

MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI

PRODUKCJA KWASU MLEKOWEGO PRZEZ GRZYBY Z RODZAJU *RHIZOPUS*

Streszczenie

Kwas mlekowy jest beztlenowym produktem glikolizy prowadzonej przez homo- i heterofermentatywne bakterie fermentacji mlekowej. Próby wykorzystania pleśni z rodzaju *Rhizopus* do produkcji kwasu mlekowego wykazały nieopłacalność procesu. Pleśnie z rodzaju *Rhizopus* mają o wiele mniejsze wymagania pokarmowe niż bakterie fermentacji mlekowej. Ponadto wykorzystują jako źródło węgla tanie polimery, takie jak: skrobia, hemicelulozy i celuloza, a produktem fermentacji jest pożądaný kwas L(+) mlekowy. W pracy przedstawiono biochemizm wytwarzania kwasów organicznych, w tym mlekowego, z glukozy i ksylozy przy udziale szczepów *Rhizopus oryzae* z uwzględnieniem czynników warunkujących efektywność tego procesu. Z literatury wynika, że szczepy z rodzaju *Rhizopus* w optymalnych warunkach hodowli, takich jak: rodzaj i stężenie substratu, odpowiednia temperatura a także pH i natlenienie podłoża hodowlanego wyraźnie zwiększają produkcję kwasu mlekowego. Forma morfologiczna i unieruchomienie grzybni *Rhizopus* znacznie podnoszą produktywność i wydajność kwasu mlekowego.

Słowa kluczowe: kwas mlekowy, *Rhizopus*, warunki hodowli, forma morfologiczna, unieruchomienie

Wprowadzenie

Kwas mlekowy jest związkiem organicznym wytwarzanym przez organizmy: ludzkie, zwierzęce, roślinne i mikroorganizmy [34]. Przez mikroorganizmy (*Lacobacillus delbrücki* i in.) produkowany jest metodą biotechnologiczną z melasy, serwatki, skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej lub innej zbożowej [16]. Pleśnie z rodzaju *Rhizopus* jako źródła węgla do produkcji kwasu mlekowego wykorzystują również cukry proste i złożone oraz odpady przemysłowe [2, 4, 7, 13, 14, 40].

W skali globalnej wytwarza się ok. 50 000 ton rocznie kwasu mlekowego, z czego ok. 70 % metodą fermentacyjną, a pozostałą część otrzymuje się na drodze syntezy chemicznej. Kwas mlekowy dostępny jest jako: techniczny, do celów spożywczych, farmakopealny oraz do produkcji biopolimerów [17].

Mgr inż. M. Pałys, prof. dr hab. Z. Targoński, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

Kwas mlekowy jest substancją bezbarwną i bezzapachową, co jest ważne w wielu branżach, w tym w przemyśle spożywczym [33, 34, 44]. Jest najprostszym karboksylowym kwasem z asymetrycznym atomem węgla ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) [5, 19]. Kwas mlekowy występuje w przyrodzie w postaci dwóch izomerów optycznych: kwasu D(-) i L(+) mlekowego [34]. Podwyższony poziom D-izomeru jest szkodliwy dla organizmu człowieka, dlatego forma L(+) kwasu mlekowego jest preferowana w produkcji żywności i w przemyśle farmaceutycznym [11, 34].

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego czynników decydujących o efektywności produkcji kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju *Rhizopus*.

Charakterystyka i wykorzystanie grzybów z rodzaju *Rhizopus*

Rodzaj *Rhizopus* należy do grzybów strzępkowych. Mogą być one pożyteczne lub szkodliwe. Szkodliwe działanie tych grzybów objawia się w produktach żywnościowych – powodują psucie owoców, mięsa, serów i chleba. Niektóre gatunki, jak *Rhizopus nigricans* i *Rhizopus oryzae* wytwarzają mikotoksyny [26].

Grzyby z rodzaju *Rhizopus* są wykorzystywane do produkcji leków steroidowych np. hydrokortyzonu i związków pochodnych. W roztworach cukru mogą powodować fermentację alkoholową, prowadzącą do otrzymania napojów alkoholowych [26]. Gatunki *Rhizopus* są używane w Azji w procesie fermentacji do przetwarzania soi i produkcji żywności takiej, jak: tempeh, peka, ragi i loog-pang [3, 15]. Fermentacja produktów spożywczych przez te grzyby zwiększa ich strawność i zapobiega psuciu się [15, 28]. Grzyby te, w szczególności gatunek *Rhizopus oryzae*, są zdolne do produkcji kwasów organicznych, głównie kwasu mlekowego i fumarowego [20, 27, 29, 40]. W porównaniu z bakteriami mają małe potrzeby pokarmowe, wymagają oprócz źródła węgla jedynie soli nieorganicznych [33, 44]. W czasie fermentacji kultury *Rhizopus* są bardziej odporne na środowisko kwasowe niż bakterie [33]. Termofilne grzyby z rodzaju *Rhizopus*, w porównaniu z mezofilnymi, różnią się morfologią i produkcją kwasu mlekowego [15].

