



استفاده از میکروارگانیزم ها در تولید اسید های آلی (لاکتیک، سیتریک) از ضایعات مواد غذایی

امیر آهنگر بهان^{۱*}، پیمان رجایی^۲

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین پیشوا، ورامین- ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین پیشوا، ورامین- ایران

چکیده

رشد اقتصادی، شهرنشینی شتابان، جمعیت جهانی و رشد نرخ مصرف مواد غذایی منجر به افزایش چشمگیر ضایعات غذایی در شهر و روستا شده است. به طور معمول، زباله های جامد آلی شهری از طریق سوزاندن، دفن زباله و هضم بی هوازی دفع می شود، اما سوزاندن ممکن است مواد سمی و مضر تولید کند و در نتیجه خطر بزرگی برای آلودگی هوا به همراه داشته باشد، در حالی که دفن زباله نیز مشکلاتی مانند آلودگی شیرابه و آلودگی خاک دارد. یکی از مدرن ترین روش های بازیافت ضایعات غذایی تخمیر هوازی و بی هوازی توسط میکروارگانیزم ها برای تولید اسید های آلی است. اسیدهای آلی ترکیبی آلی هستند که دارای خاصیت اسیدی می باشند. اسید ها به عنوان یکی از مهمترین افزودنی های غذایی در صنایع تولید کننده محصولات غذایی و نوشیدنی مورد استفاده قرار میگیرند. با توسعه صنعت غذا و نوشیدنی، تقاضا برای غذاهای فرآوری شده نیز به طور قابل توجهی افزایش یافته است. و بسیاری از این مواد غذایی فرآوری شده به دلایل مختلف به اسید و مواد اسیدی نیاز دارند. در بعضی از موارد، آنها به عنوان مواد نگهدارنده استفاده می شوند، در حالی که در برخی از آنها به عنوان بهبود دهنده طعم و کنترل کننده اسیدیته استفاده می شوند. اسید سیتریک یکی از اسیدهای آلی پرکاربرد است که به صورت گسترده در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می گیرد. اسید لاکتیک یک اسید آلی است که در حالت طبیعی، لاکتیک اسید (Lactic acid) جامد سفید رنگ است و با آب قابل اختلاط می باشد. وقتی لاکتیک اسید در حالت محلول است، یک محلول بی رنگ تشکیل می دهد. از این اسید در صنایع غذایی برای تهیه شراب و محصولات لبنی تخمیر شده، ترشی سبزیجات و پخت ماهی، گوشت و سوسیس استفاده می شود. این اسید نه تنها یک ماده مهم در غذاهای تخمیر شده از جمله سبزیجات کنسرو شده، ماست و کره است بلکه به عنوان یک نگهدارنده در سبزیجات ترشی و زیتون نیز عمل می کند.

کلمات کلیدی: اسیدآلی، اسید لاکتیک، اسید سیتریک، ضایعات مواد غذایی

۱. مقدمه

مواد در طبیعت به دو دسته تقسیم می شوند، دسته اول مواد معدنی، که شامل عناصر موجود در طبیعت است که بدن موجودات غیر زنده از آن تشکیل می شود همانند آب، دی اکسید کربن و اکسیژن است. دسته دوم، مواد آلی که معمولاً به

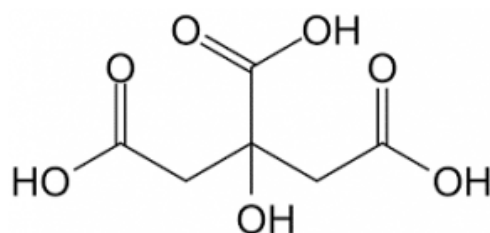


وسیله ی موجودات زنده به وجو می آید مانند هیدرات های کربن، لیپید ها. کلمه اسید (acid) از واژه لاتین acidus به معنای «ترش مزه» آمده است. اسیدها موادی ترش مزه هستند که خاصیت خوردگی دارند، شناساگرها را تغییر رنگ میدهند و بازها را خنثی میکنند. اسیدها موادی هستند که در ساختار خود هیدروژن یا هیدروژن هایی دارند که در واکنش با فلزها توسط یون های فلز جایگزین میشوند. کربوکسیلیک اسیدها مهمترین دسته از اسیدهای آلی هستند که شامل گروه کربوکسیل (COOH -) می باشند. همچنین ترکیبات شامل گروه عاملی ($\text{OH}_2\text{-SO}$) اسیدهای آلی قوی محسوب می شوند و الکلها (OH -) دارای خاصیت اسیدی ضعیف هستند [۱]. برخی از شناخته شده ترین اسیدهای آلی عبارت اند از اسید لاکتیک، که یک آلفاهیدروکسی اسید کایرال است و یکی از فراورده های دگرگشت قندها در یاخته های انسان بوده و فرمول شیمیایی آن « $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ » است. در pH بدن، اسید لاکتیک به شکل یونی آن یعنی لاکتات ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$) وجود دارد. ازدیاد بیش از اندازه این ترکیب در یاخته های ماهیچه ای سبب گرفتگی و درد ماهیچه ها می شود [۲]. اسید استیک یا نام آیوپاک آن اتانوئیک اسید، جوهر انگور یا جوهر سرکه جز اسیدهای آلی (از گروه کربوکسیلیک اسیدها) است. فرمول آن CH_3COOH است. اسید استیک جز اسیدهای کربوکسیلیک می باشد و در نامگذاری آیوپاک به اسید اتانوئیک معروف است. این اسید در قسمت چشایی طعم ترشی، شبیه طعم سرکه می دهد [۳]. اسید سیتریک یا جوهر لیمو یکی از اسیدهای آلی است که هم در لیموترش و هم پرتقال وجود دارد. فرمول شیمیایی آن $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ می باشد. و نام آیوپاک آن 2, 2-hydroxypropane-1-3-tricarboxylic acid است. این اسید توسط دانشمند ایرانی جابر بن حیان کشف گردید. اگزالیک اسید ترکیب، بلورهای سفید است که یک ترکیب آلی با فرمول $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ است. این اسید یک جامد کریستالی بی رنگ است که در آب حل می شود و محلول حاصل بی رنگ است. این اسید جزو اسیدهای دی کربوکسیلیک طبقه بندی شده است. از لحاظ قدرت اسیدی، بسیار قوی تر از اسید استیک است. اسید اگزالیک عامل احیاء کننده و باز مزدوج شناخته شده آن اگزالات- $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ است که یک عامل شلاته کننده (Chelate) برای کاتیون های فلزی محسوب می شود. تماس اسید اگزالیک با پوست بدن یا خوردن آن خطرناک است [۴]. ضایعات مواد غذایی (Food waste) به مجموعه مواد ناشی از فعالیت های انسان و حیوان که معمولاً جامد بوده و به صورت ناخواسته یا غیر قابل استفاده دور ریخته می شوند اطلاق می گردد. این تعریف به صورت کلی در برگرنده همه منابع، انواع طبقه بندی ها، ترکیب و خصوصیات مواد زاید بوده و به چهار دسته کلی زباله های شهری، زباله های صنعتی و زباله های خطرناک و زباله های بیمارستانی تقسیم می گردند انسان سالانه حجم زیادی از مواد غذایی خود را هدر می دهند؛ رقمی بیش از ۴/۱ میلیارد تن در سال که تقریباً ۴۰۰ میلیون تن بیشتر از وزن کوه فوجی ژاپن با ۳۷۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا است. اگر مبارزه با گرسنگی جهانی نتوانسته انگیزه مناسبی برای معکوس کردن این روند دردناک ایجاد کند، تحقیقات جدید نشان دهنده آن است که کاهش زباله های مواد غذایی می تواند به مقابله با تغییرات منفی آب و هوایی کمک کند [۵].



