

PRACE NAUKOWE

Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu

RESEARCH PAPERS

of Wrocław University of Economics

Nr 411

Wybrane zagadnienia z bioekonomii

Redaktor naukowy
Małgorzata Krzywonos



Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu
Wrocław 2015

Redakcja wydawnicza: Anna Grzybowska
Redakcja techniczna i korekta: Barbara Łopusiewicz
Łamanie: Agata Wiszniowska
Projekt okładki: Beata Dębska

Informacje o naborze artykułów i zasadach recenzowania
znajdują się na stronie internetowej Wydawnictwa
www.pracnaukowe.ue.wroc.pl
www.wydawnictwo.ue.wroc.pl

Publikacja udostępniona na licencji Creative Commons
Uznanie autorstwa-Użycie niekomercyjne-Bez utworów zależnych 3.0 Polska
(CC BY-NC-ND 3.0 PL)



© Copyright by Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
Wrocław 2015

ISSN 1899-3192
e-ISSN 2392-0041

ISBN 978-83-7695-567-4

Wersja pierwotna: publikacja drukowana

Zamówienia na opublikowane prace należy składać na adres:
Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu
ul. Komandorska 118/120, 53-345 Wrocław
tel./fax 71 36 80 602; e-mail: econbook@ue.wroc.pl
www.ksiegarnia.ue.wroc.pl

Druk i oprawa: TOTEM

Spis treści

Wstęp	7
Jolanta Błaszczyk, Małgorzata Krzywonos: Analiza właściwości moszczów winnych i win na przykładzie winnicy z Dolnego Śląska (Analysis of properties grape musts and wines on the example of vineyard from Dolny Śląsk)	9
Barbara Breza-Boruta, Judyta Gwardzik: Analiza mikrobiologiczna powietrza na terenie i w otoczeniu kompostowni (Microbiological analysis of the air in the composting facilities and its surroundings).....	19
Mateusz Grabowski, Paweł Ramos, Barbara Pilawa: Analiza oddziaływań resweratrolu, kwasów tłuszczowych oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczach z paramagnetycznym DPPH z wykorzystaniem spektroskopii EPR (Analysis of interactions of resveratrol, fatty acid, and vitamins soluble in fatty acid with paramagnetic DPPH by the use of EPR spectroscopy)	29
Jan Jagodziński, Sylwia Dziągów, Małgorzata Krzywonos: Wpływ substancji słodzących na cechy organoleptyczne cydru domowego (Influence of sweeteners on sensory properties of homemade cider).....	38
Sylwia Jarco, Barbara Pilawa, Paweł Ramos: Oddziaływanie rosuwastatyny poddanej działaniu czynnika termicznego z wolnymi rodnikami – zastosowanie spektroskopii EPR (Interactions of rosuvastatin effected by thermal factor with free radicals – applications of EPR spectroscopy).....	48
Benita Kostrzewa, Arleta Staszuk, Ryszard Tadeusiewicz, Ewa Karuga-Kuźniewska, Zbigniew Rybak: Nanotechnologia w biomedycynie (Nanotechnology in biomedicine)	59
Monika Kucharczyk, Małgorzata Krzywonos, Marta Wilk, Przemysław Seruga, Daniel Borowiak: Etnocentryzm konsumencki a produkty regionalne (Consumer ethnocentrism and regional products).....	87
Magdalena Malinowska, Elżbieta Sikora, Jan Ogonowski: Lipophilicity of lupeol semisynthetic derivatives (Lipofilowość półsyntetycznych pochodnych lupeolu)	97
Karolina Matej-Lukowicz, Ewa Wojciechowska: Opłaty za odprowadzanie wód deszczowych (Fees for the discharge of stormwater).....	104
Tomasz Podeszwa, Weronika Rutkowska: Wpływ warunków siewowania ziarna gryki na zawartość ekstraktu, barwę oraz lepkość brzeczek laboratoryjnych (kongresowych) (The impact of buckwheat seed germination conditions on the content of extract, colour and viscosity in congress mash).....	115