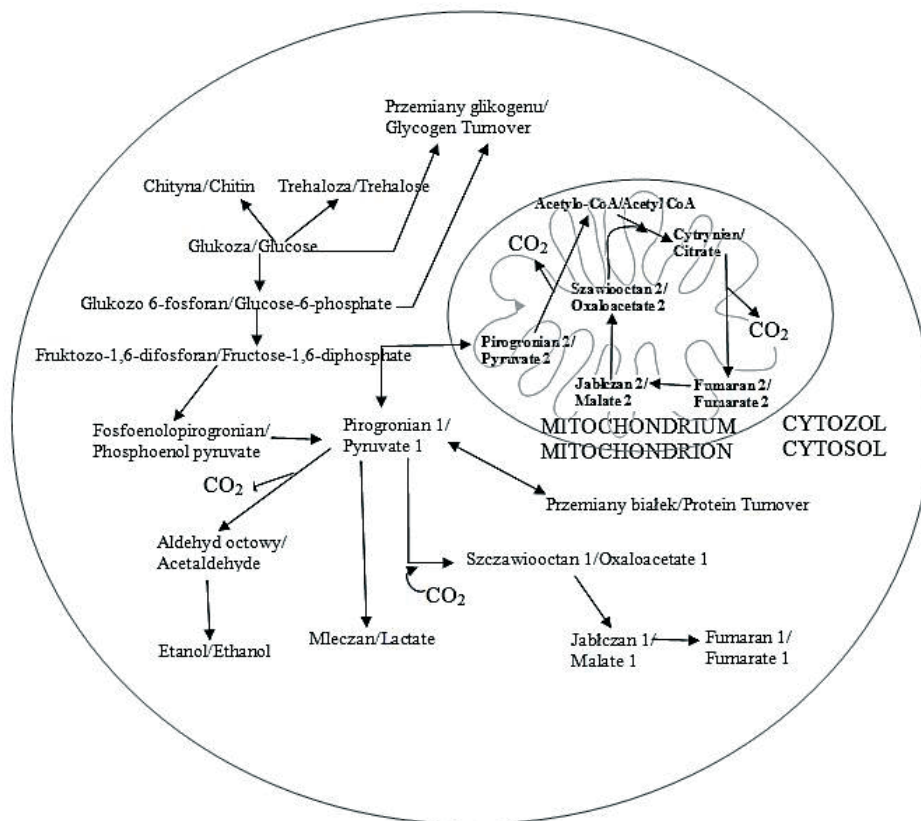
Produkcja kwasu mlekowego

*Biochemizm produkcji kwasu mlekowego przez gatunki grzybów *Rhizopus**

Proces wytwarzania kwasów organicznych z udziałem gatunków grzyba *Rhizopus* ma charakter tlenowy. Przemiany glukozy z udziałem szczepów *Rhizopus oryzae* prowadzą do wytworzenia pirogronianu, który może być przekształcany poprzez dwa szlaki metaboliczne (rys. 1). Pierwsza ścieżka metabolizmu pirogronianu prowadzi do wytworzenia aldehydu octowego oraz mleczanu, a w efekcie czystego etanolu i kwasu mlekowego. Druga ścieżka prowadzi poprzez cykl Krebsa i dostarcza kwasu jabłko-

wego i fumarowego. W procesach, które przyczyniają się do produkcji tych metabolitów biorą udział następujące enzymy: dekarboksylaza pirogronianowa (PDC), karboksylaza pirogronianowa (PC), dehydrogenaza alkoholowa (ADH), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) i fumaraza. Enzymy te odgrywają główną rolę w prowadzeniu reakcji biochemicznych, a w konsekwencji określają wydajność produktów końcowych [21, 44].

W eksperymencie przeprowadzonym przez Thitipraserta i wsp. [31] stwierdzono, że metabolizm glukozy z udziałem *Rhizopus oryzae* można kształtować przez regulację poziomu enzymów ADH i LDH. Wprowadzenie inhibitorów chemicznych hamujących działanie dehydrogenazy alkoholowej prowadzi do zmniejszenia wydajności etanolu, co stymuluje działanie dehydrogenazy mleczanowej (LDH), a w efekcie powoduje zwiększoną wydajność kwasu mlekowego o 38 % w stosunku do pierwotnej fermentacji.



Rys. 1. Schemat przedstawiający metabolizm glukozy *Rhizopus oryzae*.

Fig. 1. Schematic diagram to show glucose metabolism of *Rhizopus oryzae*.

Źródło: / Source: wg Longacre [21], zmodyfikowany / acc. to Longacre [21], modified.

Maas i wsp. [22] badali wpływ wzrostu i oddychania grzyba *Rhizopus oryzae* CBS 112.07 w metabolizmie ksylozy i glukozy na produkcję kwasu mlekowego. W szlaku metabolicznym ksylozy enzym reduktaza ksylozy (XR) prowadzi do konwersji ksylozy w ksylitol, następnie dehydrogenaza ksylitolu (XDH) przekształca ksylitol do ksylulozy zaś ksylokinaza (XK) 5-fosforan ksylulozy do 6-fosforanu glukozy.

Powstały 6-fosforan glukozy ostatecznie jest rozszczepiany na dwie cząsteczki pirogronianu, który jest substratem wzrostu biomasy grzybów, fermentacji i oddychania. Metabolizm ksylozy w dwuetapowym procesie redukcji i utleniania prowadzi do wytworzenia biomasy grzybów, etanolu, dwutlenku węgla, kwasu mlekowego i wody.

Źródło azotu i soli mineralnych oraz optymalne warunki hodowli grzybów z rodzaju *Rhizopus* w produkcji kwasu mlekowego

Szczepki z rodzaju *Rhizopus* są zdolne wykorzystywać jako źródło węgla i energii zarówno sacharydy proste i dwucukry, jak również polisacharydy. Do produkcji kwasu mlekowego we wcześniejszych badaniach wykorzystywano głównie glukozę [6, 7, 9, 21, 25, 27, 29, 38]. Liczne szczepki mają zdolność wykorzystywania także fruktozy [40], ksylozy [22, 39] mannozy, galaktozy [40], a w mniejszym stopniu sacharozy [40]. Szczepki gatunku *Rhizopus oryzae* wytwarzające kwas mlekowy są zdolne do degradacji skrobi [24, 30] oraz celulozy i hemicelulozy [37]. Dlatego też w licznych publikacjach zwraca się uwagę na możliwości produkcji kwasu mlekowego na bazie produktów ubocznych przemysłu rolno-spożywczego i papierniczego, zawierających skrobię i biomasę ligninocelulozową [14]. Jednak największe znaczenie mają typowe surowce, takie jak: melasa, surowce skrobiowe (kukurydza, ziemniaki, ziarno zbóż) [12, 40, 46] oraz surowce ligninocelulozowe (słoma zbóż, kolby kukurydziane, odpady drzewne) [2, 37]. Szczepki *Rhizopus oryzae* są zdolne do produkcji kwasu mlekowego z produktów rozkładu biomasy ligninocelulozowej zawierającej glukozę i ksylozę. Słoma zbóż i odpady drzewne wymagają wstępnej obróbki, np. poprzez ogrzewanie z 0,5 % kwasem siarkowym w temp. 180 - 200 °C, aby ułatwić celulazom i ksylanazom dostęp do polimerów biomasy [37].

Produkcja kwasu mlekowego na bazie polisacharydów obejmuje dwa etapy. W pierwszym w wyniku syntezy enzymów hydrolitycznych polisacharydy ulegają degradacji do sacharydów prostych (glukoza, ksyloza), a te są fermentowane do kwasu mlekowego. Wiele czynników decyduje o efektywności tego procesu, m.in.: temperatura, pH, rodzaj oraz stężenie substratu, dobór odpowiedniego szczepki, natlenienie podłoża hodowlanego i inne. Proces ten może być prowadzony zarówno w hodowli płynnej, jak też w złożu stałym [44].

