczkowe (celuloza, hemicelulozy, pektyny), wymagające wcześniejszej hydrolizy. Hydroliza jest więc czynnikiem limitującym szybkość przyswajania cukrów, stąd w pracy podjęto badania, których celem było określenie wpływu uzupełniania podłoża w inne źródła węgla, pochodzące z surowców skrobiowych oraz cukrowych, na biosyntezę kwasu cytrynowego, prowadzoną metodą hodowli w podłożu stałym.

Materiał i metody badań

Drobnoustrój i sposób prowadzenia hodowli

W badaniach stosowano szczep *Aspergillus niger* S pochodzący z kolekcji czystych kultur Katedry Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu.

Podłożem hodowlanym były wysłodki buraczane peletowane (Cukrownia Pustków), które rozdrabniano do wielkości cząstek 6–7 mm. Celem wzbogacenia podłoża, do wysłodków dodawano zmieloną tapiokę (Indie), wycierkę ziemniaczaną (Namyśłów), melasę buraczaną (Cukrownia Racibórz), melasę trzcinową (Indie, Egipt, Mauritius), skrobię kukurydzianą (Belgia), otręby pszenne i żytnie (Młyn Maria, Wrocław).

Hodowlę drobnoustrojów prowadzono metodą statyczną oraz dynamiczną. W metodzie statycznej – w zlewkach o pojemności 1000 cm³ umieszczano po 50 g podłoża, które następnie zwilżano do 55% wilgotności. Po sterylizacji podłoże szczepiono, dodając do 100 g podłoża 1cm³ zawiesiny, tj. $2 \div 6 \cdot 10^7$ zarodników. Próby inkubowano w temperaturze 30°C. Raz na dobę próby intensywnie wstrząsano w celu wymieszania podłoża.

Hodowlę dynamiczną prowadzono w bębnowym bioreaktorze obrotowym o pojemności 4,5 litra. 500 g podłoża zwilżano do 55% wilgotności, a po sterylizacji szczepiono, dodając 20 cm³ inokulum. Podłoże było mieszane przez 1 min co godzinę, poprzez ruch obrotowy zbiornika fermentora.

Metody analityczne

Kwasowość ogólną, jako kwas cytrynowy jednowodny, oznaczano metodą miareczkowania potencjometrycznego i, ze względu na różną wilgotność prób, wyrażano w przeliczeniu na suchą substancję podłoża. Kwas cytrynowy oznaczano spektrofotometrycznie metodą Mariera i Bouleta [9]. Zawartość cukrów redukujących oznaczano metodą Lane-Eynona w modyfikacji Ziobrowskiego [2].

Wydajność procesu fermentacji obliczano w stosunku do suchej substancji podłoża, korzystając z równania:

$$Y = \frac{P \cdot 100}{1000},$$

gdzie:

Y – wydajność fermentacji w stosunku do suchej substancji podłoża [%],

P – ilość kwasu cytrynowego jednowodnego w suchej substancji podłoża [g/kg s.s].

W przypadku, gdy podłoże wzbogacano melasą lub przez dodanie surowców skrobiowych, wydajność fermentacji obliczano dodatkowo w stosunku do początkowej zawartości cukrów redukujących lub skrobi, obecnych w podłożu, zgodnie z równaniem:

$$Y_{P/S} = \frac{P \cdot 100}{S},$$

gdzie:

$Y_{P/S}$ – wydajność fermentacji w stosunku do początkowej zawartości cukrów redukujących lub skrobi [%],

S – początkowa zawartość cukrów redukujących lub skrobi [g/kg s.s.].

Produktywność fermentacji obliczano według równania:

$$Q = \frac{P}{t},$$

gdzie:

Q – produktywność fermentacji [g /kg s.s.·h],

T – czas fermentacji [h].

Statystyczne opracowanie wyników

W badaniach optymalizacyjnych, doświadczenia prowadzono w trzech powtórzeniach. W przypadku wystąpienia dużej wariancji liczbę powtórzeń zwiększano do pięciu, a nawet sześciu. Wyniki poszczególnych oznaczeń, po odrzuceniu wartości skrajnych, przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej.