Weronika Rutkowska, Tomasz Podeszwa: Wpływ dodatku słodu gryczanego na właściwości przeciwutleniające brzeczek przednich (The influence of the addition of buckwheat malt to barley malt on antioxidant properties of sweet worts).....	124
Ewa Walaszczyk, Waldemar Podgórski, Elżbieta Gąsiorek: Dobór szczepu <i>Aspergillus niger</i> w procesie biosyntezy kwasu szczawiowego z sacharozy (<i>Aspergillus niger</i> strain selection for oxalic acid biosynthesis from sucrose).....	133
Marta Wilk, Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga, Monika Kucharczyk, Daniel Borowiak: Karmel w żywności (Caramel in food)	140

Wstęp

Mamy zaszczyt przedstawić Państwu publikację, która jest efektem II Ogólnopolskiej Konferencji Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2015”, która się odbyła w dniach 10-11 września 2015 r. na Wydziale Inżynierjno-Ekonomicznym Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu. Organizatorem konferencji jest Katedra Inżynierii Bioprocessowej, aktywnie wspierana przez afiliowane przy niej Koło Naukowe Młodych Inżynierów, oraz Akademickie Centrum Badań i Rozwoju BioR&D.

Gościliśmy ponad 100 przedstawicieli z 30 jednostek naukowych z całego kraju. Wysłuchaliśmy ponad 60 referatów oraz zobaczyliśmy 80 posterów. Duże zainteresowanie konferencją świadczy o tym, jak bardzo takie inicjatywy są potrzebne w gronie młodych adeptów nauki. Mamy to szczęście, że młodzi pracownicy nauki zechcieli się podzielić z nami swoimi pasjami naukowymi. Wierzymy, że takie inicjatywy są potrzebne, a świadczyć może o tym liczba uczestników. Ufamy, że nasze spotkanie było doskonałą płaszczyzną do wymiany poglądów na temat zagadnień dotyczących bioekonomii, związanych z badaniami podejmowanymi przez studentów i doktorantów. Mamy nadzieję, że w ten sposób zachęcimy młodych pracowników nauki do podejmowania wyzwań i rozwijania pasji naukowych i że nawiązane znajomości zaprocentują w przyszłości współpracą naukową między młodymi pracownikami, a co za tym idzie, między uczelniami i ośrodkami akademickimi. Zależy nam na tym, żeby studenci jak najwcześniej wchodzili w świat nauki, a uczestnictwo w konferencji i możliwość publikacji były ich pierwszym krokiem i doskonałą okazją, by zaistnieć w świecie naukowym.

Efektym finalnym konferencji jest niniejsza publikacja zawierająca zbiór interesujących, a zarazem różnorodnych artykułów naukowych poruszających rozmaite zagadnienia i problemy z obszaru nauk przyrodniczych i bioekonomii.

Składamy podziękowania wszystkim, którzy przyczynili się do powstania niniejszej publikacji. Uczestnikom konferencji i autorom publikacji życzymy wielu sukcesów naukowych.