Produkcję kwasu mlekowego przez szczepki z rodzaju *Rhizopus* prowadzi się w hodowli wgłębnej, co opisali w 1936 r. Lockwood i wsp. [20]. Autorzy zastosowali *Rhizopus oryzae* i wykorzystali glukozę jako źródło węgla. Proces ten wymaga ograni-

czonego dostępu źródła azotu. W pierwszej fazie hodowli w obecności w podłożu małych ilości azotu i soli mineralnych następuje namnożenie biomasy niezbędnej do produkcji kwasu mlekowego. W drugiej fazie cechującej się zahamowaniem przyrostu biomasy rozpoczyna się intensywna produkcja kwasu mlekowego. Źródło węgla dodawane jest do podłoża hodowlanego w nadmiarze w stosunku do źródła azotu, tak aby po wytworzeniu pewnej ilości biomasy nastąpiła druga faza procesu, w której grzyb wytwarza kwas mlekowy i inne metabolity. Jako źródła azotu wykorzystuje się siarczan amonu lub azotan amonu. W badaniach Warda i wsp. [36] najlepszym źródłem azotu do produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus oryzae* NRRL 395 okazał się NH_4NO_3 . Na azotan(V) amonu jako najbardziej odpowiednie źródło azotu do produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus arrhizus* WEBL 0501 zwrócili też uwagę Zhang i wsp. [45]. Natomiast Zhou i wsp. [48] w doświadczeniu z glukozą, w optymalnych warunkach hodowli grzyba *Rhizopus oryzae* ATCC 52311, wykazali, że najlepszym źródłem azotu spośród badanych (azotan, mocznik, ekstrakt drożdżowy, siarczan amonu) był siarczan(VI) amonu w stężeniu 0,1 %. Największe stężenie kwasu mlekowego wynoszące 56,8 g/l oraz wydajność 0,62 g/g glukozy uzyskano po 60 h inkubacji. Yin i wsp. [40] także uznali siarczan amonu za najlepsze źródło azotu w produkcji kwasu mlekowego przez szczep *Rhizopus oryzae* NRRL 395 w porównaniu z ekstraktem drożdżowym, maniakiem kukurydzianym i polipeptonem. Największą wydajność kwasu mlekowego otrzymano w obecności siarczanu amonu w stężeniu 1,35 g/l.

Jin i wsp. [14] wykazali, że uzupełnienie pożywki zawierającej odpady przetwórstwa spożywczego bogate w skrobię i cukry rozpuszczalne z dodatkiem siarczanu amonu wyciągiem z drożdży i peptonem w ilości 2 g/l zwiększało produkcję kwasu mlekowego o 8 - 15 % i wydajność biomasy grzybów *Rhizopus oryzae* 2062 i *Rhizopus arrhizus* 36017 o 10 - 20 %.

Dobrym źródłem azotu zastępującym pepton może być również mączka rybna z dorsza. Stwierdzono bowiem najlepszą wydajność kwasu mlekowego i biomasy grzybni w hodowli *Rhizopus oryzae* As 3.254 na podłożu zawierającym glukozę z dodatkiem mączki rybnej [13].

Na produkcję kwasu mlekowego z udziałem grzybów z rodzaju *Rhizopus* wpływa stosunek węgla do azotu. Maas i wsp. [22] stwierdzili, że największą wydajność produkcji biomasy i kwasu mlekowego w obecności ksylozy jako źródła węgla otrzymuje się przy stosunku C : N wynoszącym 61 : 1, zaś w obecności glukozy, gdy C : N wynosi 201 : 1. Stosując 30 g/l substratu otrzymali większą produkcję kwasu, gdy źródłem węgla była glukoza (21,6 do 23,5 g/l) niż ksyloza (12,0 do 18,8 g/l). Woiciechowski i wsp. [37] udowodnili statystycznie, że stosunek C : N wynoszący 35 : 1 i stężenie cukrów redukujących 90 g/l podłoża były najlepszymi warunkami do produkcji kwasu mlekowego. Z danych doświadczalnych wynikało natomiast, że maksimum produkcji kwasu mlekowego miało miejsce w obecności 75 g cukrów redukują-

cych/l i stosunku C : N równym 55 : 1. Przeciwnie Zhang i wsp. [45], po przetestowaniu różnych źródeł azotu (siarczan(VI) amonu, azotan(V) amonu, mocznik, wyciąg z drożdży i pepton) w procesie wytwarzania kwasu mlekowego przez *Rhizopus arrhizus* WEBL 0501 z odpadów przemysłowych zawierających skrobię ziemniaczaną wykazali, że to właśnie niski stosunek C : N zwiększał produkcję kwasu mlekowego, biomasy i etanolu, zaś wysoki stosunek – zwiększał ilość produkowanego kwasu fumarowego.

W podłożu hodowlanym przeznaczonym do produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus* winny znajdować się jony potasowe, magnezowe, cynkowe oraz jony siarczanowe i fosforanowe. Hodowla wglębna szczepów z rodzaju *Rhizopus* wymaga napowietrzania pożywki, szczególnie intensywnego w pierwszej fazie charakteryzującej się wytwarzaniem biomasy grzybni. Z kolei wytwarzanie kwasu mlekowego wymaga neutralizacji podłoża, gdyż optymalne pH produkcji kwasu wynosi 5,0 z tolerancją jednej jednostki.

Dobór optymalnych warunków hodowli grzybów z rodzaju *Rhizopus* w dużym stopniu może zwiększyć produkcję kwasu mlekowego [2, 12, 24, 38, 48]. W eksperymentach laboratoryjnych [48] wykazano, że fermentacja glukozy z użyciem szczepu *Rhizopus oryzae* ATCC 52311 prowadzona w bioreaktorze kolumnowym, w optymalnych warunkach dotyczących składu podłoża i dzięki napowietrzaniu zwiększała wydajność biomasy i kwasu mlekowego bardziej niż prowadzona w kolbach na wytrząsarkach. Mniejszy wpływ na wydajność produkcji kwasu mlekowego miały natomiast jony metali, z których najlepsze okazały się: Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} [48].

Na przydatność substratów hemicelulozowych do wydajnej produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus oryzae* HZS6 zwrócili uwagę także Bai i wsp. [2]. Poprzez dobór warunków hodowli, takich jak pH i temperatura, zoptymalizowali wzrost zaadaptowanego szczepu grzyba i zapewnili lepsze wykorzystanie podłoża i dwukrotny wzrost ilości kwasu mlekowego. Dotyczyło to w szczególności możliwości wykorzystania ksylozy zawartej w hydrolizacie kolby kukurydzianej – nieasymilowanej przez szczep macierzysty (*Rhizopus oryzae* HM11). Największą wydajność produkcji kwasu mlekowego osiągnęto w temp. 34 °C przy pH 5,8.

Na wydajność kwasu mlekowego miały ponadto wpływ takie czynniki, jak: wielkość i forma inokulum, obecność węglanu wapnia, czas i temperatura fermentacji oraz skład podłoża hodowlanego. Wu i wsp. [38] wykazali, że optymalna półciągła fermentacja z użyciem *Rhizopus oryzae* AS 3.819 z dużą wydajnością kwasu mlekowego przebiegała po zaszczepleniu 4 % zawiesiną zarodników z użyciem węglanu wapnia i temp. od 32 do 34 °C. W innych badaniach wykazano, że *Rhizopus arrhizus* szczep DAR 36017 wykazywał wysoką zdolność do scukrzania skrobi ziemniaczanej i syntezy kwasu mlekowego w obecności $CaCO_3$. Największą wydajność kwasu mlekowego wynoszącą 21 g/dm³ uzyskano w temp. 30 °C, przy pH podłoża w granicach 5 - 6 [12].