Wyniki i ich omówienie

Wpływ dodatku otrąb pszennych i żytnich

Otręby pszenne i żytnie dodawano do wysłódków buraczanych w takiej ilości, aby stanowiły one 20 lub 50% podłoża. Dodatek otrąb powodował obniżanie wydajności kwasu cytrynowego w przeliczeniu na suchą substancję podłoża w stosunku do próby bez otrąb (tab. 1), osiągając najniższą wartość (5,8%) w próbce przygotowanej

Tabela 1

Wpływ dodatku otrąb pszennych i żytnich na biosyntezę kwasu cytrynowego.

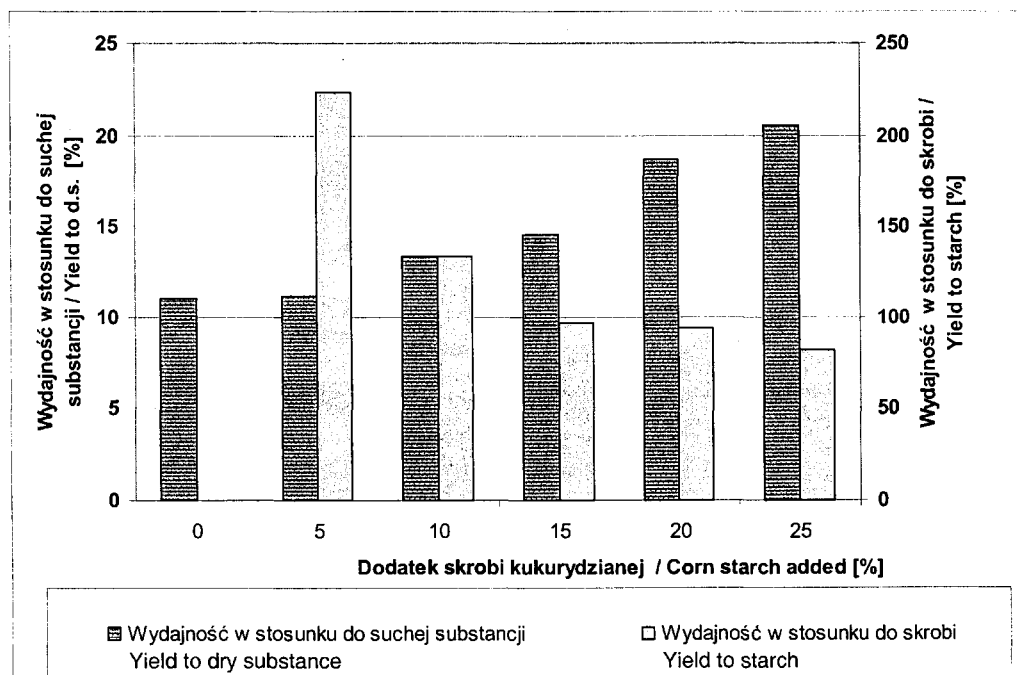
Effect of wheat and rye bran additives on citric acid biosynthesis.

| Rodzaj otrąb Type of bran | Dodatek otrąb [%] Per cent amount of bran added | Maksymalna kwasowość ogólna [g/kg s.s.] Total acidity [g/kg d.s.] | Kwas cytrynowy [g/kg s.s.] Citric acid [g/kg d.s.] | Wydajność w stosunku do suchej substancji [%] Yield to d.s. [%] | Produktywność [g/kg s.s.·h] Productivity g/kg d.s.·h |
|------------------------------|--|---|--|--|---|
| Bez otrąb Without bran | 0 | 135 | 94,5 | 9,5 | 1,31 |
| Otręby pszenne Wheat bran | 20 | 97 | 67,9 | 6,8 | 0,94 |
| | 50 | 85 | 59,5 | 6,0 | 1,24 |
| Otręby żytnie Rye bran | 20 | 106 | 74,2 | 7,4 | 1,03 |
| | 50 | 106 | 74,2 | 7,4 | 1,55 |
| Otręby pszenne Wheat bran | 25 | 83 | 58,1 | 5,8 | 1,21 |
| Otręby żytnie Rye bran | 25 | | | | |

przez dodanie do podłoża 50% zmieszanych w równych ilościach otręb pszennych i żytnich. Obecność otręb w podłożu, zwłaszcza w większych ilościach, powodowała pogorszenie jego parametrów fizycznych, gdyż otręby po sterylizacji ściśle wiązały podłoże zmniejszając wolne przestrzenie między cząstkami surowców.