W imieniu Komitetu Organizacyjnego
Małgorzata Krzywonos

Ewa Walaszczyk, Waldemar Podgórski, Elżbieta Gašiorek

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

e-mail: ewa.walaszczyk@ue.wroc.pl

**DOBÓR SZCZEPU *ASPERGILLUS NIGER*
W PROCESIE BIOSYNTETY
KWASU SZCZAWIOWEGO Z SACHAROZY**

***ASPERGILLUS NIGER* STRAIN SELECTION
FOR OXALIC ACID BIOSYNTHESIS FROM SUCROSE**

DOI: 10.15611/pn.2015.411.12

JEL Classification: Q160

Streszczenie: Celem pracy był dobór szczepu *Aspergillus niger* w procesie biosyntezy kwasu szczawiowego metodą okresowej hodowli wglębnej w podłożu z sacharozą jako źródłem węgla. W badaniach stosowano pięć szczepów *A. niger*: S, X, W78B, W78C i C12. Hodowle prowadzono w podłożu syntetycznym, w którym sacharozę rozcieńczano wodą wodociągową do stężenia 150 g dm⁻³. Badania prowadzono na wstrząsarce posuwisto-zwrotnej w temperaturze 30°C. Odczyn podłoża ustalano i regulowano na poziomie 6. Jako kryterium przydatności szczepu do procesu biosyntezy kwasu szczawiowego przyjęto współczynnik homofermentatywności. Najwyższą wartość tego parametru: 69,8% uzyskano w hodowli ze szczepem W78C, w której maksymalne stężenie kwasu szczawiowego wyniosło 33,5 g dm⁻³, szybkość tworzenia produktu 2,39 g dm⁻³ d⁻¹, a wydajność substratowa 22,3%. W przypadku pozostałych szczepów współczynnik homofermentatywności procesu przyjmował wartości w zakresie 46,5-60,9%.

Słowa kluczowe: kwas szczawiowy, biosynteza, *Aspergillus niger*, sacharoza, dobór szczepu.

Summary: The aim of the work was to select *Aspergillus niger* strain for oxalic acid biosynthesis in periodic submerged culture with sucrose as carbon source. There were five *A. niger* strains tested: S, X, W78B, W78C and C12 in synthetic medium containing sucrose in concentration of 150 g dm⁻³ diluted with tap water. Cultivations were conducted on a shaker in 30°C. Medium pH was regulated at 6. The main parameter of strain selection was chemical selectivity of the process. The highest value of this parameter, 69.8%, was obtained in cultivation with strain W78C, where final oxalic acid concentration was 33.5 g dm⁻³, volumetric rate of product formation 2.39 g dm⁻³ d⁻¹, and substrat yield 22.3%. Chemical selectivity in processes with other strains was between 46.5-60.9%. In conclusion, strain *A. niger* W78C was recognised as the best for oxalic acid biosynthesis from sucrose.

Keywords: oxalic acid, biosynthesis, *Aspergillus niger*, sucrose, strain selection.

1. Wstęp

Kwas szczawiowy (*oxalic acid*), inaczej kwas etanodiowy, jest pierwszym w szeregu homologicznym alifatycznym nasyconym kwasem dikarboksylovym, składającym się z dwóch bezpośrednio ze sobą połączonych grup karboksylowych. Jest szeroko rozpowszechniony w świecie roślinnym i zwierzęcym, praktycznie zawsze w postaci soli potasu, sodu, wapnia, magnezu lub żelaza [Sawada, Murakami 2000; Riemenschneider, Tanifuji 2003].

Kwas szczawiowy znajduje zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, zwłaszcza w przemyśle farmaceutycznym, metalurgicznym, produkcji pierwiastków ziem rzadkich, przemyśle chemicznym i włókienniczym [Sawada, Murakami 2000]. Zwiększa się też zainteresowanie jego zastosowaniem w produkcji żywności [Zheng i in. 2012a; 2012b; Huang i in. 2013; Jin i in. 2014; Li i in. 2014; Martinez-Espla i in. 2014; Ruiz-Jimenez i in. 2014].

Obecnie na skalę przemysłową kwas szczawiowy wytwarzany jest jedynie metodami chemicznymi, którym towarzyszy generowanie dużej ilości odpadów [Riemenschneider, Tanifuji 2003]. Możliwe jest także jego otrzymywanie na drodze biologicznej, gdyż kwas ten jest metabolitem wtórnym wielu gatunków drobnoustrojów. Za najlepszego producenta kwasu szczawiowego uznawane są grzyby strzępkowe z gatunku *Aspergillus niger*, które syntezują go w podłożu o odczynie bliskim neutralnemu [Strasser, Burgstaller, Schinner 1994; Ruijter, Vondervoort, Visser 1999; Foryś, Podgórski 2004; Musiał, Rymowicz, Witkowska 2008]. Uznaje się, że wydzielanie tego mocnego kwasu jest odpowiedzią na zmieniające się warunki środowiskowe bytowania drobnoustrojów i służy szybkiemu obniżeniu pH, co ma na celu ograniczenie rozwoju konkurencyjnej mikroflory, szczególnie bakteryjnej [Andersen, Lehmann, Nielsen 2009; Poulsen i in. 2012]. W pH powyżej 4 następuje wzrost aktywności hydrolazy szczawiooctanowej, enzymu odpowiedzialnego za rozkład szczawiooctanu na szczawian i octan. Proces ten zachodzi w cytoplazmie komórek *A. niger*, a powstający kwas szczawiowy, jako substancja toksyczna, jest usuwany poza komórkę [Kubicek i in. 1988; Ruijter, Vondervoort, Visser 1999; Gadd i in. 2014].

W ramach niniejszej pracy proces biosyntezy kwasu szczawiowego prowadzono metodą głębokiej hodowli okresowej w podłożu z sacharozą. Celem pracy był dobór szczepu *Aspergillus niger* w tym procesie.

2. Materiały i metody

Drobnoustroje. W badaniach stosowano pięć szczepów *A. niger*: S, X, W78B, W78C oraz C12, pochodzących z kolekcji czystych kultur Instytutu Chemii i Technologii Żywności Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu. Szczepy przechowywano na słupkach ziemniaczanych w temperaturze 4-5°C i pasażowano co sześć miesięcy.

Podłoże i warunki hodowli. Źródłem węgla dla drobnoustrojów była sacharaza w postaci cukru białego, rozcieńczona wodą wodociągową do stężenia 150 g dm⁻³.

Podłoże uzupełniano źródłami makroelementów w ilości [g dm⁻³]: NH₄NO₃ 0,6; KH₂PO₄ 0,2; MgSO₄·7H₂O 0,2.

Proces prowadzono w temperaturze 30°C w kolbach o pojemności 750 cm³ wypełnionych 125 cm³ podłoża, umieszczonych na wstrząsarce posuwisto-zwrotnej o częstotliwości 150 ruchów min⁻¹. Moment zakończenia procesu ustalano na podstawie braku przyrostu wartości kwasowości ogólnej mierzonej poprzez miareczkowanie 2 cm³ płynu hodowlanego za pomocą 0,1 M KOH. Odczyn podłoża ustalano na poziomie 6 i regulowano za pomocą 8 N KOH od 6 dnia procesu.

Metody analityczne. Stężenie kwasów organicznych i cukrów oznaczano metodą HPLC (Perkin Elmer) przy użyciu kolumny Aminex HPX-87H (Bio-Rad) oraz detektorów RI i UV/VIS o długości fali 210 nm (Perkin Elmer). Fazą mobilną był 5 mM H₂SO₄. Szybkość przepływu wynosiła 0,6 cm³ min⁻¹. Oznaczenia wykonywano w temperaturze pokojowej. Zawartość suchej substancji grzybni oznaczano metodą grawimetryczną przez odfiltrowanie biomasy i jej suszenie w temp. 105°C do stałej masy.

Obliczenia. Szybkość tworzenia produktu (Q_p) obliczano ze wzoru:

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

gdzie: Q_p – szybkość tworzenia produktu (kwasu szczawiowego) [g dm⁻³ d⁻¹],

P – stężenie kwasu szczawiowego [g dm⁻³],

t – czas [d].

Wydajność substratową ($Y_{p/S}$) obliczano ze wzoru:

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

gdzie: $Y_{p/S}$ – wydajność substratowa [%],

P – stężenie kwasu szczawiowego [g dm⁻³],

S – stężenie substratu przed procesem [g dm⁻³].

Współczynnik homofermentatywności procesu (HF) obliczano ze wzoru:

$$HF = \frac{P}{P + CA + GA} \cdot 100,$$

gdzie: HF – współczynnik homofermentatywności procesu biosyntezy kwasu szczawiowego [%],

P – stężenie kwasu szczawiowego [g dm⁻³],

CA – stężenie kwasu cytrynowego [g dm⁻³],

GA – stężenie kwasu glukonowego [g dm⁻³].

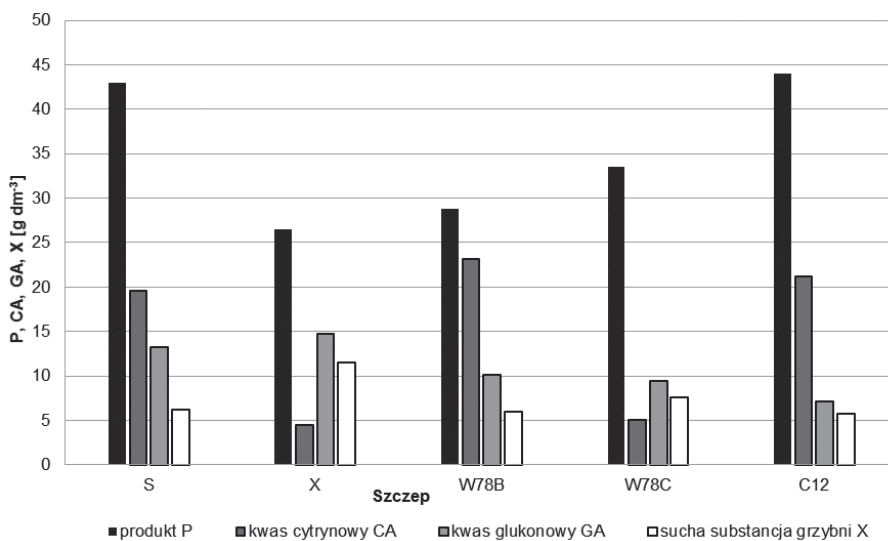
Wszystkie wyniki przedstawione w niniejszej pracy są wartościami średnimi otrzymanymi z dwóch niezależnych eksperymentów, w których wartości różnią się

nie więcej niż o 10%. W obliczaniu parametrów procesu uwzględniono odparowanie, nie przekraczające 10%.

3. Wyniki badań i ich omówienie

Dobór szczepu jest istotnym etapem badań wpływającym na wydajność procesów prowadzonych z udziałem drobnoustrojów [Poulsen i in. 2012]. Źródłem szczepów stosowanych w badaniach naukowych są szczepy dzikie, izolowane ze środowisk naturalnych, a także szczepy poddane mutacji przez działanie czynników chemicznych lub fizycznych albo uzyskane na drodze inżynierii genetycznej. W niniejszych badaniach testowano pięć szczepów *A. niger*, uzyskanych drogą mutacji pod wpływem działania promieniowania ultrafioletowego [Podgórski i in. 1986].

Wszystkie badane szczepy w podłożu, w którym pH regulowano na poziomie 6, z sacharozą jako źródłem węgla, produkowały kwas szczawiowy oraz kwasy towarzyszące: cytrynowy i glukonowy. Jak wynika z danych zaprezentowanych na rys. 1, uzyskane stężenia kwasu szczawiowego wahały się w zakresie od 26,5 do 44,4 g dm⁻³. Najwyższe stężenie produktu otrzymano, stosując szczepy *A. niger* C12 (44,4 g dm⁻³) oraz S (43,0 g dm⁻³). Szczepy W78B, C12 i S tworzyły znaczne ilości kwasu cytrynowego, w zakresie od 19,6 do 23,1 g dm⁻³, natomiast w hodowli z udziałem *A. niger* W78C stężenia kwasów towarzyszących były najniższe, odpowiednio: kwas cytrynowy 5,1 g dm⁻³, kwas glukonowy 9,4 g dm⁻³. W procesie tym stężenie produktu wyniosło 33,5 g dm⁻³ i było o 24,5% niższe niż maksymalne uzyskane w tej serii badań.



Rys. 1. Kształtowanie się stężenia produktu, kwasów towarzyszących i zawartości suchej substancji grzybni w hodowlach z udziałem testowanych szczepów

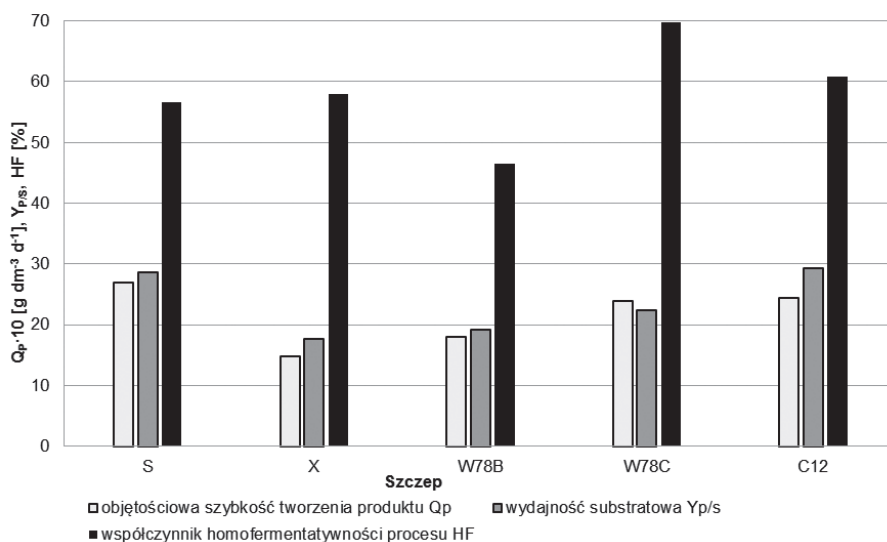
Źródło: badania własne.

Zawartość suchej substancji grzybni kształtowała się na wyrównanym poziomie we wszystkich wariantach hodowlanych i mieściła się w zakresie 5,7-7,6 g dm⁻³, z wyjątkiem hodowli z udziałem szczepu X, w której parametr ten osiągnął wartość 11,5 g dm⁻³.

W przypadku dwóch z pięciu testowanych szczepów, tj. W78C i X, w płynach pohodowlanych stwierdzono stosunkowo duże ilości cukrów, odpowiednio 18,0 i 15,7 g dm⁻³. Dla pozostałych szczepów ilość ta była znacznie niższa, 1-2 g dm⁻³, co świadczy o niemal całkowitym zużyciu przez nie stosowanego substratu.

Szczep W78C, w przypadku którego stwierdzono najwyższe stężenie cukrów końcowych, charakteryzował się najkrótszym czasem trwania procesu syntezy kwasu szczawiowego – 14 dni. Dla szczepów S i W78B czas ten wyniósł 16 dni, natomiast dla pozostałych – 18 dni.

Kształtowanie się szybkości tworzenia produktu, wydajności substratowej i współczynnika homofermentatywności procesu w hodowlach z udziałem testowanych szczepów zaprezentowano na rys. 2.



Rys. 2. Kształtowanie się objętościowej szybkości tworzenia produktu, wydajności substratowej oraz współczynnika homofermentatywności procesu w hodowlach z udziałem testowanych szczepów

Źródło: badania własne.

Najwyższą wydajność substratową, 29,4 i 28,7%, stwierdzono w hodowlach z udziałem szczepów odpowiednio S i C12. Szczepy te charakteryzowały się też najwyższymi objętościowymi szybkościami tworzenia produktu, wynoszącymi odpowiednio 2,69 g dm⁻³ d⁻¹ oraz 2,45 g dm⁻³ d⁻¹. Wysoką szybkość syntezy kwasu szczawiowego, równą 2,39 g dm⁻³ d⁻¹, uzyskano też w hodowli z udziałem szczepu W78C.

Ze względu na to, że wszystkie testowane szczepy, obok produktu głównego, syntezowały także kwas cytrynowy i glukonowy, istotne było określenie ich przydatności ze względu na selektywność tworzenia kwasu szczawiowego, zwłaszcza że w praktyce przemysłowej szczepy te charakteryzowały się wysoką czystością chemiczną procesu produkcji kwasu cytrynowego. Tworzenie się kwasów towarzyszących, szczególnie kwasu glukonowego, jest uznawane za główny problem związany ze stosowaniem sacharozy lub glukozy jako substratów w procesie syntezy kwasu szczawiowego przez *A. niger* [Cameselle i in. 1998; Strasser, Burgstaller, Schinner 1994; Musiał i in. 2008; Walaszczyk i in. 2014]. Z doniesień literaturowych wynika, że ilości ubocznego kwasu glukonowego były często wyższe niż ilość uzyskanego produktu, przez co osiągnano niskie wartości współczynnika homofermentatywności, w zakresie 29,0-40,7% [Strasser, Burgstaller, Schinner 1994; Cameselle i in. 1998; Musiał i in. 2005].

W przeprowadzonych badaniach najwyższą wartość współczynnika homofermentatywności procesu, równą 69,8%, uzyskano w hodowli z udziałem *A. niger* W78C. Niższe wartości, w zakresie 56,7-60,9%, osiągnięto, stosując szczepy C12, X oraz S. Najniższą czystością chemiczną procesu charakteryzował się szczep W78B, dla którego współczynnik homofermentatywności wyniósł 46,5%.

4. Podsumowanie

Jako najistotniejszy parametr doboru szczepu *A. niger* do biosyntezy kwasu szczawiowego uznano współczynnik homofermentatywności procesu. Najwyższą jego wartość spośród testowanych szczepów uzyskano w hodowli z udziałem *A. niger* W78C i zdecydowano o wyborze tego szczepu do dalszych badań. Istotne było również to, że wysoka objętościowa szybkość tworzenia produktu oraz wysokie stężenie substratu w podłożu po zakończeniu procesu w hodowli z udziałem tego szczepu dają potencjalne możliwości zwiększenia stężenia kwasu szczawiowego po modyfikacji składu podłoża i warunków hodowli.

Literatura

- Andersen M.R., Lehmann L., Nielsen J., 2009, *Systemic analysis of the response of Aspergillus niger to ambient pH*, Genome Biology, 10(5), s. 1-14.
- Cameselle C., Bohlmann J.T., Nunez M.J., Lema J.M., 1998, *Oxalic acid production by Aspergillus niger. Part I: Influence of sucrose and milk whey as carbon source*, Bioprocess Engineering, 19, s. 247-252.
- Foryś E., Podgórski W., 2004, *Kwas szczawiowy i jego sole. Właściwości, otrzymywanie i zastosowanie*, Prace Naukowe Akademii Ekonomicznej im. O. Langego we Wrocławiu. Technologia, 11(1018), s. 51-69.
- Gadd G.M., Bahri-Esfahani J., Li Q., Rhee Y.J., Wei Z., Fomina M., Liang X., 2014, *Oxalate production by fungi: Significance in geomycology, biodeterioration and bioremediation*, Fungal Biology Reviews, 28, s. 36-55.

- Huang H., Jing G., Guo L., Zhang D., Yang B., Duan X., Ashraf M., Jiang Y., 2013, *Effect of oxalic acid on ripening attributes of banana fruit during storage*, Postharvest Biology and Technology, 84, s. 22-27.
- Jin P., Zhu H., Wang L., Shan T., Zheng Y., 2014, *Oxalic acid alleviates chilling injury in peach fruit by regulating energy metabolism and fatty acid contents*, Food Chemistry, 161, s. 87-93.
- Kubicek C.P., Schrefler-Kunar G., Wohrer W., Rohr M., 1988, *Evidence for a cytoplasmic pathway of oxalate biosynthesis in Aspergillus niger*, Applied and Environmental Microbiology, 54(3), s. 633-637.
- Martinez-Espla A., Zapata P.J., Valero D., Garcia-Viguera C., Castillo S., Serrano M., 2014, *Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds, and antioxidant capacity in sweet cherry cultivars (Prunus avium L.)*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62, s. 3432-3437.
- Musiał I., Rymowicz W., Lenart D., Witkowska D., 2005, *Wykorzystanie porafinacyjnych kwasów tłuszczowych do biosyntezy kwasu szczawiowego przez Aspergillus niger w warunkach obniżonego pH*, Biotechnologia Monografie, 2(2), s. 37-45.
- Musiał I., Rymowicz W., Witkowska D., 2008, *Biosynteza kwasu szczawiowego z porafinacyjnych kwasów tłuszczowych przez Aspergillus niger w hodowlach półciągłych*, Acta Scientiarum Polonorum. Biotechnologia, 7(2), s. 3-11.
- Li P., Zheng X., Liu Y., Zhu Y., 2014, *Pre-storage application of oxalic acid alleviates chilling injury in mango fruit by modulating proline metabolism and energy status under chilling stress*, Food Chemistry, 142, s. 72-78.
- Podgórski W., Leśniak W., Pietkiewicz J., Ziobrowski J., 1986, *Indukcja i selekcja mutantów Aspergillus niger dla cytrynowej fermentacji węgłnej podłoża melasowych*, Prace Naukowe Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu. Technologia, 359, s. 5-16.
- Poulsen L., Andersen M.R., Lantz A.E., Thykaer J., 2012, *Identification of a transcription factor controlling pH-dependent organic acid response in Aspergillus niger*, PLOS ONE, 7(12), s. 1-10.
- Riemenschneider W., Tanifuji M., 2003, *Oxalic acid*, [w:] *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, vol. 24, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., New York (USA), s. 473-486.
- Ruijter G.J.G., van de Vondervoort P.J.I., Visser J., 1999, *Oxalic acid production by Aspergillus niger: An oxalate-non-producing mutant produces citric acid at pH 5 and in the presence of manganese*, Microbiology, 145, s. 2569-2576.
- Ruiz-Jimenez J., Zapata P.J., Serrano M., Valero D., Martinez-Romero D., Castillo S., Guillen F., 2014, *Effect of oxalic acid on quality attributes of artichokes stored at ambient temperature*, Postharvest Biology and Technology, 95, s. 60-63.
- Sawada H., Murakami T., 2000, *Oxalic acid*, [w:] *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Wiley-Interscience, New York (USA), s. 1-19.
- Strasser H., Burgstaller W., Schinner F., 1994, *High-yield production of oxalic acid for metal leaching processes by Aspergillus niger*, FEMS Microbiology Letters, 119, s. 365-370.
- Walaszczyk E., Dawidowicz K., Gąsiorek E., Podgórski W., 2014, *Wpływ stężenia glukozy na syntezę kwasu szczawiowego przez Aspergillus Niger*, Acta Scientiarum Polonorum. Biotechnologia, 3(4), s. 19-28.
- Zheng X., Jing G., Liu Y., Jiang T., Jiang Y., Li J., 2012a, *Expression of expansion gene, MiExpA1, and activity of galactosidase and polygalacturonase in mango fruit as affected by oxalic acid during storage at room temperature*, Food Chemistry, 132, s. 849-854.
- Zheng X., Ye L., Jiang T., Jing G., Li J., 2012b, *Limiting the deterioration of mango fruit during storage at room temperature by oxalate treatment*, Food Chemistry, 130, s. 279-285.