Według Miury i wsp. [24] optymalne warunki hodowli, tj. temp. 30 °C, pH 6,5 oraz napowietrzenie hodowli mutantu *Rhizopus* sp. MK 96-1196 na zhydrolizowanej skrobi umożliwiły otrzymanie płynu pohodowlanego zawierającego 93 g/l kwasu mlekowego przy produktywności $2,6 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, czemu odpowiadała wydajność na poziomie 87 %.

Formy morfologiczne grzyba a kwas mlekowy

Grzyby nitkowate (*filamentous fungi*), czyli tworzące grzybnię zbudowaną ze strzępek w hodowlach wgłębnych, mogą rosnąć w formie homogennej zawiesiny strzępek, co jest określane jako wzrost nitkowaty (*filamentous growth*) lub jako odrębne skupiska grzybni, które zależnie od gatunku oraz warunków hodowli przyjmują różne formy – od skrajnie luźnych kłaczków do granulek zbudowanych z gęstej i zbitej grzybni, określanych jako pellets. Grzyby tworzące strzępki podzielone septami rosną lepiej w hodowlach wgłębnych (grzyby wyższe) niż grzyby o strzępkach niepodzielonych, m.in. z rodzaju *Mucor* i *Rhizopus* [3].

Forma wzrostu w hodowlach wgłębnych jest szczególnie ważna w technologiach fermentacyjnych, ponieważ wpływa na szybkość wzrostu mikroorganizmów oraz tworzenie produktów [3]. Grzyby z rodzaju *Rhizopus* w hodowlach wgłębnych mogą rosnąć w trzech wymienionych formach: dyfuzyjnej, luźnych kłaczków grzybni (*clump form*) oraz sferycznych kuleczek o zbitej grzybni, czyli pellets. Forma zależy od szczepu, ale także od szeregu czynników środowiskowych, takich jak: pH, gęstość zarodników (inokulum), rodzaj i stężenie podłoża, zawartość tlenu, wysokość temperatury itd. Formy morfologiczne grzyba z rodzaju *Rhizopus* były kształtowane przez czynniki hodowli w wielu badaniach [1, 7, 19, 23, 25, 38, 41, 42, 46, 47, 48].

Bai i wsp. [1] wykazali, że czynnikami wpływającymi na tworzenie określonych form morfologicznych grzybów *Rhizopus oryzae* 1021 były m.in.: obecność CaCO_3 i NH_4NO_3 , wielkość inokulum (koncentracja spor), szybkość mieszania i wielkość napowietrzania. Węglan wapnia i poziom stężenia zarodników wpływały na formę morfologiczną grzybów w hodowlach wgłębnych. Dodatek CaCO_3 w początkowym okresie (od 0 do 6 h) wzrostu grzyba sprzyjał tworzeniu kłaczków (*clump form*) i mniejszej produkcji kwasu mlekowego. Wprowadzenie węglanu wapnia po 8 - 10 h hodowli indukowało wzrost w formie pellets i sprzężoną z tym wyższą wydajność produkcji kwasu mlekowego. Efekt wyższej wydajności kwasu był uwarunkowany regulacją pH podłoża. Wymienieni autorzy wykazali także, że *Rhizopus oryzae* 1021, zależnie od stężenia zarodników (inokulum), rósł w formie nitkowatej (*filamentous form*), granulowej (*pellets*) lub kłaczkowej (*clump*). Formę nitkowatą uzyskiwano, gdy gęstość zawiesiny spor była najmniejsza ($10^3 - 10^5/\text{ml}$), pellets – gdy wynosiła $10^6/\text{ml}$, a formę kłaczkową w przypadku inokulum 10^7 spor/ml. Czynniki wpływającymi na wielkość pellets były: szybkość mieszania i napowietrzania hodowli *Rhizopus oryzae* 1021. Gdy szybkość mieszania zwiększała się, rozmiary pellets ulegały zmniejszaniu, co

sprzyjało zwiększaniu produkcji kwasu mlekowego. W przypadku napowietrzania otrzymano efekt odwrotny. Wzrost napowietrzania powodował tworzenie pellets o większej średnicy i zmniejszenie wydajności kwasu mlekowego.

Istotne znaczenie dla formy wzrostu i wydajności kwasu mlekowego ma także gęstość zawiesiny zarodników użytych jako inokulum. Yin i wsp. [41] stwierdzili, że zaszczepienie (w kolbach) pożywki 2×10^6 zarodników/ml prowadziło do tworzenia małych jednolitych pellets, które dostarczały największego stężenia kwasu mlekowego. Koncentracja od 2×10^3 do 2×10^5 zarodników/ml pożywki prowadziła do wytworzenia trwałej formy kłaczkowej i zmniejszenia produkcji kwasu mlekowego. Dowiedli też, że podobne formy morfologiczne grzyba *Rhizopus oryzae* NRRL 395 tworzyło inokulum zarodników w bioreaktorze.

Zdaniem Martáka i wsp. [23] formę morfologiczną grzyba *Rhizopus arrhizus* CCM 8109 również można kształtować przez szczepienie hodowli odpowiednim inokulum zarodników a także poprzez dodatek CaCO_3 lub NH_4OH . Autorzy otrzymali jednak większą wydajność kwasu mlekowego wówczas, gdy grzyb rósł w formie nitkowatej, a nie pellets. Najbardziej efektywna produkcja kwasu zachodziła w środowisku o pH 5,30 w przypadku form nitkowatych. Zmiana formy nitkowatej na formę pellets i zmniejszenie pH poniżej 5,0 spowodowały zmniejszenie wydajności kwasu. Amoniak wywierał negatywny wpływ na produkcję kwasu mlekowego. Według Zhanga i wsp. [46, 47] wzrost wysoko wydajnej w produkcji kwasu mlekowego formy *Rhizopus arrhizus* DAR 36017 (pellets małych rozmiarów) można otrzymać po uprzedniej adaptacji szczepu do wzrostu w warunkach kwasowych.

Park i wsp. [25] stwierdzili wydajną produkcję kwasu mlekowego z udziałem form kłaczkowych grzyba *Rhizopus oryzae* NRRL 395. Formę kłaczkową tego grzyba, podobną do bawełny, uzyskali po dodaniu 5 ppm politlenku etylenu i 3 g/l związków mineralnych. Cytowani autorzy otrzymali optymalną produkcję kwasu mlekowego dla formy kłaczkowej podczas prowadzenia hodowli w bioreaktorze. Yu i wsp. [42] uzyskali także zwiększoną produkcję kwasu mlekowego z glukozy z zastosowaniem form kłaczkowych kultury *Rhizopus oryzae* ATCC 9363. W czasie fermentacji utrzymywali w roztworze poziom amoniaku wyższy niż 0,1 g/l i pH 4,3 - 4,5, które regulowali węglanem wapnia, aby utrzymać formę kłaczkową.