Wpływ dodatku skrobi kukurydzianej

Skrobia kukurydziana dodawana do podłoża stanowiła od 5 do 25% podłoża. Zwiększeniu udziału skrobi towarzyszył stopniowy wzrost wydajności kwasu cytrynowego (rys. 1). Wzrost dodatku skrobi z 5 do 25% spowodował blisko dwukrotny wzrost wydajności w stosunku do suchej substancji podłoża, odpowiednio z 11,2 do 20,6% i wzrost produktywności z 1,56 do 2,86 g/kg s.s.·h oraz równoczesny prawie trzykrotny spadek wydajności kwasu cytrynowego w stosunku do skrobi: z 224 do 82%.



Rys. 1. Wpływ dodatku skrobi kukurydzianej na wydajność kwasu cytrynowego.

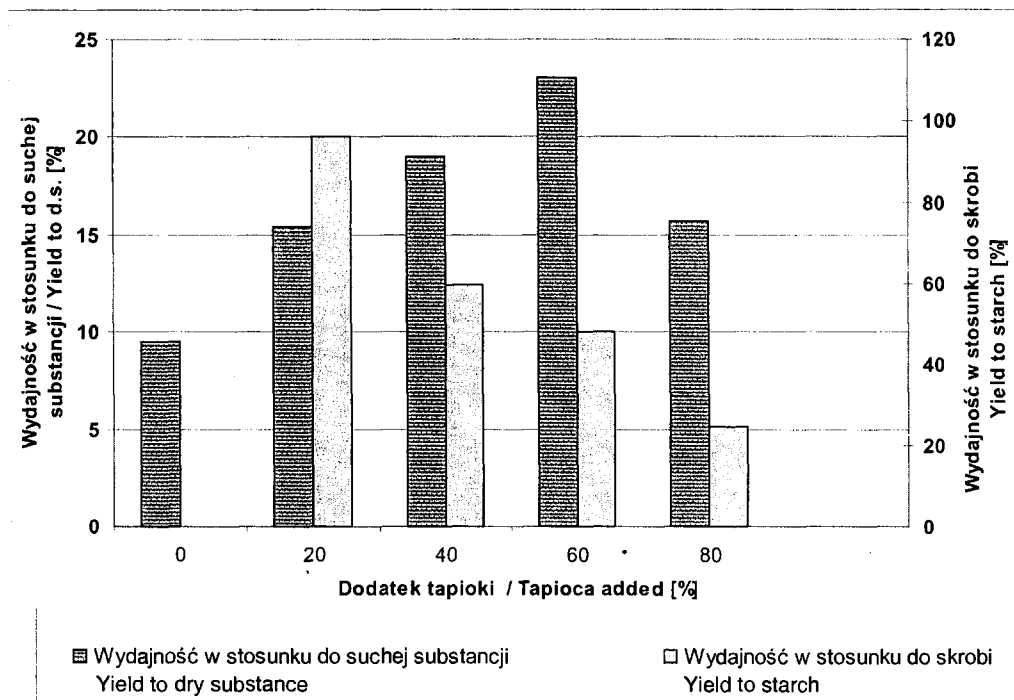
Fig. 1. Effect of corn starch additive on citric acid biosynthesis.

Wpływ dodatku tapioki

Udział tapioki w podłożu zmieniano w zakresie od 20 do 80%. Zwiększającemu się udziałowi tapioki towarzyszyły niekorzystne zmiany w strukturze podłoża, które po

sterylizacji, na skutek kleikowania skrobi, było lepkie i tworzyło duże aglomeraty. Większa ilość tapioki (o zawartości 80,3% skrobi) w podłożu powodowała też wydłużanie czasu trwania fermentacji.