۲. اسید سیتریک

اسید سیتریک با نام تجاری جوهر لیمو، نوعی ماده آلی با خاصیت اسیدی است. فرمول شیمیایی این ماده $C_6H_8O_7$ است و به طور طبیعی در برخی مواد غذایی مثل لیمو، پرتقال و لیموترش وجود دارد و طعم ترش مرکبات به خاطر وجود همین ماده اسیدی است. سیتریک اسید نوعی هیدروکسی اسید است که از اضافه شدن گروه عاملی هیدروکسل به اسیدهای کربوکسیلیک ایجاد می شود. این ماده به دو شکل آبدار (مونوهیدرات) و خشک (آنهیدرات) وجود دارد. سالانه مقادیر زیادی اسید سیتریک برای مصارف گوناگون در جهان تولید می شود. در صنایع غذایی از اسید سیتریک به عنوان تنظیم کننده اسیدیته، طعم دهنده و ترش کننده محصولات استفاده می شود. این ماده با کاهش PH، مانع از رشد باکتری در محیط و افزایش عمر غذاهای فرآوری شده می شود. کارشناسان کشاورزی از اسید سیتریک جهت تنظیم اسیدیته برای کشت محصولات که به خاک اسیدی نیاز دارند، بهره می گیرند. کاربرد عمده دیگر اسید سیتریک در تولید مواد ضد عفونی کننده و شوینده است و علاوه بر آن در ساخت مواد آرایشی، دارو، مکمل و صنایع شیمیایی نیز کاربرد دارد. ساخت روان کننده ها و سیمان کندگیر از مصارف سیتریک اسید در صنایع ساختمانی است. اسید سیتریک نخستین بار در قرن ۱۸ میلادی توسط یک محقق سوئدی به نام کارل ویلهلم شل، از آب لیمو استخراج شد و تا اوایل قرن ۲۰، تنها از همین روش برای تولید آن استفاده می شد. این ماده رنگ و بو نداشت و به عنوان طعم دهنده و تخمیر کننده در تولید مواد غذایی مثل پنیر از آن استفاده می کردند. بعدها محققان توانستند به طور مصنوعی از کپک سیاه اسپرژیلوس نایجر که نوعی قارچ است، اسید سیتریک تولید کنند. امروزه درصد بسیار کمی از تولیدات اسید سیتریک به منابع طبیعی اختصاص دارد. و این ماده عمدتاً از روش های تخمیری تولید می گردد. رشد روزافزون تقاضا برای اسید سیتریک در صنایع گوناگون و عدم دسترسی آسان به منابع هیدروکربنی، محققان را بر آن داشته که به دنبال منابع طبیعی ارزان قیمت و تکنیک هایی برای بهینه سازی تولید با کنترل پارامترهای دخیل در این فرایند باشند. در این راستا، استفاده از ضایعات کشاورزی و زباله های زراعی که به آسانی و با کمترین هزینه قابل دسترسی هستند، پتانسیل عظیمی جهت کاهش استفاده از منابع، افزایش بازدهی تولید و هم سو ساختن فعالیت های تجاری با ارزش های محیط زیستی دارند [۶]. شکل ۱ ساختار شیمیایی اسید سیتریک را نشان می دهد.



شکل ۱- ساختار شیمیایی اسید سیتریک

۱.۲ تولید اسید سیتریک



تعداد زیادی میکرو ارگانیسم از جمله باکتری ها، قارچ ها و مخمرها برای تولید مونوهیدرات استفاده شده اند. با این حال بسیاری از آنها قادر به بازده قابل قبول تجاری نیستند. این واقعیت را می توان با این واقعیت توضیح داد که اسید سیتریک یک متابولیت متابولیسم انرژی است و تجمع آن فقط در شرایط عدم تعادل شدید به مقدار قابل توجهی افزایش می یابد. مهمترین مزایای استفاده از این میکرو ارگانیسم ها عبارتند از سهولت در استفاده از آن، توانایی آن برای تخمیر انواع مواد اولیه ارزان و بازده بالا. بیشتر آن توسط تخمیر میکروبی با استفاده از *Aspergillus niger* تولید می شود. این امر به دلیل این واقعیت است که این ارگانیسم به دلیل داشتن سیستم آنزیمی خوب توسعه یافته، توانایی استفاده از انواع بسترها را دارد [۷].

۲.۲ مهمترین میکرو ارگانیسم های دخیل در تولید اسید سیتریک و مزایای آن ها

۱.۲.۲ مخمرها

Candida tropicalis •

C.oleophila •

C.guilliermondii •

C.Citroformans •

Hansenula anamola •

Yarrowia lipolytica •

۲.۲.۲ میکروارگانیسم ها

Bacillus licheniformis

Arthrobacter paraffinens

Corynebacterium species

۳.۲.۲ قارچ ها

Aspergillus nagger

A.aculeatus



A. awamori

A. carbonarius

۴۰۲۰۲ مزایای تولید

✓ سهولت استفاده از آنها.