Za obiecującą w produkcji kwasu mlekowego uważa się fermentację półciąglą (faza wzrostu komórek oraz etap produkcji biomasy) z udziałem *Rhizopus oryzae* AS 3.819 [38]. W obecności źródła węgla, azotu i innych jonów *Rhizopus oryzae* rósł w formie jednolitych pod względem wielkości pellets, które w optymalnych warunkach odżywczych utrzymywały wysoką wydajność kwasu mlekowego. Zdaniem autorów duży wpływ na utrzymanie formy morfologicznej grzybów AS 3.819 miała także temperatura. W temp. powyżej 34 °C, z dodatkiem CaCO_3 , grzyb tworzył kłaczkę, co

prowadziło do zmniejszenia wydajności kwasu mlekowego, zaś w temp. 32 - 34 °C grzyb rósł w formie jednolitych pellets o wysokiej wydajności kwasu mlekowego.

Obie formy wzrostu grzybni: nitkowata (*filamentous*) i granulowa (*pellets*) *Rhizopus oryzae* ATCC 52311, przebadane przez Du i wsp. [7], wykazywały wysoką wydajność kwasu L-mlekowego w kadzi fermentacyjnej, przy początkowym stężeniu glukozy powyżej 70 g/l. Ostateczne stężenie kwasu mlekowego wyprodukowanego przez nitkowate formy grzybni wskazywało na 80-procentowe zużycie glukozy, zaś granulowe: na 86-procentowe.

Liu i wsp. [19] prowadzili doświadczenia nad produkcją kwasu mlekowego i chityny z wybrakowanych ziemniaków i glukozy przy użyciu pellets *Rhizopus oryzae* NRRL 395. Zwiększenie produkcji kwasu mlekowego było regulowane glukozą ziemniaka, jako źródłem węgla, z dodatkiem węglanu wapnia i mieszaniną amoniaku oraz wodorotlenku sodu (neutralizator).

Z przeprowadzonych badań wynika, że forma morfologiczna grzyba rodzaju *Rhizopus*, w powiązaniu z doбором innych parametrów hodowlanych znacząco wpływa na produkcję kwasu mlekowego (tab. 1).

Wpływ unieruchamiania grzybni na produkcję kwasu mlekowego

Zdaniem niektórych badaczy [25, 32, 39] na produkcję kwasu mlekowego pozytywny wpływ wywiera unieruchomienie grzybni *Rhizopus oryzae* w procesie fermentacji. Thongchul i wsp. [32] w procesie fermentacji glukozy i zhydrolizowanej masy manioku z udziałem grzyba *Rhizopus oryzae* NRRL 395 uzyskali większe stężenie kwasu mlekowego w przypadku komórek unieruchomionych niż wolnych. Największe stężenie kwasu mlekowego uzyskane z glukozy przez immobilizowaną grzybnię wynosiło 23,76 g/l, zaś przez grzybnię wolną: 21,82 g/l. Maniok zhydrolizowany kwasem solnym również zwiększał stężenie kwasu mlekowego, gdy proces prowadzono z użyciem grzybni unieruchomionej (6,67 g/l) niż wolnej (4,47 g/l). Pośrednie wartości otrzymano, stosując enzymatyczny hydrolizat manioku. Podobnie jak stężenie kwasu mlekowego, produktywność grzybni unieruchomionej osiągała wyższe wartości w porównaniu z grzybnią wolną.

Park i wsp. [25], którzy prowadzili badania w bioreaktorze, użyli immobilizowanej formy kłaczkowej (bawełnopodobnej) *Rhizopus oryzae* NRRL 395. W ciągu 58-godzinnej fermentacji stwierdzili produktywność kwasu mlekowego na poziomie 87 %.

T a b e l a 1

Parametry produkcji kwasu mlekowego przy udziale różnych form morfologicznych grzyba *Rhizopus*.
Parameters of lactic acid production with use of various morphological forms of *Rhizopus* fungus.

Forma grzyba Fungus shape	Proces Process	Wydajność Yield [%]	Produktywność Productivity [g ⁻¹ ·h ⁻¹]	Stężenie Concentration [g/l]	Pozycja w bibliografii Reference Item
Nitki / Filamentous form	średnia 3 cyklów / mean of 3 batches	83,1	3,04	57,6	[7]
Nitki / Filamentous form	półciągła fermentacja semi-continuous fermentation	75,3	2,91	-	[23]
Kłaczki / Clumps	cykl / batch	87,0	1,8	104,6	[25]
Kłaczki / Clumps	powtarzający się cykl / repeated batch	71,4	1,07	85,7	[41]
Kłaczki / Clumps	1. cykl / first batch	87,2	2,73	109	[42]
Kłaczki / Clumps	średnia 4 kolejnych cykli / mean of 4 successive batches	90,4	4,03	113	
Granulki / Pellets	średnia 3 cykli / mean of 3 batches	89,2	2,95	62,5	[7]
Granulki / Pellets	półciągła fermentacja / semi-continuous fermentation	62,6	1,63	-	[23]
Granulki / Pellets	powtarzający się cykl / repeated batch	86	2,8-3,0	140	[19]
Jednolite granulki / Uniform pellets	1. cykl / first batch	78,75	2,16	103,7	[38]
Jednolite granulki / Uniform pellets	19 kolejnych cykli / 19 successive batches	80-90	3,40-3,85	81-95	
Granulki o średnicy 1,4 mm / Pellets with a diameter of 1,4 millimeters	1. cykl / first batch	76,4	-	76,35	[1]
Granulki o średnicy 1,4 mm / Pellets with a diameter of 1,4 millimeters	6. cykl / first batch	74,2	-	74,92	
Małe granulki / Small pellets	powtarzające się cykle / repeated batches	62-74	2,9-6,2	60	[39]
Małe granulki / Small pellets	powtarzający się cykl / repeated batch	-	1,07	85,7	[41]
Małe granulki / Small pellets	-	86	-	85,7	[46]
Małe granulki / Small pellets	1. cykl / first batch	88	2,1	88,1	[47]
Małe granulki / Small pellets	cykl / batch	88	2,58	83	[48]

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study.

Tabela 2

Sposoby unieruchamiania grzybnii *Rhizopus* i ich wpływ na produkcję kwasu mlekowego.
Methods of immobilization of *Rhizopus mycelium* and their influence on the production of lactic acid.