Najwyższą wydajność kwasu, liczoną w stosunku do suchej substancji podłoża, uzyskano w próbie, w której tapioka stanowiła 60% (rys. 2). Najwyższą wydajność kwasu w stosunku do skrobi (96,3%) uzyskano w podłożu z 20% dodatkiem tapioki.



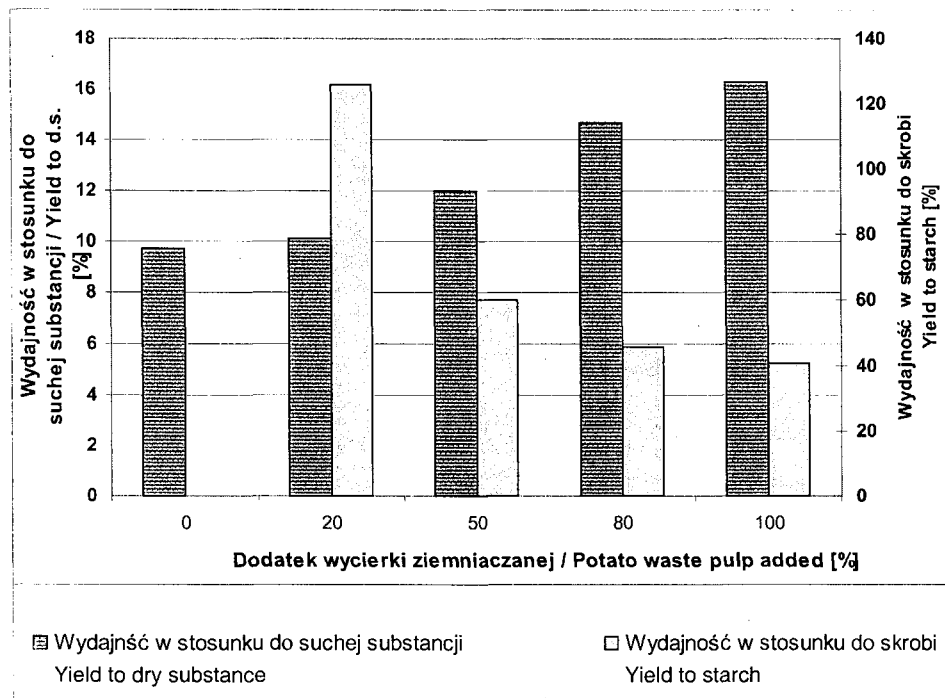
Rys. 2. Wpływ dodatku tapioki na wydajność kwasu cytrynowego.

Fig. 2. Effect of tapioca additives on citric acid biosynthesis.

Wpływ dodatku wycierki ziemniaczanej

Wycierkę ziemniaczaną mokrą, o wilgotności 70%, poddawano suszeniu otrzymując produkt o bardzo zróżnicowanej wielkości cząstek: od 4–13 mm. Taką wycierkę, bez rozdrabniania i odsiewania frakcji, stosowano jako dodatek do podłoża lub też, ze względu na jej korzystne właściwości fizyczne, jako samodzielny substrat. Stopniowy wzrost udziału wycierki ziemniaczanej w podłożu z 20 do 100% (m/m) powodował wyraźny wzrost wydajności kwasu cytrynowego w stosunku do suchej substancji podłoża odpowiednio z 10,1 do 16,3% oraz wzrost produktywności z 1,4 do 2,27 g/kg s.s.h. (rys. 3). Odmienne natomiast kształtowała się wydajność kwasu cytrynowego w sto-

sunku do skrobi, obecnej w stosowanej wycierce ziemniaczanej w ilości około 40%. Wzrost zawartości wycierki w podłożu z 20 do 100% powodował 3-krotny spadek wydajności kwasu cytrynowego, liczonej w stosunku do początkowej zawartości skrobi.



Rys. 3. Wpływ dodatku wycierki ziemniaczanej na wydajność kwasu cytrynowego.

Fig. 3. Effect of the additive of potato waste pulp on citric acid biosynthesis.