✓ توانایی آنها در تخمیر انواع مواد خام ارزان قیمت.

✓ بازده بالا [۸].

۳۰۲ تولید اسید سیتریک از طریق تخمیر میکروبی

قارچ های *Aspergillus niger* به دلیل پتانسیل بالای تولید بیش از حد اسیدهای آلی به خوبی شناخته شده اند. این میکروارگانیسم ها توانایی ذاتی در تجمع این مواد را دارند و به طور کلی اعتقاد بر این است که این قارچ یک مزیت زیست محیطی را در اختیار قارچ ها قرار می دهد، زیرا در pH ۳ تا ۵ به خوبی رشد می کنند، در حالی که برخی از گونه ها حتی مقادیر pH حداقل ۱/۵ را نیز تحمل می کنند. تولید اسیدهای آلی را می توان تحریک کرد و در تعدادی از موارد شرایطی پیدا شده است که منجر به تبدیل تقریباً کمی بستر کربن به اسید می شود. در ساخت اسید سیتریک در مقیاس بزرگ مورد استفاده قرار می گیرد. در گذشته سنتز شیمیایی اسید سیتریک با توجه به مواد اولیه گران و فرایند پیچیده و با عملکرد کم امکان پذیر بود، اما مناسب نبود. کشف انباشت سیترات توسط *Aspergillus niger* منجر به توسعه سریع فرآیند تخمیر شد و امروزه بخش بزرگی از تولید جهانی را به خود اختصاص داده است. کار با آن آسان است، می تواند مواد اولیه ارزان قیمت را تخمیر کند و بازده بالایی را به همراه آورد. به این ترتیب، سویه های این میکروارگانیسم می توانند برای ایجاد سویه های صنعتی جهت استفاده در تولید تجاری بهبود یافته و جهش زایی و انتخاب کرنش برای چنین پیشرفتی انجام شود. جهش های مختلفی از جمله تابش اشعه ماوراء بنفش، اشعه ایکس و گاما و مواد شیمیایی مانند اتیل متان سولفونات و دی اتیل سولفونات برای القای جهش *Aspergillus niger* استفاده می شود [۹].

۴۰۲ اسید سیتریک از طریق واکنش های شیمیایی

اسید سیتریک همچنین می تواند با واکنش های شیمیایی کاملاً تولید شود. اسید سیتریک برای اولین بار در سال ۱۸۸۰ توسط Adam و Grimaux با استفاده از گلیسرول به عنوان ماده آغازین شیمیایی سنتز شد، اما این روش در مقیاس با سایر مسیرهای تولید مانند تخمیر، از نظر اقتصادی به اندازه کافی قابل رقابت نبود. بنابراین تخمیر میکروبی به عنوان یک انتخاب برای تخمیر اسید سیتریک موفقیت آمیزتر از مواد شیمیایی شناخته شد. اساس روند بازار آشکار است که تقاضای جهانی اسید سیتریک افزایش خواهد یافت. از این رو، شرکت ها به دنبال بهینه سازی تولید اسید سیتریک برای گزینه هایی که اقتصادی تر و سازگار با محیط زیست، هستند و بازده تولید بالاتری نسبت به روش های فعلی دارند [۱۰].



۵.۲ تولید اسید سیتریک به روش کوجی

مقادیر کمی اسید سیتریک، در برخی از کشورهای شرق آسیا توسط فرآیند کوجی تولید می شود که معادل حالت جامد فرآیند سطحی است. تولید اسید سیتریک توسط مخمر منحصراً با تخمیر غوطه ور انجام می شود. در این روش، بستر جامد از ضایعات کشاورزی ساخته شده است و منبع کربوهیدرات عمدتاً نشاسته و سلولز است. اسپورها توسط بستر جامد بخار بر روی محیط استریل اسپری می شوند، جرم در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه می شود و این روند حدود ۴-۵ روز به طول می انجامد. عملکرد به دلیل مشکل در کنترل پارامترهای مختلف فرآیند و غلظت فلزات کمیاب، کم است. بر اساس روند بازار، بدیهی است که تقاضای جهانی برای اسید سیتریک افزایش می یابد. بنابراین، بهینه سازی تولید اسید سیتریک با جستجوی جایگزین هایی که مقرون به صرفه تر، سازگار با محیط زیست هستند و عملکرد تولید بالاتری نسبت به روش های فعلی دارند، بسیار مهم است [۱۱].

۶.۲ تولید اسید سیتریک از ضایعات مواد غذایی و کشاورزی

در مواد غذایی، آشامیدنی، شیر و فرآوری شکر، چندین ماده زائد آلی تجزیه پذیر به مقدار زیاد تولید می شود. این شامل باگاس نیشکر، تفاله انگور، تفاله سیب، تفاله آناناس، سبزیجات، تاپیوکا، پوست نارگیل، پوست موز، پوست مرکبات، آب پنیر و میوه های پوسیده به عنوان بسترهای بالقوه برای تولید اسید سیتریک است. تأثیر قابل توجهی از غلظت بستر، نمک های معدنی، غلظت اولیه قند، رطوبت و مواد افزودنی و غیره در تولید اسید سیتریک برای بهبود بیشتر در فرآیند تخمیر برجسته شده است. تحولات اخیر در فرایندهای بالادست و پایین دست برای تولید اسید سیتریک نیز عمیقاً مورد بحث قرار گرفته است. این بررسی بینش هایی را در مورد احتمالات آینده فرآیند تخمیر مقرون به صرفه برای تولید اسید سیتریک از چندین ماده اولیه ارزان ارائه می دهد. تشکیل اسید سیتریک به عنوان یک محصول جانبی صنعتی به مقابله با مسئله دفع زباله و همچنین کاهش وابستگی صنعت به سایر تولید کنندگان اسید سیتریک کمک می کند. بنابراین، این صنعت از نظر زیست محیطی و اقتصادی سود خواهد برد. تشکیل اسید سیتریک به عنوان یک محصول جانبی صنعتی به مقابله با مسئله دفع زباله و همچنین کاهش وابستگی صنعت به سایر تولید کنندگان اسید سیتریک کمک می کند [۱۲].