Nośnik unieruchomienia Immobilization support	Cukier Sugar	Proces [cycle, czas] Process [batches, time]	Wydajność [%] Yield [%]	Produktywność [g·l ⁻¹ ·h ⁻¹] Productivity [g·l ⁻¹ ·h ⁻¹]	Koncentracja [g/l] Concentration [g/l]	Pozycja w bibliografii Reference
Kostki z pianki poliuretanowej Polyurethane foam cubes	glukoza glucose	10 powtarzających się cykli, 4 dni 10 repeated batches, 4 days	~75	~5	40	[6]
Bawelniana wkładka w bioreaktorze Cotton cloth in bioreactor	glukoza glucose	-	54	2,09	37,83	[4]
Gwiazda stalowa wyłożona tkaniną bawełnianą A steel asterisk lined with cotton cloth	glukoza glucose	9 powtarzających się cykli, 36 dni 9 repeated batches, 36 days	~80-93,4	0,72	68,8	[35]
Obracający się walec z tkaniną bawełnianą Cotton cloth in a rotating bed	skrobia starch glukoza glucose	powtarzające się cykle repeated batches	100 ~90	1,65 2,5	127 126	[30]
Obracająca się tarcza Rotating disc	glukoza glucose	5 powtarzających się cykli, 8 dni 5 repeated batches, 8 days	~75	1,67	60	[43]
Gąbka Loofa [1008 cm ³] wykonana z suszonych owoców Loofa sponge [1008cm ³] made from dried fruit	glukoza glucose	10 powtarzających się cykli, 20 dni 10 repeated batches, 20 days	63,6	1,36	65,8	[8]
Algmin wapnia w bioreaktorze Calcium alginate in bioreactor	glukoza glucose	cykl batch	64,8	1,6	73	[9]
Kulki alginianu wapnia w bioreaktorze Calcium alginate beads in bioreactor	glukoza glucose	powtarzające się cykle, 2 tygodnie repeated batches, 2 weeks	70-80	3-4	56-64	[18]
Kulki alginianu wapnia w żelu Calcium alginate beads in gel	glukoza glucose	5 cykli, 24 h fifth batch, 24 h	72	2,5	62,4	[10]

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study.

Yang i wsp. [39] badali wpływ glukozy i ksylozy jako źródeł węgla na produkcję kwasu mlekowego przez unieruchomienie pellets *Rhizopus oryzae* NRRL 395 o średnicy około 1 mm. W okresie 22 dni z glukozy wyprodukowali tą metodą kwas mlekowy w ilości ogółem od 1742 do 2001 g/l, co stanowiło wydajność 62 - 74 %. Podstawową zaletą tej metody było wielokrotne użycie pellets.

Wprowadzenie odpowiednich nośników polimerowych (naturalnych i syntetycznych) (tab. 2) i unieruchomienie na nich grzybów *Rhizopus oryzae* w produkcji kwasu mlekowego z cukrów było przedmiotem badań wielu autorów [4, 6, 8, 9, 10, 18, 30, 35, 43]. Poprzez unieruchomienie na nośnikach komórek grzybowych z rodzaju *Rhizopus* można zwiększyć produkcję kwasu mlekowego aż trzykrotnie w porównaniu z wolnymi komórkami [6, 18]. Ponadto, unieruchomione komórki grzyba mogą być wykorzystane nawet powyżej 10 cykli fermentacji [6].

Wykorzystanie kwasu mlekowego w przemyśle spożywczym

W przemyśle spożywczym kwas mlekowy pełni rozmaite funkcje technologiczne. Jest stosowany jako środek zakwaszający, konserwujący, regulujący mikroflorę lub jako dodatek poprawiający smak [34]. Polimery kwasu mlekowego wykorzystuje się do produkcji nieszkodliwych opakowań artykułów żywnościowych [44].

Kwas mlekowy znajduje się w wielu produktach spożywczych naturalnych bądź przetworzonych w procesie fermentacji [5, 33, 48]. Występuje w produktach fermentowanych, takich jak ogórki i kapusta oraz w innych warzywach. Produkty kwaszone zachowują dłużej trwałość. Fermentacja mlekowa wykorzystywana jest również w mleczarstwie do produkcji jogurtów, kefiru, serów twarogowych, topionych i ich pochodnych. Kwas mlekowy wykorzystuje się do zakwaszania przetworów żelowanych, takich jak dżemy i marmolady oraz napojów owocowych, majonezów, olejów jadalnych, koncentratów pomidorowych i innych produktów. Ponadto, kwas mlekowy jest doskonałą substancją zakwaszającą do produkcji przetworów rybnych, konserw mięsnych, wędlin, piwa, wódek gatunkowych, lodów i wyrobów cukierniczych [16]. W przemyśle piekarniczym jest surowcem do produkcji stearoilo-2-mleczanu wapnia, używanego do produkcji pieczywa i ciast [33]. W przemyśle mięsnym, oprócz hamowania rozwoju mikroflory patogennej wywołującej psucie, kwas mlekowy pełni rolę regulatora kwasowości, substancji smakowej i wspomagającej w procesie peklowania [16, 34].

Kwas mlekowy dodawany do żywności w ilości ponad 70 % stosowany jest jako środek konserwujący [33]. Z danych opublikowanych w 1995 roku w USA wynika, że 85 % kwasu mlekowego produkowanego w tym kraju było stosowane w żywności [34, 44].

Podsumowanie

Szczepy z rodzaju *Rhizopus* mają wiele zalet w porównaniu z bakteriami wytwarzającymi kwas mlekowy. Mają niewielkie wymagania, wykorzystują jako źródło węgla i energii szereg cukrów prostych i dwucukrów oraz polisacharydy. Biomase grzybni łatwo oddzielić od filtratu, a sama grzybnia może być wykorzystana m.in. do produkcji chitozanu lub jako dodatek do pasz.

Grzyby *Rhizopus* mają również znaczenie w produkcji kwasu mlekowego, do celów przemysłu spożywczego i chemicznego. Jediną ich wadą jest to, że w porównaniu z bakteriami mlekowymi charakteryzują się małą wydajnością produkcji kwasu mlekowego z cukrów. Istnieją jednak duże możliwości zwiększania produkcji kwasu mlekowego przez te grzyby. Jednym z nich jest optymalizacja warunków hodowli grzybów, w tym dobór odpowiedniego składu pożywki czy parametrów hodowli. Produkcja kwasu mlekowego uzależniona jest od odpowiedniego stosunku C i N w pożywce oraz od właściwej temperatury. Największą wydajność kwasu mlekowego uzyskuje się w temp. od 30 do 34 °C. Duży wpływ na wzrost wydajności kwasu mlekowego mają ponadto formy morfologiczne grzyba *Rhizopus*, regulowane m.in. przez dobór pH podłoża i stężenie zarodników w inokulum. Wysokie stężenie kwasu mlekowego uzyskuje się najczęściej stosując pellets małych rozmiarów lub formę kłaczkową grzybni. Produkcję kwasu mlekowego wydatnie zwiększa unieruchamianie komórek grzyba na różnych nośnikach, takich jak: tkanina bawełniana, pianka poliuretanowa, gąbka i inne oraz dobre napowietrzanie w bioreaktorze w procesie fermentacji. Unieruchomienie grzybni w porównaniu z grzybnią wolną może zwiększyć produkcję kwasu mlekowego nawet trzykrotnie.