Wpływ dodatku melasy

W badaniach oceniano, jaki wpływ na wydajność fermentacji mają: rodzaj melasy, ilość dodawanej melasy oraz wilgotność podłoża, do którego melasę dodawano. W serii doświadczeń, w których porównywano wyniki biosyntezy z zastosowaniem różnych melas stanowiących 5 lub 10% podłoża, stosowano melasę buraczaną oraz trzy rodzaje melasy trzcinowej. W przypadku stosowania melas: buraczanej, trzcinowej indyjskiej i trzcinowej egipskiej brak było znaczących różnic w wydajności kwasu cytrynowego (tab. 2).

Stosując wymienione melasy uzyskano wydajności kwasu cytrynowego w stosunku do suchej substancji podłoża od 10,3 do 11,1% (w stosunku do cukru od 138,7 do 150,0%), gdy melasa stanowiła 5% podłoża i od 12,5 do 13,4% (w stosunku do cukru od 117,4 do 125,3%), gdy w podłożu było 10% melasy. Najmniej przydatna

okazała się melasa z Mauritiusa. W przypadku zastosowania wszystkich testowanych melas, wraz ze zwiększeniem udziału melasy w podłożu z 5 do 10% następowało wydłużenie czasu uzyskania maksymalnej kwasowości ogólnej z trzech do czterech dób.

Tabela 2

Wpływ dodatku wybranych melas buraczanych i trzcinowych na biosyntezę kwasu cytrynowego.
Effect of some selected sugar beet and cane molasses additives on citric acid biosynthesis.

| Rodzaj melasy Type of molasses | Dodatek melasy [%] Per cent quantity of molasses added | Kwas cytrynowy [g/kg s.s.] Citric acid [g/kg d.s.] | Wydajność w stosunku do suchej substancji [%] Yield to d.s. [%] | Wydajność w stosunku do cukrów reduk. [%] Yield to red. sugar [%] | Produktywność [g/kg s.s.·h] Productivity [g/kg d.s.·h] |
|-----------------------------------|---|---|--|--|---|
| Bez melasy Without molasses | 0 | 98,7 | 9,9 | - | 1,37 |
| Buraczana Sugar beet | 5 | 102,9 | 10,3 | 138,7 | 1,43 |
| | 10 | 125,3 | 12,5 | 117,4 | 1,31 |
| Trzcinowa/Cane India | 5 | 103,6 | 10,4 | 139,6 | 1,44 |
| | 10 | 130,9 | 13,1 | 122,7 | 1,36 |
| Trzcinowa/Cane Egipt | 5 | 111,3 | 11,1 | 150,0 | 1,55 |
| | 10 | 133,7 | 13,4 | 125,3 | 1,39 |
| Trzcinowa/Cane Mauritius | 5 | 82,6 | 8,3 | 111,3 | 1,15 |
| | 10 | 113,4 | 11,3 | 106,3 | 1,18 |

Wpływ dodatku melasy do podłoża oceniano również prowadząc biosyntezę kwasu cytrynowego w bębnowym bioreaktorze obrotowym. Dodatek do podłoża 10% melasy (tab. 3) zwiększał wydajność kwasu cytrynowego w stosunku do suchej substancji o około 20%, natomiast dodatek 20% melasy powodował wzrost wydajności o 30%. Przy wzroście udziału melasy w podłożu z 10 do 20% następowało obniżenie wydajności kwasu cytrynowego w stosunku do cukru o ponad 30%.

Spśród stosowanych surowców tylko dodatek otrąb nie poprawiał wydajności kwasu cytrynowego. Niższa kwasowość mogła być spowodowana ich niekorzystnymi właściwościami fizycznymi. Wpływ dodatku pozostałych surowców skrobiowych na produkcję kwasu cytrynowego miał zróżnicowany charakter. Skrobia kukurydziana i tapioka były dobrymi surowcami ze względu na dużą zawartość skrobi, ale wielkość ich dodatku należało ograniczyć ze względu na gorsze właściwości fizyczne. Bardzo dobrym substratem okazała się natomiast wycierka ziemniaczana, która może stanowić nie tylko dodatek do podłoża, ale samodzielny surowiec.

Tabela 3

Wpływ dodatku melasy na biosyntezę kwasu cytrynowego w bębnowym bioreaktorze obrotowym.
Effect of molasses additives on citric acid biosynthesis performed in a rotary drum bioreactor.

| Dodatek melasy [%] Per cent quantity of molasses added | Kwasowość ogólna [g/kg s.s.] Total acidity [g/kg d.s.] | | | Kwas cytrynowy [g/kg s.s.] Citric acid [g/kg d.s.] | Wydajność w stosunku do suchej substancji [%] Yield to d.s. [%] | Wydajność w stosunku do cukru [%] Yield to sugar [%] | Produktywność [g/kg s.s.·h] Productivity [g/kg d.s.·h] |
|---|---|-------|-------|---|--|---|---|
| | Doba fermentacji As on the x-day of fermentation | | | | | | |
| | 2 | 3 | 4 | | | | |
| 0 | 90,5 | 181,0 | 197,0 | 137,9 | 13,8 | - | 1,44 |
| 10 | 83,0 | 195,0 | 256,0 | 179,2 | 17,9 | 167,9 | 1,87 |
| 20 | 112,0 | 241,5 | 292,0 | 204,4 | 20,4 | 111,1 | 2,13 |

Wydajności kwasu cytrynowego, liczone w stosunku do surowców, którymi uzupełniano podłoże podstawowe (skrobia, melasa), znacznie przekraczające 100% świadczą o tym, że do biosyntezy kwasu cytrynowego są wykorzystywane nie tylko dodawane źródła węgla (skrobia, cukier), ale również źródła węgla zawarte w wysłódkach buraczanych (celuloza, hemicelulozy, pektyny) hydrolizowane w czasie hodowli.

Uzyskiwanie wysokich wydajności kwasu cytrynowego w stosunku do suchej substancji podłoża na omawianych substratach skrobiowych można tłumaczyć tym, że szczep *Aspergillus niger* S jest stosowany do fermentacji płynnych podłoży skrobiowych i charakteryzuje się wysoką aktywnością enzymów amylolitycznych.

Stymulacja biosyntezy kwasu przez dodatek melasy jest również zrozumiała, gdyż sacharoza, główny składnik melasy, jest cukrem łatwo przyswajalnym przez drobnoustroje. Zwiększenie ilości melasy w podłożu jest jednak ograniczone ze względu na pogarszanie się parametrów fizycznych podłoża w miarę wzrostu udziału tego substratu. Większa lepkość podłoża powoduje sklejanie się cząstek, jak też przywieranie ich do ścian fermentora. Zwiększony udział melasy w podłożu powoduje też wydłużanie czasu trwania fermentacji. Uwzględniając powyższe uwagi wydaje się więc, że maksymalny dodatek melasy do podłoża powinien wynosić 20–25%.

Wnioski

1. Dodatek do wysłódków buraczanych 20 lub 50% otrąb pszennych lub żytnich powodował obniżenie wydajności kwasu cytrynowego o około 20–30%.

2. Skrobia kukurydziana w ilości 5–25% powodowała prawie dwukrotny wzrost wydajności kwasu w stosunku do suchej substancji podłoża (z 11,2 do 20,6%), ale prawie trzykrotny spadek wydajności w stosunku do dodanej skrobi (z 224 do 82%).
3. Podobne zależności zaobserwowano w przypadku dodatku tapioki. Najwyższą wydajność kwasu w stosunku do suchej substancji podłoża uzyskano w próbie z 60% dodatkiem tapioki (23%), natomiast najwyższą wydajność w stosunku do skrobi w podłożu z 20% dodatkiem tapioki (96,3%). Pomimo tego, że dodatek tapioki zwiększa wydajność kwasu cytrynowego, niekorzystne zmiany, jakie powoduje ona w podłożu dyskwalifikują ją jako surowiec w metodzie hodowli w podłożu stałym.
4. Wycierka ziemniaczana stanowi nie tylko dobry dodatek do wysłodków, ale może też stanowić samodzielny surowiec (wydajność w stosunku do suchej substancji 16,3%).
5. Korzystne jest również wzbogacanie wysłodków buraczanych przez dodatek melasy buraczanej lub trzcinowej. Zwiększenie udziału melasy z 10 do 20%, w próbach prowadzonych w bioreaktorze, powodowało wzrost wydajności kwasu cytrynowego w stosunku do suchej substancji podłoża z 17,9 do 20,4%, ale obniżenie wydajności w stosunku do cukru ze 167,9 do 111,1%.

Literatura

- [1] Aidoo K.H., Hendry R., Wood B.J.B.: Solid substrate fermentations. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1982, **28**, 201-237.
- [2] Ćwiczenia laboratoryjne z technologii przemysłu spożywczego – pod red. J. Ziobrowskiego. Wyd. AE, Wrocław 1989.
- [3] Garg N., Hang Y.D.: Microbial production of organic acids from carrot processing waste. *J. Food Sci. Technol.*, 1995, **32**, 119-121.
- [4] Gąsiorek E., Leśniak W.: Production of cellulases during citric acid biosynthesis by solid state fermentation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52**, 31-37.
- [5] Hang Y.D., Woodams E.E.: Apple pomace: a potential substrate for citric acid production by *Aspergillus niger*. *Biotechnol. Lett.*, 1984, **6**, 763-764.
- [6] Ilczuk Z.: Mikrobiologiczna synteza kwasów organicznych. *Post. Mikrobiol.* 1987, **26**, 119-129.
- [7] Lakshminarayana K., Chaudhary K., Ethiray S.: A solid state fermentation method for citric acid production using sugar cane bagasse. *Biotechnol. Bioeng.*, 1975, **17**, 291-.
- [8] Manonmani H.K., Sreekantiah K.R.: Studies on the conversion of cellulose hydrolysate into citric acid by *Aspergillus niger*. *Process Biochem.*, 1987, **6**, 92-94.
- [9] Marier J.R., Boulets M.: Direct determination of citric acid in milk with an improved pyridine acetic anhydride method. *J. Dairy Sci.*, 1958, **41**, 1683-1692.
- [10] Mitchell D., Berovic M.: Solid state fermentation, *Bioprocess Engineering Course*. Ed. Berovic M., National Institute of Chemistry, Ljubljana, 1998, p.128-166.
- [11] Shankaranand V.S., Lonsane B.K.: Sugarcane-pressmud as a novel substrate for production of citric acid by solid-state fermentation. *World J. Microb. Biotechnol.*, 1993, **9**, 377-380.

- [12] Shankaranand V.S., Lonsane B.K.: Wheat bran as a substrate for production of citric acid by *Aspergillus niger* CFTRI 6 in solid-state fermentation system: titre and yield improvements. Chem. Microb-Technol. der Lebensmittel, 1992, **14**, 33-36.
- [13] Tran C.T., Mitchell D.A.: Pineapple – a novel substrate for citric acid production by solid-substrate fermentation. Biotechnol. Letters, 1995, **17**, 1107-1110.
- [14] Yamada K.: Bioengineering report. Recent advances in industrial fermentation in Japan. Biotechnol. Bioeng., 1977, **33**, 1563-1621.

THE EFFECT OF RAW MATERIALS ADDITION ON THE YIELD OF CITRIC ACID BIOSYNTHESIS BY SOLID STATE FERMENTATION

S u m m a r y

A solid state fermentation method was developed for citric acid production from different substrates by culturing *Aspergillus niger* S. A Sugar beet pulp was applied as the main substrate; it was enriched by raw materials such as: tapioca, beet or cane molasses, corn starch, wheat bran, and potato waste pulp. The yield of citric acid varied depending on the type of different substrates added; it ranged from 68 g/kg d.s. for wheat bran added, to 160 g/kg d.s. as for potato waste pulp, and up to more than 200 g /kg d.s. as for the addition of tapioca and cane molasses.

Key words: solid state fermentation, citric acid, tapioca, molasses, corn starch, wheat bran, potato waste pulp. ☒