۱.۶.۲ عوامل مؤثر بر تولید اسید سیتریک از ضایعات غذایی

- منبع کربن
- منبع نیتروژن
- منبع فسفر
- تریس المنت
- pH محیط تخمیر
- هوادهی

۷.۲ بهترین روش تولید اسید سیتریک

دو روش اصلی انتخاب جمعیت، یعنی «تکنیک تک اسپور» و «روش پاساژ سلولی» برای انتخاب میکروارگانیسم های تولیدکننده اسید سیتریک استفاده شده اند. روش تک اسپور این ضرر را دارد که اسید معدنی یا اسیدهای آلی (گلوکونیک اسید، اسید اگزالیک) حضور اسید سیتریک را شبیه سازی می کند. روهر و همکاران (۱۹۷۹) به جای استفاده از نشانگر، این



روش را با ترکیب یک رنگ خاص برای اسید سیتریک (پارا دی متیل آمینو بنزالدئید) بهبود بخشیدند. بیشترین روش به کار رفته برای بهبود سویه های تولید کننده اسید سیتریک، القای جهش در سویه های پایه با استفاده از جهش زاها بوده است. در میان جهش زاهای فیزیکی، پرتوهای g و اشعه UV اغلب استفاده می شوند. برای به دست آوردن سویه های بیش از حد تولید کننده، اغلب درمان UV را می توان با برخی جهش زاهای شیمیایی ترکیب کرد، به عنوان مثال. آزیریدین، N-nitroso-N-methylurea یا اتیل متان سولفونات. با استفاده از یک روش مناسب در محیط مدل با منابع کربن غیر اختصاصی، می توان سویه ای که مقادیر بالایی از اسید سیتریک را از بسترهای غیر معمول تولید می کند از جهش های تولید شده به دست آورد [۱۳]. روش دیگر برای بهبود فشار، چرخه پاراجنسی است که دیپلوئیدها بازده اسید سیتریک بالاتری در مقایسه با هاپلوئیدهای والد خود نشان می دهند، اما پایداری کمتری دارند به نظر می رسد که همجوشی پروتوپلاست یک ابزار امیدوارکننده برای گسترش دامنه دستکاری ژنتیکی *A. niger* با توجه به تولید اسید سیتریک باشد. کیریمورا و همکاران ۱۹۸۸ همجوشی پروتوپلاست سویه های تولیدی را مورد مطالعه قرار دادند. آن ها توانستند مواد همجوشی با ظرفیت تولید اسید بیشتر از سویه های اصلی را در تخمیر حالت جامد بدست آورند، اما در تخمیر به روش غوطه ور چندان کاربردی نبود. برخی از جنبه های دیگر بهبود کرنش می تواند مقاومت در برابر اجزای مضر مواد خام تخمیر، قابلیت استفاده از مواد خام (نشاسته، سلولز، پکتین حاوی و سایر مواد زائد) باشد. با این حال، هیچ تکنیک موثر واحدی برای دستیابی به تولید بیش از حد وجود ندارد [۱۴].

۱.۷.۲ تخمیر مایع غوطه ور

فرآیند تخمیر غوطه ور (SmF) روشی است که معمولاً برای تولید اسید سیتریک استفاده می شود. تخمین زده می شود که حدود ۸۰ درصد از تولید جهانی توسط SmF به دست می آید. چندین مزیت از جمله بازده و بهره وری بالاتر و هزینه کمتر نیروی کار از دلایل اصلی این امر است. دو نوع تخمیر، تخمیرکننده های همزده معمولی و تخمیرکننده های برجی استفاده می شوند، اگرچه دومی به دلیل مزایایی که در قیمت، اندازه و عملکرد ارائه می دهد، ترجیح داده می شود. ترجیحاً، تخمیرها به سیستم هوادهی نیاز دارند که می تواند سطح اکسیژن محلول بالا را حفظ کند. لازم نیست تخمیرکننده ها برای تولید اسید سیتریک به عنوان مخازن تحت فشار ساخته شوند، زیرا استریل سازی با بخار دادن ساده و بدون اعمال فشار انجام می شود. خنک سازی را می توان با یک لایه آب خارجی روی تمام دیواره بیرونی تخمیر انجام داد. در SmF، انواع مختلفی از محیط ها مانند محیط های شکر و نشاسته استفاده می شود. ملاس و سایر مواد خام نیاز به پیش تصفیه، افزودن مواد مغذی و عقیم سازی دارند. تلقیح یا با افزودن سوسپانسیون هاگ یا میسلیموم های از پیش کشت شده انجام می شود. هنگامی که هاگ استفاده می شود، یک سورفکتانت به منظور پراکندگی آنها در محیط اضافه می شود. برای میسلیموم های از قبل کشت شده، معمولاً اندازه تلقیح ۱۰ درصد محیط تازه مورد نیاز است. به طور معمول، تخمیر غوطه ور بسته به شرایط فرآیند در ۵ تا ۱۰ روز به پایان می رسد. می توان آن را در سیستم های دسته ای، پیوسته یا تغذیه دسته ای انجام داد، اگرچه حالت دسته ای بیشتر استفاده می شود [۱۵].

۲.۷.۲ تخمیر سطحی

اولین فرآیند فردی برای تولید اسید سیتریک، کشت سطحی مایع (LSC) بود که در سال ۱۹۱۹ توسط Société des Produits Organiques در بلژیک و در سال ۱۹۲۳ توسط Chas Pfizer & Co در ایالات متحده معرفی شد. پس از آن، روش های دیگر تخمیر، مانند تخمیر غوطه ور توسعه یافت. اگرچه این تکنیک پیچیده تر است، روش سطحی به تلاش کمتری در عملیات، نصب و هزینه انرژی نیاز دارد [۱۶] در فرآیند کلاسیک برای تولید اسید سیتریک، محلول کشت در سینی های کم



CDIS

7th

هفتمین همایش بین المللی مطالعات میان رشته ای در صنایع غذایی و علوم تغذیه ایران

International Conference on Interdisciplinary
Studies in Food Industry and Nutrition Science of Iran

تهران-ایران

Call for paper

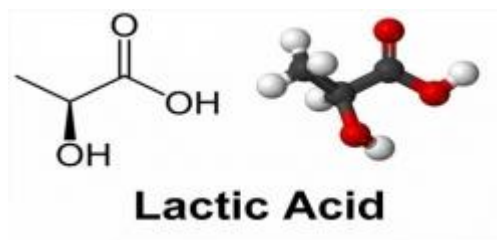


عمق (ظرفیت ۵۰ تا ۱۰۰ لیتر) نگهداری می شود و قارچ به صورت میسلیم روی سطح محیط رشد می کند. سینی ها از آلومینیوم با خلوص بالا یا فولاد درجه خاص ساخته شده اند و یکی روی دیگری در قفسه های ثابت نصب می شوند. محفظه های تخمیر با گردش هوای موثر به منظور کنترل دما و رطوبت ارائه می شوند. اتاق های تخمیر همیشه در شرایط آسپتیک هستند که ممکن است در دو روز اول که اسپورها جوانه می زنند، حفظ شوند. آلودگی مکرر عمدتاً توسط پنسیلیا، سایر اسپرژیل ها، مخمرها و باکتری های لاکتیک ایجاد می شود. ساکارز تصفیه شده یا خام، شربت نیشکر یا ملاس چغندر معمولاً به عنوان منابع کربن استفاده می شود. هنگام استفاده، ملاس به ۱۵-۲۰٪ رقیق می شود و با هگزاسیانوفرات (HFC) پیش تیمار می شود.



۳. لاکتیک اسید

اسید لاکتیک اسید آلی بوده و فرمول مولکولی این اسید به صورت $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ نمایش داده می شود. در حالت طبیعی، لاکتیک اسید (Lactic acid) جامد سفید رنگ است و با آب قابل اختلاط می باشد. وقتی لاکتیک اسید در حالت محلول است، یک محلول بی رنگ تشکیل می دهد. لاکتیک اسید به دلیل وجود گروه هیدروکسیل مجاور گروه کربوکسیل، یک اسید آلفا هیدروکسی (AHA) محسوب می شود. این ترکیب آلی در بسیاری از صنایع سنتز آلی و در صنایع مختلف بیوشیمیایی به عنوان واسطه مصنوعی استفاده می شود. به پایه مزدوج لاکتیک اسید، لاکتات گفته می شود. اسید لاکتیک در محلول می تواند یونیزه شود و یون لاکتات را تولید کند. در مقایسه با اسید استیک، pKa لاکتیک اسید، ۱ واحد کمتر است، یعنی Lactic acid، ده برابر قوی تر از اسید استیک است. این اسیدیته بالاتر، نتیجه پیوند هیدروژن درون مولکولی بین α -هیدروکسیل و گروه کربوکسیلات است [۱۷]. کارل ویلهلم شیل (Carl Wilhelm Scheele)، شیمی دان سوئدی اولین شخصی بود که اسید لاکتیک را در سال ۱۷۸۰ از شیر ترش جدا کرد. این نام، منعکس کننده فرم ترکیبی "لاکت" است که از کلمه لاتین lac به معنی شیر گرفته شده است. در سال ۱۸۰۸، Jöns Jacob Berzelius کشف کرد که لاکتیک اسید (در واقع L-لاکتات) نیز در عضلات در هنگام فعالیت تولید می شود [۱۸]. ساختار آن توسط یوهانس ویسلیکنوس (Johannes Wislicenus) در سال ۱۸۷۳ کشف شد. در سال ۱۸۵۶، نقش لاکتوباسیلوس (Lactobacillus) در سنتز اسید لاکتیک توسط لوئیس پاستور (Louis Pasteur) کشف شد. این مسیر توسط Boehringer Ingelheim در سال ۱۸۹۵ به صورت تجاری به بهره برداری رسید. در سال ۲۰۰۶، تولید جهانی اسید لاکتیک با متوسط رشد سالانه ۱۰ درصد به ۲۷۵۰۰۰ تن رسید. اسید لاکتیک، L- ایزومر چپ گرد لاکتیک اسید، فرم ساختاری ایزومری بیولوژیکی فعال در انسان است. لاکتیک اسید یا لاکتات در طی تخمیر از پیرووات توسط لاکتات دهیدروژناز تولید می شود. این واکنش علاوه بر تولید اسید، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) را نیز تولید می کند؛ این ماده سپس در چرخه گلیکولیز برای تولید منبع انرژی آدنوزین تری فسفات (ATP) مورد استفاده قرار می گیرد. اسید لاکتیک (S-) نوع فعال نوری از لاکتیک اسید است که دارای پیکربندی (S) است. این ماده به عنوان متابولیت بلاکتری اشریشیاکلی و متابولیت انسانی نقش دارد. لاکتیک اسید (S-) یک اسید ۲-هیدروکسی پروپانوئیک و یک (2S)-2-هیدروکسی مونوکاربوکسیلیک اسید است. این ترکیب، یک اسید مزدوج از (S) -لاکتات است و یک انانتیومر از یک لاکتیک اسید (R) به شمار می رود. شکل ۲ ساختار شیمیایی اسید لاکتیک را نشان می دهد [۱۹].



شکل ۲ - ساختار شیمیایی اسید لاکتیک

۱.۳ کاربرد های اسید لاکتیک

۱.۱.۳ لاکتیک اسید در خوراکی ها



اسید لاکتیک در درجه اول در محصولات شیر ترش، مانند ماست، کفیر و برخی پنیرها یافت می شود. کازئین موجود در شیر تخمیر شده توسط لاکتیک اسید، لخته می شود (خمیری می شود). لاکتیک اسید همچنین مسئول طعم ترش مایه خمیر نان است. برخی از نوشیدنی های الکلی ترش مزه مخصوصاً حاوی اسید لاکتیک هستند. معمولاً این ماده به طور طبیعی توسط باکتری های مختلف تولید می شود. این باکتری ها برخلاف مخمر تخمیر کننده قند به اتانول، قندها را به اسید تخمیر می کنند. در تولید نوشیدنی های الکلی، یک فرآیند باکتریایی طبیعی یا کنترل شده، اغلب برای تبدیل اسید مالیک موجود به لاکتیک اسید، کاهش تیز و تند بودن نوشیدنی و سایر عوامل به عطر و طعم استفاده می شود. این تخمیر مالاکتیک توسط باکتری های لاکتیک اسید انجام می شود. اسید لاکتیک به عنوان یک افزودنی غذایی برای استفاده در اتحادیه اروپا، ایالات متحده آمریکا و استرالیا و نیوزیلند تأیید شده است. استاندارد تأیید شده این ترکیب با شماره INS 270 یا به عنوان E270 ذکر شده است. لاکتیک اسید به عنوان یک نگهدارنده غذا، ماده تیمار کننده و طعم دهنده استفاده می شود. این ماده غذایی در غذاهای فرآوری شده وجود دارد و به عنوان ضد عفونی کننده در فرآوری گوشت استفاده می شود [۲۰].

۲.۱.۳ کاربردهای لاکتیک اسید در صنایع غذایی

علت اصلی که تولید کنندگان مواد غذایی این اسید را به فرآورده های غذایی اضافه می کنند، به دلیل خواص ضد میکروبی آن و توانایی افزایش عمر مفید محصولات است. این افزودنی به تنظیم سطح pH کمک می کند و از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری می کند. در نتیجه مدت ماندگاری فرآورده های غذایی را افزایش می دهد. همچنین طعم مواد غذایی را تقویت می کند [۲۱].

۳.۱.۳ کاربرد های کلی لاکتیک اسید در تولید مواد غذایی

- یک افزودنی طبیعی است
- حلال
- عامل تیمار
- عامل ژل کننده
- بازدارنده تغییر رنگ
- حامل مواد غذایی

۲.۲ باکتری های دخیل در تولید لاکتیک اسید



erococcus •

Carnobacterium •

انتروکوک •

لاکتوباسیلوس •

لاکتوکوک •

Leuconostoc •

Oenococcus •

Pediococcus •

استرپتوکوک •

Teragenococcus •

Vagococcus •

Weisella •

۲.۳ تولید اسید لاکتیک

۱.۳.۲ به روش شیمیایی

اسید لاکتیک راسمیک (اسید مخلوط دو ایزومر) با واکنش استالدئید با سیانید هیدروژن و هیدرولیز لاکتونیتریل به صورت صنعتی سنتز می شود. هنگامی که هیدرولیز توسط اسید کلریدریک انجام می گیرد، کلرید آمونیوم به عنوان یک محصول جانبی تشکیل می شود. شرکت ژاپنی Musashino یکی از آخرین تولید کنندگان بزرگ اسید لاکتیک در این مسیر است. سنتز لاکتیک اسیدهای راسمیک و انانتیومری نیز از طریق سایر مواد اولیه (وینیل استات، گلیسرول و غیره) با استفاده از روش های کاتالیزوری امکان پذیر است [۲۲].

۲.۳.۳ تولید به روش تخمیر



بیش از ۹۰ درصد اسید لاکتیک از طریق تخمیر میکروبی منابع کربن تولید می شود. در تخمیر، قندهای قابل تخمیر در مکمل های غذایی توسط میکروارگانیسم های توانا در شرایط مساعد به اسید لاکتیک تبدیل می شوند. انتخاب شرایط مطلوب برای تولید اسید لاکتیک تخمیری حیاتی است. عواملی مانند دما، pH، مواد مغذی، غلظت سوپسترا، و غلظت محصول نهایی، در میان عوامل دیگر، بر تخمیر تأثیر می گذارند. دما و pH شرایط مهمی در تخمیر اسید لاکتیک هستند زیرا با متابولیسم سلولی مرتبط هستند که بر رشد میکروارگانیسم ها، مصرف سوپسترا و تولید اسید لاکتیک تأثیر می گذارد. در نتیجه دمای بهینه انتخاب و حفظ می شود. pH بهینه انتخاب شده با افزودن یک پایه قوی مانند هیدروکسید کلسیم، هیدروکسید سدیم یا هیدروکسید پتاسیم در طول تخمیر به دلیل تولید اسید لاکتیک که باعث کاهش pH می شود، حفظ می شود. مواد مغذی می توانند بر تولید اسید لاکتیک تأثیر بگذارند زیرا میکروارگانیسم هایی مانند باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک به مواد مغذی پیچیده نیاز دارند. منبع کربن موجود به عنوان قند برای تولید مثل باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک (LAB) حیاتی است. مواد معدنی، ویتامین ها و نیترژن موجود به عنوان ترکیبات معدنی برای رشد میکروبی، نگهداری و تولید اسید لاکتیک ضروری هستند. غلظت بالای بستر به دلیل بارگذاری بیش از حد منابع کربن یا ناتوانی میکروارگانیسم های انتخاب شده در استفاده از بسترها می تواند منجر به مهار شود. محصول نهایی فرآیند تخمیر به دلیل تجمع اسید لاکتیک در سیستم می تواند اثرات بازدارنده ای داشته باشد و در نتیجه باعث کاهش رشد سلولی، طولانی شدن دوره تخمیر و کاهش بهره وری اسید لاکتیک شود [۲۳].

۳.۳.۳ تولید توسط میکروارگانیسم ها

باکتری های دخیل در تولید اسید لاکتیک شامل باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک (LAB)، *Bacillus sp.* و *Corynebacterium glutamicum* می باشند. باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک (LAB) نمی توانند ATP را از طریق تنفس سنتز کنند، اما محصول نهایی نهایی آنها از تخمیر قند اسید لاکتیک است. اکثر LAB بی هوازی اختیاری، غیر متحرک و غیر اسپورساز هستند. دمای بهینه رشد آنها از ۲۰ تا ۴۵ درجه سانتیگراد متغیر است و pH مطلوب بین ۵/۵ تا ۶ (بسته به گونه) متغیر است. LAB به مواد مغذی پیچیده ای مانند اسیدهای آمینه، ویتامین ها، مواد معدنی و کربوهیدرات ها نیاز دارد. باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک بر اساس محصول نهایی تخمیر به دو دسته هموفرمنتیو و هتروفرمنتاتور طبقه بندی می شوند. LAB هموفرمنتاتیو گلوکز را به اسید لاکتیک (محصول فرعی اولیه) تبدیل می کند، در حالی که LAB هترو تخمیر، اجباری یا اختیاری، گلوکز را به اسید لاکتیک، اتانول یا استات و دی اکسید کربن تبدیل می کند. در تخمیر همولاکتیک LAB هموفرمنتیو مانند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس آمیلوفیلوس، لاکتوباسیلوس هلویتیکوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس سالیواریوس، تبدیل گلوکز از طریق مسیر اسیدی Embden-Meyerlyactic به Embden-Meyerhof به عنوان نتیجه اسیدی متابولیسم می کند. با این حال، برخی از LAB های هموفرمنتاتیو می توانند اسید فرمیک یا تخمیر اسید مخلوط را توسط لیز پیرووات-فرمات زمانی که شرایط تنشی مانند محدودیت منبع کربن یا افزایش pH یا کاهش دما وجود دارد، ایجاد کند [۲۴].

۴.۳.۳ تولید از ضایعات غذایی



تقاضا برای اسید لاکتیک به عنوان یک اسید آلی، به دلیل کاربرد گسترده آن در صنایع غذایی، شیمیایی، دارویی، پزشکی، آرایشی و بهداشتی به طور قابل توجهی افزایش یافته است. مطالعات اخیر نشان داده اند که تولید اسید لاکتیک از طریق تخمیر نسبت به تولید شیمیایی مزیت دارد. با این حال، هزینه های بالای فرآیند و مواد خام دو مانع جدی برای تولید موثر اسید لاکتیک در مقیاس بزرگ هستند. بنابراین استفاده از بسترهای ارزان قیمت با سرعت تخمیر و بازده بالا، سطوح پایین آلایندهها و محصول جانبی کم بسیار حائز اهمیت است. علاقه به تخمیر اسید لاکتیک با استفاده از بسترهای ارزان قیمت مانند ضایعات لبنی، غذایی، کشاورزی، مواد لیگنوسلولوزی، گلیسرول و زیست توده جلبکی به دلیل عوامل محیطی و اقتصادی افزایش یافته است. تولید اسید لاکتیک تخمیری با استفاده از منابع تجدید پذیر، مانند مواد لیگنوسلولوزی، انتشار گازهای گلخانه ای را کاهش می دهد و جایگزین ارزانهتری نسبت به قندهای تصفیه شده ارائه می دهد.

۴.۳ قارچهای تولید کننده لاکتیک اسید

سایر میکروارگانیسم هایی که می توانند اسید لاکتیک تولید کنند قارچ های رشته ای مانند *Rhizopus* و *Rhizopus oryzae* هستند که اسید-L لاکتیک را به عنوان محصول اصلی تخمیر تولید می کنند. این قارچ های رشته ای مسیرهای متابولیکی مشابهی دارند. مدلی از مسیرهای متابولیک گلوکز در *Rhizopus oryzae* دو استخر پیرووات تنظیم شده جداگانه را در موجودات نشان داد. این دو حوضچه پیرووات تنظیم شده شامل یک استخر پیرووات سیتوزولی است که به اتانول، لاکتات، اگزوالواستات، مالات و سنتز فومارات هدایت می شود و دومین استخر پیرووات (در میتوکندری) به چرخه اسید تری کربوکسیلیک هدایت می شود [۲۵]. تولید اسید لاکتیک با استفاده از چندین منبع تجدید پذیر توسط سویه های *Rhizopus* گزارش شده است. ضایعات کاغذ اداری، کاه گندم و زایلوز، پروتئین هیدرولیز پر مرغ، چغندر قند، و ملاس، به جز چند مورد، در تولید اسید لاکتیک توسط *Rhizopus oryzae* استفاده شد. تولید اسید لاکتیک با استفاده از نشاسته ضایعات سیب زمینی توسط گیاه پیش کشت *Rhizopus arrhizus* سازگار با اسید در یک راکتور ستون حبابی گزارش شده است.

۵.۳ دو عامل موثر در تولید لاکتیک اسید

۱.۵.۳ منبع کربن

تجمع اسید سیتریک به شدت تحت تأثیر ماهیت منبع کربن است. وجود کربوهیدرات هایی که به راحتی متابولیزه می شوند برای تولید خوب اسید سیتریک ضروری است. ساکارز مطلوب ترین منبع کربن است و پس از آن گلوکز، فروکتوز و گالاکتوز قرار دارند. گالاکتوز به رشد بسیار کم قارچ ها کمک می کند و از تجمع اسید سیتریک حمایت نمی کند. سایر منابع کربن مانند سوربوز، اتانول، سلولز، مانیتول، لاکتیک، مالیک و اسید استوگلو تاریک اجازه رشد محدود و تولید کم را می دهند. نشاسته، پنتوزها (گزیلوزها و آرابینوزها)، سوربیتول و اسید پیروویک رشد را کاهش می دهند، اگرچه تولید حداقل است [۲۶].

۲.۵.۳ منبع نیتروژن



تولید اسید سیتریک مستقیماً تحت تأثیر منبع نیتروژن است. از نظر فیزیولوژیکی، نمک های آمونیوم ترجیح داده می شوند، به عنوان مثال. اوره، سولفات آمونیوم، کلر آمونیوم، پپتون، عصاره مالت و غیره. مصرف نیتروژن منجر به کاهش pH می شود که نکته بسیار مهمی در تخمیر اسیدلاکتیک است. با این حال، حفظ مقادیر pH در روز اول تخمیر قبل از تولید مقدار معین زیست توده ضروری است. اوره دارای اثر تامپونی است که کنترل pH را تضمین می کند. غلظت منبع نیتروژن مورد نیاز برای تخمیر اسید سیتریک ۰/۱ تا ۰/۴ نیوتن در لیتر است. غلظت بالای نیتروژن رشد قارچ و مصرف قندها را افزایش می دهد، اما میزان اسیدلاکتیک تولیدی را کاهش می دهد [۲۷].

۴. نتیجه گیری

ضایعات غذایی (FW) غذای خوراکی از دست رفته در طول زنجیره تامین و مصرف است که در مقادیر زیادی تولید می شود و با افزایش جمعیت جهانی همچنان در حال افزایش است. برآوردهای اخیر حاکی از آن است که سالانه ۱/۶ میلیارد تن FW در سطح جهان تولید می شود که برای اقتصاد جهانی ۲/۶ تریلیون دلار در سال هزینه دارد. در نتیجه، نیاز مبرمی به توسعه فناوری های حلقه بسته وجود دارد که به طور مفیدی از FW برای کاهش اثرات نامطلوب مرتبط استفاده کرده و کاهش می دهند. هضم بی هوازی (AD) یک فناوری است که اکنون به طور گسترده برای پردازش FWS به انرژی بیوگاز تجدید پذیر و هضم به عنوان یک منبع غذایی استفاده می شود. به دلیل گرانی و افزایش قیمت هیدروکربن هایی که به عنوان سوبسترا در تولید اسید سیتریک و لاکتیک استفاده می شوند و همچنین کاهش دسترسی به این منابع بهتر است به منابع پایدار و طرح هایی بر پایه ضایعات کشاورزی و غذایی بیشتر از قبل توجه شود. به منظور کاهش هزینه تولید و در راستای اهداف محیط زیستی و مدیریت صحیح پسماند، استفاده از ضایعات غذایی در تولید اسید سیتریک و لاکتیک به عنوان یک روش مدرن در نظر گرفته شده است که نیازمند تحقیقات تکمیلی در این زمینه می باشد.

۵. مراجع

1. Vandenberghe, L. P., Soccol, C. R., Pandey, A., & Lebeault, J. M. (1999). Microbial production of citric acid. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42, 263-276.
2. Qureshi, M. S., Bhongale, S. S., & Thorave, A. K. (2011). Determination of organic acid impurities in lactic acid obtained by fermentation of sugarcane juice. *Journal of Chromatography A*, 1218(40), 7147-7157.
3. Shim, K. H., Lee, J. H., Ha, Y. L., Choi, S. D., Seo, K. I., & Joo, O. S. (1994). Changes in Organic Acid Contents on Heating Conditions of Fishes. *JOURNAL-KOREAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION*, 23, 939-939.
4. Nozal, M. J., Bernal, J. L., Gómez, L. A., Higes, M., & Meana, A. (2003). Determination of oxalic acid and other organic acids in honey and in some anatomic structures of bees. *Apidologie*, 34(2), 181-188.



5. Girotto, F., Alibardi, L., & Cossu, R. (2015). Food waste generation and industrial uses: A review. *Waste management*, 45, 32-41.
6. Angumeenal, A. R., & Venkappayya, D. (2013). An overview of citric acid production. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 367-370.
7. Vandenberghe, L. P., Soccol, C. R., Pandey, A., & Lebeault, J. M. (1999). Microbial production of citric acid. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42, 263-276.
8. Behera, B. C., Mishra, R., & Mohapatra, S. (2021). Microbial citric acid: Production, properties, application, and future perspectives. *Food Frontiers*, 2(1), 62-76.
9. Rohr, M., Kubicek, C. P. and Kominek, J. (1983) Citric acid. In- *Biotechnology*, Vol. 3, Reed, G. and Rehm, H. J. (Eds.), Verlag-Chemie, Weinheim, pp. 419-454.
10. Al-Khalidi, M. H., Nasr-El-Din, H. A., Mehta, S., & Al-Aamri, A. D. (2007). Reaction of citric acid with calcite. *Chemical Engineering Science*, 62(21), 5880-5896.
11. Maddox, I. S., & Kingston, P. J. (1983). Use of immobilized cells of the yeast, *Saccharomycopsis lipolytica*, for the production of citric acid. *Biotechnology letters*, 5, 795-798.
12. Abou-Zeid, A. Z. A., & Ashy, M. A. (1984). Production of citric acid: A review. *Agricultural wastes*, 9(1), 51-76.
13. Gunde-Cimerman, N., Cimerman, A., Perdhi, A. (1986) *Aspergillus niger* mutants for bioconversion of apple distillery wastes. *Enzyme Microb. Technol*, 8, 166-170
14. Kirimura, K., Lee, S. P. Kawajima, I., Kawabe, S. and Usami, S. (1988a) Improvement in citric acid production by haploidization of *Aspergillus niger* diploid strains. *J. Ferment. Technol*, 66, 375-382
15. Roukas, T., & Kotzekidou, P. (1986). Production of citric acid from brewery wastes by surface fermentation using *Aspergillus niger*. *Journal of Food science*, 51(1), 225-228.
16. Kirimura, K., Lee, S. P. Kawajima, I., Kawabe, S. and Usami, S. (1988a) Improvement in citric acid production by haploidization of *Aspergillus niger* diploid strains. *J. Ferment. Technol*, 66, 375-382
17. König, H., & Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, 3-41.
18. Lennartson, A., & Lennartson, A. (2017). *The chemical works of Carl Wilhelm Scheele* (pp. 19-103). Springer International Publishing.
19. Lasprilla, A. J., Martinez, G. A., Lunelli, B. H., Jardini, A. L., & Maciel Filho, R. (2012). Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices—A review. *Biotechnology advances*, 30(1), 321-328.
20. Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria: their applications in foods. *J. Bacteriol. Mycol*, 6(2), 89-94.
21. Martinez, F. A. C., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., González, J. M. D., Converti, A., & de Souza Oliveira, R. P. (2013). Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in food science & technology*, 30(1), 70-83.



22. Krishna, B. S., Nikhilesh, G. S. S., Tarun, B., Saibaba, N., & Gopinadh, R. (2018). Industrial production of lactic acid and its applications. *Int J Biotechnol Res*, 1(1), 42-54.
23. John, R. P., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2007). Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 74, 524-534.
24. Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production—producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10).
25. Gerez, C. L., Torres, M. J., De Valdez, G. F., & Rollán, G. (2013). Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biological Control*, 64(3), 231-237.
26. Ngouénam, J. R., Kenfack, C. H. M., Kouam, E. M. F., Kaktcham, P. M., Maharjan, R., & Ngoufack, F. Z. (2021). Lactic acid production ability of *Lactobacillus* sp. from four tropical fruits using their by-products as carbon source. *Heliyon*, 7(5).
27. Abbasiliasi, S., Tan, J. S., Ibrahim, T. A. T., Bashokouh, F., Ramakrishnan, N. R., Mustafa, S., & Ariff, A. B. (2017). Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. *Rsc Advances*, 7(47), 29395-29420.