Dalsze zwiększanie produktywności kwasu mlekowego przez szczepy *Rhizopus* wymaga pełniejszego poznania szlaków biosyntezy tego związku i ich regulacji oraz doskonalenia samych szczepów przy użyciu technik genetyki molekularnej, jak również technik bioinformatycznych, pomocnych w modelowaniu molekularnym.

Literatura

- [1] Bai D.M., Jia M.Z., Zhao X.M., Ban R., Shen F., Li X.G., Xu S.M.: L(+)-lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* R1021 in a stirred tank fermentor. Chem. Eng. Sci., 2003, **58**, 785-791.
- [2] Bai D.M., Li S.-Z., Liu Z.L., Cui Z.-F.: Enhanced L-(+)-lactic acid production by an adapted strain of *Rhizopus oryzae* using corn cob hydrolysate. Appl. Biochem. Biotechnol., 2008, **144**, 79-85.
- [3] Carlile M.J., Watkinson S.C., Gooday G.W.: Fungal Cells and Vegetative Growth. W: The Fungi. Academic Press, London 2001, pp. 85-184.
- [4] Chotisubha-Anandha N., Thitiprasert S., Tolieng V., Thongchu N.: Improved oxygen transfer and increased L-lactic acid production by morphology control of *Rhizopus oryzae* in a static bed bioreactor. Bioprocess Biosyst. Eng., 2010, 1-10 (article in press).
- [5] Datta R., Henry M.: Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies. J. Chem. Technol. Biotechnol., 2006, **81**, 1119-1129.
- [6] Dong X.Y., Bai S., Sun Y.: Production of L-lactic acid with *Rhizopus oryzae* immobilized in polyurethane foam cubes. Biotechnol. Lett., 1996, **18**, 225-228.

- [7] Du J., Cao N., Gong C.S., Tsao G.T.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* in a bubble column fermenter. Appl. Biochem. Biotechnol. – Part A Enz. Eng. Biotechnol., 1998, **70-72**, 323-329.
- [8] Ganguly R., Dwivedi P., Singh R.P.: Production of lactic acid with loofa sponge immobilized *Rhizopus oryzae* RBU2-10. Bioresour. Technol., 2007, **98**, 1246-1251.
- [9] Hamamci H., Ryu D.D.Y.: Production of L(+)-lactic acid using immobilized *Rhizopus oryzae* reactor performance based on kinetic model and simulation. Appl. Biochem. Biotechnol., 1994, **44 (2)**, 125-133.
- [10] Hang Y.D., Hamamci H., Woodams E.E.: Production of L (+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae* immobilized in calcium alginate gels. Biotechnol. Lett., 1989, **11**, 119-120.
- [11] Hofvendahl K., Hahn-Hägerdal B.: Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. Enz. Microbial. Technol., 2000, **26 (2-4)**, 87-107.
- [12] Huang L.P., Jin B., Lant P., Zhou J.: Biotechnological production of lactic acid integrated with potato wastewater treatment by *Rhizopus arrhizus*. J. Chem. Technol. Biotechnol., 2003, **78**, 899-906.
- [13] Huang L.P., Dong T., Chen J.W., Li N.: Biotechnological production of lactic acid integrated with fishmeal wastewater treatment by *Rhizopus oryzae*. Bioprocess Biosyst. Eng., 2007, **30**, 135-140.
- [14] Jin B., Yin P., Zhao L.: Production of lactic acid and fungal biomass by *Rhizopus* fungi from food processing waste streams. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2005, **32**, 678-686.
- [15] Kitpreechavanich V., Maneeboon T., Kayano Y., Sakai K.: Comparative characterization of L-lactic acid-producing thermotolerant *Rhizopus* fungi. J. Biosci. Bioeng., 2008, **106**, 541-548.
- [16] Kompendium dodatków do żywności. Red.: A. Rutkowski, S. Gwiazda, K. Dąbrowski. Wyd. Hortimex, Konin 2003.
- [17] Kubicek C.P.: Kwasy organiczne. W: Podstawy biotechnologii. Red. C. Ratledge, B. Kristiansen. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2011, ss. 248-264.
- [18] Li X.M., Lin J.P., Liu M.: Repeated-batch and continuous production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* immobilized in calcium alginate beads: reactor performance and kinetic model. Chin. J. Chem. Eng., 1998, **6**, 330-339.
- [19] Liu Y., Liao W., Chen S.: Co-production of lactic acid and chitin using a pelletized filamentous fungus *Rhizopus oryzae* cultured on cull potatoes and glucose. J. Appl. Microbiol., 2008, **105 (5)**, 1521-1528.
- [20] Lockwood L.B., Ward G.E., May O.E.: The physiology of *Rhizopus oryzae*. J. Agric. Res., 1936, **53**, 849-857.
- [21] Longacre A., Reimers J.M., Gannon J.E., Wright B.E.: Flux analysis of glucose metabolism in *Rhizopus oryzae* for the purpose of increasing lactate yields. Fungal Genet. Biol., 1996, **21**, 30-39.
- [22] Maas R.H.W., Springer J., Eggink G., Weusthuis R.A.: Xylose metabolism in the fungus *Rhizopus oryzae*: Effect of growth and respiration on L(+)-lactic acid production. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2008, **35 (6)**, 569-578.
- [23] Marták J., Schlosser Š., Sabolová E., Křištofiková L., Rosenberg M.: Fermentation of lactic acid with *Rhizopus arrhizus* in a stirred tank reactor with a periodical bleed and feed operation. Process Biochem., 2003, **38**, 1573-1583.
- [24] Miura S., Arimura T., Hoshino M., Kojima M., Dwiarti L., Okabe M.: Optimization and scale-up of L-lactic acid fermentation by mutant strain *Rhizopus* sp. MK-96-1196 in airlift bioreactors. J. Biosci. Bioeng., 2003, **96 (1)**, 65-69.
- [25] Park E.Y., Kosakai Y., Okabe M.: Efficient production of L(+)-lactic acid using mycelial cotton-like floes of *Rhizopus oryzae* in an air-lift bioreactor. Biotechnol. Prog., 1998, **14**, 699-704.
- [26] Piotrowska M., Żakowska Z.: Grzyby strzępkowe. W: Mikrobiologia techniczna. Red. Z. Libudzisz, K. Kowal, Z. Żakowska. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2007, ss. 60-83.
- [27] Soccol C.R., Marin B., Raimbault M., Lebeault J-M.: Potential of solid state fermentation for production of L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae* Appl. Microbiol. Biotechnol., 1994, **41 (3)**, 286-290.
- [28] Soccol C.R., Marin B., Raimbault M., Lebeault J-M.: Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1994, **41**, 330-336.

- [29] Soccol C.R., Stonoga V.J., Raimbault M.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus* species. World J. Microbiol. Biotechnol., 1994, **10** (4), 433-435.
- [30] Tay A., Yang S.T.: Production of L (+)-lactic acid from glucose and starch by immobilized cells of *Rhizopus oryzae* in a rotating fibrous bed bioreactor. Biotechnol. Bioeng., 2002, **80**, 1-12.
- [31] Thitiprasert S., Sooksai S., Thongchul N.: In vivo regulation of alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase in *Rhizopus oryzae* to improve L-lactic acid fermentation. Appl. Biochem. Biotechnol., 2011, **164**, 1305-1322.
- [32] Thongchul N., Navankasattusas S., Yang S-T.: Production of lactic acid and ethanol by *Rhizopus oryzae* integrated with cassava pulp hydrolysis. Bioprocess Biosyst. Eng., 2010, **33** (3), 407-416.
- [33] Tsao G.T., Cao N.J., Du J., Gong C.S.: Production of multifunctional organic acids from renewable resources. Advances in Biochem. Eng./ Biotechnol., 1999, **65**, 243-280.
- [34] Vijayakumar J., Aravindan R., Viruthagiri T.: Recent trends in the production, purification and application of lactic acid. Chem. Biochem. Eng. Quarterly, 2008, **22** (2), 245-264.
- [35] Wang Z., Wang Y., Yang S.-T., Wang R., Ren H.: A novel honeycomb matrix for cell immobilization to enhance lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. Bior. Technol., 2010, **101** (14), 5557-5564.
- [36] Ward G.E., Lockwood L.B, May O.E., Herrick H.T.: Biochemical studies in the genus *Rhizopus*. I. The production of dextro-lactic acid. J. Am. Chem. Soc., 1936, **58** (7), 1286-1288.
- [37] Woiciechowski A.L., Soccol C.R, Ramos L.P., Pandey A.: Experimental design to enhance the production of L(+)-lactic acid from steam-exploded wood hydrolysate using *Rhizopus oryzae* in a mixed-acid fermentation. Process Biochem., 1999, **34**, 949-955.
- [38] Wu X., Jiang S., Liu M., Pan L., Zheng Z., Luo S.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* using semicontinuous fermentation in bioreactor. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2010, **38** (4), 565-571.
- [39] Yang C.W., Lu Z., Tsao G.T.: Lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* in a submerged system. Appl. Biochem. Biotechnol., 1995, **51-52** (1), 57-71.
- [40] Yin P.M., Nishina N., Kosakai Y., Yahiro K., Park Y., Okabe M.: Enhanced production of L(+)-lactic acid from corn starch in a culture of *Rhizopus oryzae* using an air-lift bioreactor. J. Ferment. Bioeng., 1997, **84** (3), 249-253.
- [41] Yin P., Yahiro K., Ishigaki T., Park Y., Okabe M.: L(+)-Lactic acid production by repeated batch culture of *Rhizopus oryzae* in air-lift bioreactor. J. Ferment. Bioeng., 1998, **85**, 96-100.
- [42] Yu M.C., Wang R.C., Wang C.Y., Duan K.J., Sheu D.C.: Enhanced production of L(+)-lactic acid by floc-form culture of *Rhizopus oryzae*. J. Chin. Inst. Chem. Eng., 2007, **38** (3-4), 223-228.
- [43] Zhang D.F., Lin J.P., Jin Z.H.: Rotating disc contactor used for L-lactic acid production by immobilized *Rhizopus oryzae* and its scale-up. Chem. Eng. (China), 2004, **32** (1), 34-37.
- [44] Zhang, Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of lactic acid from renewable materials by *Rhizopus* fungi. Biochem. Eng. J., 2007, **35** (3), 251-263.
- [45] Zhang Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of lactic acid and by-products from waste potato starch by *Rhizopus arrhizus*: role of nitrogen sources. World J. Microbiol. Biotechnol., 2007, **23**, 229-236.
- [46] Zhang Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of L(+)-lactic acid using acid-adapted precultures of *Rhizopus arrhizus* in a stirred tank reactor. Appl. Biochem. Biotechnol., 2008, **149** (3), 265-276.
- [47] Zhang Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Enhancement of L(+)-lactic acid production using acid-adapted precultures of *Rhizopus arrhizus* in a bubble column reactor. J. Biosci. Bioeng., 2009, **108** (4), 344-347.
- [48] Zhou Y., Domínguez J.M., Cao N., Du J., Tsao G.T.: Optimization of L-lactic acid production from glucose by *Rhizopus oryzae* ATCC 52311. Appl. Biochem. Biotechnol., 1999, **77-79**, 401-407.

LACTIC ACID PRODUCTION BY FUNGI OF *RHIZOPUS* GENUS

Summary

Lactic acid is a product of anaerobic glycolysis performed by homo- and heterofermentative lactic acid bacteria. Attempts to use moulds of the *Rhizopus* genus in the production of lactic acid proved that this process was not cost-effective. The moulds of the *Rhizopus* genus have much lower nutritional requirements than lactic acid bacteria. Additionally, they use inexpensive polymers as a carbon source, such as: starch, hemicellulose, and cellulose; and the fermentation product is a desirable L(+) lactic acid. The paper presents a biochemical profile of the production of organic acids, including lactic acid, from glucose and xylose with the participation of *Rhizopus oryzae* strains, and the factors to determine the efficiency of the process are incorporated therein. The reference literature confirms that strains of the *Rhizopus* genus increase, in large measure, the production of lactic acid under optimal culture conditions, such as type and concentration of the substrate, appropriate temperature, as well as pH and oxygenation of the culture medium. The morphological form and immobilization of *Rhizopus* mycelium significantly add to the productivity and yield of lactic acid.

Key words: lactic acid, *Rhizopus*, culture conditions, morphological form, immobilization ☒

Redakcja czasopisma przeprasza mgra Piotra Szymańskiego i prof. dr hab. Danutę Kołożyn-Krajewską za niewłaściwą jakość rysunków wydrukowanych w artykule tych Autorów pt. „Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa”, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 3 (88), 61-72 (wersja wydrukowana).

Równocześnie informujemy, że w wersji on-line (<http://www.pttz.org/zyw/index.html>) zamieściliśmy plik, w którym rysunki zostały poprawione.

Redakcja czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość