

کاربردهای فرایند تخمیر حالت جامد در تولید ترکیبات غذایی

مریم سلیمانی^۱، نعیما وکیلی^۱، کیانوش خسروی دارانی^۲

- ۱- کمیته تحقیقات دانشجویان، انتستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انتستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. پست الکترونیکی: kiankh@yahoo.com

چکیده

تخمیر حالت جامد نسبت به تخمیر غوطه‌ور دارای مزایای زیادی است که از جمله آنها می‌توان به صرفه اقتصادی این فرایندها، مقدار کم آب مورد استفاده، تجهیزات کم حجم، بهره‌دهی یا تولید زیاد در واحد حجم، آسانتر بودن فرایند هوایی، وجود نرخ افزایش یافته‌ای از انتشار اکسیژن در ماده‌ی جامد مرتبط، کاربرد در نواحی روتاسیونی به دلیل امکان کار در مقادیر کوچکتر اشاره نمود. از ابتدای تحول تمدن بشر، SSF برای کاربردهای غذایی مورد استفاده قرار گرفته است. انواع زیادی از غذاهای تخمیر شده نظیر پروتئین تک سلولی (SCP) پروپیوتیک، طعم دهنده‌ها، نوشیدنی‌ها، رنگ دانه‌ها و شیرین کننده‌های پیتیدی به طور گسترده به روش SSF تولید می‌شوند. هدف نویسنده‌گان از نوشتمن این مقاله، بررسی کاربردهای غذایی فرایند تخمیر حالت جامد به ویژه در تهیه آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، رنگ دانه‌ها، پروتئین تک سلولی SCP، اگزولپی ساکاریدها و ترکیبات معطر می‌باشد.

واژگان کلیدی: تخمیر حالت جامد، آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، رنگ دانه‌ها، پروتئین تک سلولی SCP

مقدمه

فرایند زیستی ممکن است لازم باشد تا اجزای با اندازه‌ی تلفیقی (معمولًا در یک طیف تلفیقی) استفاده شود تا صرفه اقتصادی را به حداقل رساند.^(۱-۹) علاوه بر رطوبت و اندازه ذره، عوامل فیزیکی-شیمیایی و بیولوژیکی مانند pH محیط، دما و دوره‌ی زمانی تخمیر، سن، اندازه و نوع تلقیح، ماهیت ماده و نوع میکرووارگانیسم در فرایندهای SSF مورد توجه قرار می‌گیرند.

به طور کلی مواد جامد یک محیط زیستی مناسبی برای رشد انواع میکروب‌ها شامل باکتری، مخمیر و قارچ فراهم می‌کند. در این میان قارچ‌های رشته‌ای نسبت به سایر میکرو ارگانیسم هابه دلیل رشد هیفها بر سطح ذرات ماده و درون آنها برای فرایندهای SSF مناسب تر می‌باشند. باقی‌مانده‌های پس از روغن کشی گیاهان (مانند تفاله روغنی چندین محصول زراعی مانند کاساوا، جو و باقی‌مانده‌های صنعتی-کشاورزی نظیر سیوس گندم، سیوس برنج، باگاس نیشکر و کاساوا تفاله‌های روغنی نارگیل، دانه‌ی نخل، سویا، تفاله و بادام زمینی)، میوه‌ها (مانند سیب)، ساقه‌های ذرت، کاه، دانه‌ها (مانند تمر هندی) پوسته و مغز قهقهه و تفاله چای رایج ترین مواد مصرفی برای فرایندهای SSF هستند.

تخمیر حالت جامد (SSF) به عنوان فرایند تخمیری تعریف می‌شود که در غیاب ویا تقریباً عدم حضور آب آزاد اتفاق می‌افتد. در اکثر فرایندهای SSF یک ماده خام طبیعی به عنوان منبع انرژی و کربن استفاده می‌شود. همچنین ممکن است در فرایند SSF از یک ماده جامد بی‌اثر به عنوان پایه جامد استفاده شود که نیازمند افزودن محلول مغذی حاوی نیازمندی‌های تغذیه‌ای و نیز منبع کربن برای رشد ریزسازواره است، سوبسترا جامد (پایه) باید حاوی رطوبت کافی باشد.^(۶-۱) میزان آب جذب شده با توجه به طبیعت سوبسترا متفاوت است و می‌تواند یک یا چندین بار بیشتر از وزن خشک سوبسترا باشد به نحوی که اگر فعالیت آب (a_w) به قدر کافی باشد آب در فصل مشترک ماده‌ی گاز-جامد قرار گرفته و باعث افزایش سرعت فرایندهای بیوشیمیایی می‌گردد.^(۸، ۷) از طرفی ذرات بسیار کوچک سطح بزرگتری را برای حمله میکروبی فراهم می‌سازند، اما با توجه به کاهش فضای بین ذره‌ای، در هوایگیری و تنفس میکرووارگانیسم مشکل ایجاد می‌کند. ذرات بزرگتر امکان هوایگیری و تنفس را تسهیل می‌بخشند ولی نسبت سطح به حجم کم آن‌ها زیست دسترسی سوبسترا را کاهش می‌دهد. در بهینه سازی

فرایندهای SSF برای آنزیم‌های غذایی
در ادامه این بخش انواع متابولیتهای میکروبی قابل کاربرد در صنایع غذایی معرفی می‌شوند.

(۱۶-۱۲). در حین رشد، میکروارگانیسم با سنتز و ترشح آنزیم‌های اگزو-هیدرولیتیکی بر روی سوبسٹرا دسترسی به تولیدات ساده (منبع کربن و مواد مغذی) توسط سلول‌ها را تسهیل نماید. این عمل به نوبه خود موجب تحریک بیوسنتز و فعالیت‌های میکروبی می‌شود.

جدول ۱. کاربردهای فرایند SSF در صنعت غذا

سوبسٹرا	میکروارگانیسم	محصول
نیشکر	<i>Brevibacterium</i>	آمینواسید
تفاله قهوه کاه کتان	<i>Pleurotus sp</i> <i>Lentinus edodes</i>	قارچ
دانه مالت مصرف شده	<i>Xanthomonas campestris</i>	زانثان
تفاله مرکبات		
تفاله سیب		
پوست مرکبات		
دانه مالت مصرفی	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	سوکسینوگلیکان
دانه‌های خوراکی		
نیشکر	<i>Monascus purpureus</i>	رنگدانه‌ها
برنج زلاتینه شده	<i>T. viride</i>	ترکیبات معطر
نیشکر	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	
غلاف قهوه	<i>Ceratocystis fimbriata</i>	
نیشکر کاساوا	<i>Rhizopus oryzae</i>	
لوبيا سویا	<i>Bacillus subtilis</i>	
برنج	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ویتامین‌ها
نیشکر کاساوا	<i>A. flavus</i>	آفلاتوكسین
نیشکر	<i>R. oryzae</i>	اسید لاکتیک
گل پرس شده سرگوم شیرین	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>L. casei</i>	
تفاله آناناس	<i>A. niger</i>	اسیدسیتریک
تفاله سیب		
تفاله هویج فرآوری شده		
تفاله انگور		
غلاف قهوه		
ملاس چنددر		
نیشکر	<i>Brevibacterium sp.</i>	اسید گلوتامیک

بررسی قرار گرفت. این مطالعات نه تنها توانایی تولید مصنوعی L-گلوتامیک اسید در محیط کشت جامد را نشان داد بلکه مشخص کرد که کشت در SSF موفقیت آمیز بوده

تولید آمینواسیدها: استفاده از محیط کشت SSF روش‌های کشت میکروبی مفیدی را برای تولید مواد بالارزش ارائه می‌دهد. تولید L-گلوتامیک اسید در SSF با تفاله نیشکر به عنوان سوبسٹرا و گونه‌ی بروی باکتریوم برای تخمیر مورد

(۲۴). جهت آماده سازی زانتان ابتدا سلول‌ها توسط فیلتراسیون یا سانتریفیوژ جدا می‌شود (۲۵). خالص سازی بیشتر با استفاده از مایعات امتزاج پذیر غیر محلول (ایزوپروپانول، اتانول و استون) همراه نمک‌های معلوم و تنظیمات pH انجام می‌گیرد (۲۵). اساس تولید صمغ زانتان در SSF استفاده از محیط کشت باکتریایی زانتوموناس کامپستریس می‌باشد. اگزو پلی ساکاراید در سطح کشت صنعتی بوسیله محصولات جانبی مثل ذرات مالت، تفاله سیب، تفاله انگور، پوست مرکبات و ملاس چغندر تولید می‌شود (۲۶). تولیدات صمغی طی فرایند SSF قابل مقایسه با SmF می‌باشد (۲۷).

تولید رنگدانه‌ها: رنگدانه‌ها نقش مهمی در صنعت غذا به عهده دارند. رنگدانه‌هایی که پروووتامین A دارند خاصیت ضد سرطانی از خود نشان می‌دهند. این رنگدانه‌ها کموستنتیک بوده و جزء سازنده غذا محسوب می‌شوند. در گذشته تولید رنگدانه‌ها به وسیله روش میکروبی در SmF انجام می‌گرفته، با این وجود کشت در SSF نیز قابل انجام است. رنگدانه *Monascus* خواص خوبی به عنوان رنگ دهنده غذا که پایداری شیمیایی خوبی داشته و پس از ترکیب با سایر مواد قابلیت اتحال در آب را خواهند داشت. این رنگدانه می‌تواند به عنوان جایگزین افزودنی‌های قدیمی غذا مانند نیتریت به گوشت اضافه شود (۲۷).

جانشین بالقوه‌ای برای رنگ غذاهای *Monascus* سنتیک می‌باشد (۴۰). *M. pupureus* و *Monascus anka* در SSF برای تولید رنگدانه قرمز کشت داده شده‌اند.

برنج بخار داده شده، جو دوسر و جو معمولی نیز به عنوان سوبسترا به کار گرفته می‌شوند. مدت زمان کشت حدوداً ۳ هفته است. قند، آمینواسید و فلزات در تولید مهم هستند و باعث افزایش ۱۰ برابری محصول در طی دو فرایند SSF و SmF می‌شود. تشكیل رنگدانه در حضور گلوکز در محیط کشت تخمیری، نقش منع کنندگی آن را نشان می‌دهد ولی با هوادهی به مقدار محدودی می‌توان به تشكیل رنگدانه‌ها کمک کرد. از سوی دیگر افزایش اندک فشار CO₂ باعث بیشتر شدن تولید رنگدانه می‌شود (۲۴). جهت جداسازی رنگدانه‌ها از ماده تخمیری، استخراج ساده‌ای با اتانول موثر خواهد بود (۲۸، ۲۶، ۱).

تولید ترکیبات معطر: یکی از کاربردهای معمول SSF در صنعت غذا تولید ترکیبات معطر است. دو مزیت اصلی SSF که متناظرا برای ترکیبات معطر به کار می‌رود عبارتند از:

است (۲۰) و در نهایت مقدار ۸۰ میلی گرم گلوتامیک اسید از هر گرم از ماده تخمیری بدست آمد.

تولید قارچ: قارچ‌ها به عنوان یک ماده مغذی قابل قبول در سطح جهان وارد صنعت غذا شده‌اند. بنابر درخواست‌های بی شمار مصرف کنندگان، کشت قارچ‌های تجاری در SSF به سرعت در سطح جهان گسترش یافته است. قارچ‌ها منبع غنی پروتئین، کربوهیدرات، ویتامین و مواد معدنی اند (۲، ۱۹). به طوری که میزان اسید فولیک موجود در قارچ بیشتر از اسفناج گزارش شده است. قارچ‌ها به علت داشتن ترکیبات پلی استیلنی، خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی در اهداف دارویی نیز حائز اهمیت اند. کشت قارچ در SSF شامل سه مرحله کود دادن، تولید دانه و رشد قارچ در سوبسترا مرتبط می‌باشد. جهت تولید در محیط کشت انتخابی که در آن میسلیوم‌ها کلنی تشکیل داده و قارچ تشکیل می‌شود در مرحله کود دادن، سوبسترا برای مدت زمان طولانی تعییه می‌شود. شرایط مناسب در این مرحله از فرایند بسته به ماهیت سوبسترا، رطوبت٪ ۴۰-۶۰، pH حدود ۶/۵-۷ و دمای انکوباسیون ۲۵ درجه است. دانه تولیدی در نهایت باید در دمای ۵ تا ۲۳ درجه نگهداری شود (رشد قسمتی که میوه می‌دهد به دمای کمتری در مقایسه با دمای میسلا نیاز دارد). این مرحله از فرایند نیازمند تهویه است. تهویه باعث خروج دی اکسید کربن انباسته شده در محصول و در نهایت افزایش رشد قارچ می‌شود. محصولات در مرحله رطوبت سوبسترا از مراحل کشت می‌شوند. در این مرحله رطوبت سوبسترا از مراحل قبلی (تشکیل کود و آماده سازی دانه) بیشتر است. رطوبت بالا (۹۵ تا ۸۰ درصد) شرایط مطلوبی را برای کنترل گرمای توده و تبادلات گازی فراهم می‌کند. بعد از کشت قسمت بارور شده، بقایای ماده جامد را می‌توان به عنوان غذای حیوانات بسته به ماده خام موجود در سوبسترا به کار برد (۱۰، ۱۹-۲۲).

تولید اگزوپلی ساکاراید: SSF در تولید اگزو پلی ساکاریدهایی مثل زانتان و سوکسینوگلیکان به کار می‌رود. از آنجایی که زانتان فاقد سم بوده و مانع رشد نمی‌شود، به عنوان افزودنی غذایی بدون هیچ محدودیتی FDA در آمریکا پذیرفته شده و بکار می‌رود (۲۴). صمغ زانتان به علت ایجاد امولسیون پایدار، ثبات دمایی صمغ و سازگاری با سایر عناصر سازنده‌ی غذا و خاصیت رئولوژیکی سودوپلاستیک بطور وسیعی در غذاها بکار می‌رود.

فیزیولوژیکی خوبی را برای ویتامین B_{12} از خود نشان دادند (۳۵، ۳۶).

مايكوتوكسین: مايكوتوكسین‌ها ترکيبات سمي هستند که به عنوان متابوليت ثانويه همراه غذاهاي مثل سريال‌ها و لوبیا‌ای سویا، ذرت، سرگوم و مغزها تولید می‌شوند. آفلاتوكسین، استریگماتوكسین، زئارالنون، پاتولین اوکراتوكسین و فومونیاسین از جمله سمومی هستند که احتمال ابتلا به سلطان را بالا می‌برند. آفلاتوكسین در برابر حرارت ۲۱۲ درجه فارنهایت پایدار است (۳۷).

فرایسینت و همکاران روش‌هایی جهت بررسی مايكوتوكسین در غذا ارائه کرده است. راهکارهایی مهم برای از بین بردن آفلاتوكسین، تریکوتیکنر، زئارالنون، فومونیاسین و اوکراتوكسین A توسط این افراد ارائه شده است. تولید مايكوتوكسین در SSF به عوامل مختلفی مثل دما، فعالیت آبی، منبع غذایی و هوادهی بستگی دارد (۳۸).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که تولید آفلاتوكسین در فرایند SSF با هوادهی زیاد (در محدوده ۰/۰۱ تا ۰/۰۴ میلی لیتر) در هر گرم ذرت در هر دقیقه) افزایش می‌یابد. از سوی دیگر گنزالس و همکارانش بیان کردند که رشد همزمان آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نایجر در SSF، باعث توقف تولید آفلاتوكسین خواهد شد (۳۹).

آنزیم‌ها: تقریباً همه آنزیم‌های میکروبی با استفاده از سیستم‌های SSF قابل تولید هستند. آنزیم‌های غذایی مهم از نظر صنعتی شامل آلفا آمیلاز، لیپاز، پروتئاز، پکنیناز هستند که به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته اند (۱۷، ۳۳، ۱۹، ۵، ۴).

طی بررسی‌های انجام شده در سال ۲۰۰۴، محققین بر این باورند که SSF یک روش مناسب برای تولید آنزیم و سایر متابولیت‌ها بوده و نسبت به روش SmF میزان محصول تولیدی بیشتر خواهد بود (۴۱-۴۴).

آمیلازها: آلفا آمیلاز EC-۳.۲.۱.۱-۴ D-گلوكان گلوكوهیدرولاز) یک آنزیم برون سلولی است که به طور اتفاقی اتصال‌های α -D-۱-۴ گلوكوزید را درون زنجیره آمیلوز می‌شکافد. در دهه ۱۹۵۰ از آمیلاز قارچی برای تولید سیریپ شکر استفاده شد مخلوط حاصل طی این روش ترکیب خاصی از قندهای مختلف بود که به روش هیدرولیز اسیدی نشاسته قابل تولید نمی‌باشد. اگرچه سیستم SSF به عنوان یک تکنولوژی مطلوب برای تولید آنزیم مطرح

۱- حذف مقدار زیادی از تولیدات میکروبی در فاز مایع
۲- استفاده مستقیم گروهی از سوبستراهای جامد یا متابولیت‌های جانبی بدون نیاز به مراحل آماده سازی SSF در تولید ترکيبات معطر با استفاده از قارچ و مخمر، مانند نوروسپورا، زیگوساکارومیس روکسی، آسپرژیلوس و تریکودرما ویریدا در محیط کشت برنج ژلاتینه شده، فیبرهای سلولزی و آگار به طور موقفيت آميزی استفاده شده است (۲۹). ریزوپوس اوریزایی در کشت صنعتی مناطق استوایی با بکارگیری تفاله‌ها برای تولید ترکيبات ناپایدار مثل استالدھید و ۳ متیل بوتانول نیز مفید بوده است (۳۰). متیل کتون در مقیاس تجاری از روغن نارگیل با آسپرژیلوس نایجر تولید می‌شود که مقدار تولیدی این محصول در طی فرایند SSF حدود ۴۰ درصد می‌باشد (۱، ۲۸، ۳۰).

گونه‌های Ceratocystis بسته به نژاد و شرایط کشت دادن مقدار زیادی ترکيبات خوشبو با عطر میوه و گل (هلو، موز، مرکبات، گل رز) تولید می‌کند (۳۱). از سوی دیگر کلستریدیوم فیمبریتا به طور گسترده برای تولید ترکيبات معطر در SSF مورد بررسی قرار گرفته است. سبوس گندم، نیشکر کاساو و قهوه به عنوان سوبسترا به کار گرفته شده‌اند. به علاوه پیش ماده‌هایی مثل اوره، لوسین و والین نیز تولید ترکيبات معطر را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۱-۳۴).

از دیگر ترکيبات معطر تولید شده طی فرایند SSF می‌توان به ترکيبات ۲ و ۵ دی متیل پیرازین (DMP-۲ و ۵) بوسیله *Bacillus natto* و تترامتیل پیرازین (TTMP) بوسیله *B. subtilis* روی لوبیا سویا اشاره کرد. نتایج بدست آمده مناسب بودن این فرایند را برای تولید ترکيباتی با عطر میوه و غذاهای مطلوب جهت مصرف جامعه بشری با قیمت کم ارائه می‌دهد. یکی از مشکلات موجود در مسیر این فرایند، جداسازی و آماده کردن ترکيبات تولیدی می‌باشد. تلاش‌های زیادی جهت حفظ ترکيبات در داخل موادی مثل رزین با جذب سطحی انجام گرفته است. با این وجود کارهای زیادی باید از این حیث انجام گیرد.

ویتامین‌ها: SSF جهت تولید ویتامین‌های محلول در آب مانند ویتامین B_{12} ، B_6 ، ریبووفلاوین، تیامین، نیکوتینینک اسید و نیکوتین آمید به کار گرفته می‌شود. مقدار نهایی این مواد بسته به تنوع گونه‌ها و مدت زمان تخمیر متفاوت خواهد بود. *R. oligosporus* به دلیل جداسازی راحت تولید کننده خوبی برای ویتامین‌ها بود و کپک‌ها ویژگی

پکتینازها : پکتینازها گروهی از آنزیم‌های هیدرولیتیک بوده که عموماً از آنها با عنوان آنزیم‌های پکتولیتیک یاد می‌شود، این گروه از آنزیم‌ها کاربردهای مهمی در صنایع غذایی، نوشیدنی‌ها و نیز دیگر صنایع داردند. آنزیم‌های پکتولیتیک ماده پکتیک راکاشه و از چسبندگی محصول می‌کاهد و در نتیجه کار با محصولات حاوی این ماده را آسانتر می‌سازد. پکتینازها شامل هیدرولازها، لیازها و اکسیدازها بوده و از گیاهان بلند، میکروگانیسم‌ها و حشرات بدست می‌آیند. در صنعت از *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium italicum*, *P. frequentans*, *Polyporus squamosus* برای تولید پکتیناز استفاده می‌شود. تفاله‌های صنعتی- کشاورزی گوناگونی مانند تفاله سبیب و مرکبات، پوست مرکبات و لیمو، سبوس سویا به عنوان ماده پایه مورد استفاده قرار می‌گیرند. از سوی دیگر دانه یا پوست مرکبات می‌تواند به عنوان الفاکننده برای سنتز آنزیم‌ها استفاده شوند. آنزیم پکتیناز تولیدی طی فرایند SSF در قیاس با SmF با ثبات تر است (۴۱، ۴۲).

با زیافت آنزیم‌ها از ماده تخمیر شده: بازیافت آنزیم، عامل مهم و تاثیر گذار بر قیمت نهایی فرایند است. در این مرحله از فرایند جهت جدا کردن ذرات کشت جامد از سانتریفیوز و اولترا فیلتراسیون عصاره کشت تخمیری استفاده شده و در نهایت آنزیم‌های تغليظ شده در ماده تخمیری، برای جدا شدن آماده می‌شوند. در بیشتر موارد از آب مقطر برای بازیابی آنزیم استفاده می‌شود. دمای استخراج نیز در میزان بازیابی آنزیم‌ها تا ثیر گذار است. بازیافت پروتئاز از ماده تخمیری SSF نشان می‌دهد که در pH=۷ استخراج آنزیم به خوبی صورت گرفته در صورتی که اپتیمم فعالیت آنزیم pH=۴ می‌گردد شده است (۱۸، ۱۹).

فرایندهای SSF برای اسیدهای آلی

اسیدهای آلی از زمان‌های گذشته به عنوان افزودنی، پیشگیری از فساد و توسعه زمان ماندگاری محصولات مغذی در صنعت غذا استفاده شده است. دو اسید آلی رایج در صنایع غذایی اسید سیتریک و لاکتیک می‌باشد.

اسید لاکتیک: اسید لاکتیک در صنایع مختلفی مانند صنایع غذایی، دارویی و صنایع نساجی کاربرد وسیع و قبل توجهی دارد. این ترکیب دارای دو نوع آناتبیومر (+) L و (-) D است که به دلیل حضور لاکتانت دهیدوژناز در بدن انسان نوع آناتبیومر (+) L برای مواد غذایی ترجیح داده می‌شود. در حال حاضر، اسید لاکتیک به عنوان پلیمر زیست تخریب

می‌باشد اما این آنزیم عموماً به وسیله سیستم SmF تولید می‌شود.

لیپازها: لیپاز یک بیوکاتالیزیت موثر برای هیدرولیز استر اسید چرب‌های غیر محلول در آب می‌باشد و به طور وسیعی در مقیاس صنعتی برای کاربردهای غذایی، شوینده‌ها، صنایع آرایشی و دارویی استفاده می‌شود (۴۲). در مطالعات انجام شده گزارشات متعددی با هدف تولید لیپاز خارج سلولی به وسیله قارچ‌هایی مانند گونه‌های رایزوپوس، آسپرژیلوس، پنی سیلیوم روی سوبسترای جامد مختلف در شرایط غوطه وری ارائه شد. اگرچه تحقیقات اندکی به بررسی اثر سیننرژیستی لیپاز تولید شده به وسیله مخمر به روش غوطه وری پرداخته است اما در بین این مطالعات در سال ۱۹۹۳ رائو و همکاران نشان دادند که نسبت C/N محیط کشت یک پارامتر مهم برای تولید لیپاز توسط مخمر *Candida rugosa* محسوب می‌شود. طی بررسی‌های انجام شده میزان آنزیم تولیدی به وسیله روش SSF بیشتر از روش SmF می‌باشد (۴۲). فاکتورهای موثر برای تولید لیپاز خارج سلولی شامل دما، pH، هوادهی و ترکیبات محیط کشت است. از سوی دیگر حضور تری گلیسیریدها باعث افزایش ترشح آنزیم‌های لیپولیتیک توسط گروه خاصی از میکروگانیسم‌ها می‌شود (۴۱).

در طی فرایند SSF انواع سوبسترها مانند ضایعات کشاورزی غنی از تری گلیسیرید، اسید چرب یا شکر می‌تواند برای بهبود تولید آنزیم استفاده شود. ضایعات کشاورزی (بادام زمینی و سبوس جو) برای تولید لیپاز به وسیله مخمر پریسنیا لیپولیتیکا در محیط کشت جامد به عنوان محافظ سوبسترا مطرح می‌باشد (۴۲).

پروتئازها : آنزیم‌های پروتئولیتیکی کاربردهای گسترده‌ای در صنعت غذا و دیگر صنایع داشته و تقریباً ۶۰٪ بازار صنعتی تکنولوژی آنزیم به آنزیم‌های پروتئولیتیکی اختصاص داده شده است. این آنزیم‌ها به طور برون سلولی توسط قارچ‌ها و باکتری‌هایی مانند R. A. *flavus* A. *oryzae*، *Bacillus subtilis*, *Penicillium citrinum*, *oligosporus* تولید می‌شوند. در سال‌های اخیر انواع مختلفی از پروتئولیزهای اسیدی، خنثی و قلیابی توسط SSF در حال تولید هستند. مطالعه مقایسه‌ای درباره تولید آنزیم‌های پروتئولیتیکی در SMF و SSF باروری بیشتری را در نشان داد (۴۱).

جدول ۲. سوبستراهای مصرفی به منظور تولید اسید سیتریک

اسید سیتریک g/kg	ماده خام
۷۶۶-۸۸۳	تفاله سیب
۴۱۳-۶۰۰	تفاله انگور
۱۰۰	پوست کیوی
۲۹	سلولز هیدرولیز شده
۴۶	تفاله پرتقال
۳۵	ملاس چندر
۱۷۴	ساکاراز
۱۵۰	غلاف قهقهه
۲۹	تفاله هویج
۹۶	اکارا (تفاله سویا)
۱۳۲-۱۹۴	تفاله آناناس
۲۱/۲۴	گلوكز نیشکر
۱۰۳	کومارا (با نشاسته)
۳۰۰	تفاله‌های مصارف خوارکی
۳۴۷	کاساوا

نتیجه گیری

از آنجا که موفقیت یک فرایند تخمیر غذایی وابسته به عمل میکرووارگانیسم‌ها و رشد و فعالیت میکرووارگانیسم‌ها نیز به نوبه خود به شرایط محیطی بستگی دارد، درنتیجه با کنترل شرایط محیطی می‌توان رشد گونه‌های میکروبی مطلوب را تحریک و ایجاد صفات حسی مطلوب را در غذاهای تخمیری تضمین نمود.

غذاهای تخمیر شده برای مدت زمان طولانی قابل انبارمانی است و در دوره‌های زمانی خارج از فصل کاربرد دارد. این فرایند در قابلیت گوارش غذاها تاثیر گذار بوده و ارزش غذایی محصول را تقویت می‌کند. اما از سوی دیگر احتمال آلودگی اتفاقی فرآوردهای غذایی به مایکوتوكسین‌ها (دسته‌ای از ترکیبات ناخواسته که توسط قارچ‌ها تولید می‌شوند) در SSF وجود دارد. حضور مایکوتوكسین‌ها می‌تواند به خاطر استفاده از مواد خام آلوده و یا به دلیل یک تولید اتفاقی در تخمیر و یا آلودگی به یک گونه سمزما باشد.

پذیر در پزشکی، صنعت و محصولات قابل فروش استفاده می‌شود (۴۳-۴۵).

در مطالعه انجام شده توسط Soccol و همکاران در سال ۱۹۹۴ بهره وری تولید اسید لاکتیک (+) L توسط رایزوپوس اوریزا در حالت جامد با نیشکرباگاس (به عنوان یک محافظ سوبسترا) نسبت به کشت غوطه وری بالاتر است (۴۶). در سال ۱۹۹۴ Rich و همکارانش به بررسی (+) L اسید لاکتیک تولید شده توسط لاکتوباسیلوس پاراکازئی در حالت جامد با استفاده از سورگوم شیرین به عنوان محافظ سوبسترا پرداختند (۴۷). از سوی دیگر مطالعات اخیر در سال ۲۰۰۵ به بررسی استفاده از سبوس گندم هم عنوان سوبسترا و هم به عنوان محافظ سوبسترا برای تولید (+) L اسید لاکتیک توسط لاکتوباسیلوس آمیلوفیلوس GV6 تحت فرایند SSF پرداخت (۴۸).

اسید سیتریک: اسیدسیتریک یکی از رایج ترین اسیدهای آلی مصرفی در صنایع غذایی و دارویی می‌باشد که صنایع غذایی با بیش از ۷۰٪ از کل تولید بزرگترین مصرف کننده اسید سیتریک محسوب می‌شود. ویژگی‌هایی مانند طعم دلپذیر، حلایت بالا و افزایش طعم باعث افزایش مصرف این ترکیب آلی می‌شود. اگر چه اسید سیتریک را می‌توان با مواد شیمیایی به دست آورد اما هزینه سنتز این ماده بسیار بالاتر از فرایند تخمیر است. به تازگی، به منظور افزایش بهره وری تولید اسید سیتریک با استفاده از اسپرژیلوس نیجر، از فرایند SmF عنوان جایگزین بالقوه فرایندهای پیشین مانند SSF مورد مطالعه قرار گرفته است. تولید اسید به قدرت سویه‌های مناسب و شرایط عملیاتی بستگی دارد. سطح اکسیژن یک پارامتر مهم برای تخمیر اسید سیتریک است. ضایعات مختلف مانند (تفاله سیب، تفاله انگور و پوست میوه کیوی به منظور انتخاب سوبسترا مناسب برای فرایند SSF مورد بررسی قرار گرفت. فرایند SSF به عنوان یک راه مناسب برای استفاده از ضایعات جامد سرشار از مواد مغذی به عنوان سوبسترا می‌باشد (۴۹).

References

1. Pandey A., Soccol CR, Mitchell DA. New developments in solid-state fermentation, I: bioprocesses and products. *Proc. Biochem* 2000; 35(10):1153–69.
2. Pandey A. Recent developments in solid state fermentation. *Proc Biochem* 1992;27:109–117.
3. Pandey A., C.R. Soccol, J.A. Rodriguez-Leon, P. Nigam. Solid state fermentation in biotechnology. New Delhi: Asiatech Publishers Inc, 2001; 221–225.
4. Pandey A., ed. Solid-State Fermentation. New Delhi: Wiley Eastern Publishers, 1994; 183.
5. Pandey A. Glucoamylase research: an overview. *Starch* 1995; 47(11):439–445.
6. Pandey A. Aspects for design of fermentor in solid-state fermentation. *Proc Biochem* 1991;26:355–361.
7. Dorta B, Bosch A, Arcaas J, Ertola R. Water balance in solid-state fermentation without forced aeration. *Enzyme Microb Technol* 1994; 16:562–565.
8. Raimbault M, General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic J Biotechnol* 1998; 1:1–20.
9. Pandey A. Effect of particle size of substrate on enzyme production in solid-state fermentation. *Bioresource Technol* 1991; 37(2):169–172.
10. Pandey A. Improvements in solid-state fermentation for glucoamylase production. *Biol Wastes* 1990, 34(1):11–19.
11. Zadrazil FA, Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi. *Bioresour Technol* 1995; 54:85–87.
12. Pandey A, Soccol CR, Nigam P, Soccol VT. Biotechnological potential of agro-industrial residues, I: sugarcane bagasse. *Bioresour Technol* 2000; 74(1):69–80.
13. Pandey A, Soccol CR, Nigam P, Soccol LPS, Vandenberghe R, Biotechnological potential of agro-industrial residues, II: cassava bagasse. *Bioresour Technol* 2000; 74(1):81–87.
14. Pandey A, Soccol CR, Nigam P, Brand R, Mohan S, Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochem Eng J* 2000; 6(2):153–162.
15. Aidoo KE, Hendry R, Wood BJB, Mechanized fermentation systems for the production of experimental soy sauce Koji. *J Food Technol* 1984; 19:389–398.
16. Banerjee R, Pandey A. Bioindustrial applications of sugarcane bagasse: a technological perspective. *Int Sugar J* 2002; 104(1238):64–67.
17. Pandey A, Selvakumar P, Soccol CR, Nigam P. Solid-state fermentation for the production of industrial enzymes. *Current Sci* 1999; 77(1):149–162.
18. Ikasari L, Mitchell DA, Leaching and characterization of Rhizopus oligosporus acid protease from solid-state fermentation. *Enzyme Microb Technol* 1996; 19:171–175.
19. Ikasari L, Mitchell DA, Mimicking gas and temperature changes during enzyme production by Rhizopus oligosporus in solid-state fermentation. *Biotechnol Lett* 1998; 20:349–353.
20. Nampoothiri KM, Pandey A. Solid state fermentation for L-glutamic acid production using *Brevibacterium* sp. *Biotechnol Lett* 1996; 18(2):199–204.
21. Fan L, Pandey A, Soccol CR. Growth of *Lentinus edodes* on the coffee industry residues and fruiting body production. In: Proc. 3rd International conference on Mushroom Biology and Mushroom Products & AMGA's 26th National Mushroom Industry Conference. Broderick B, Nair T, Sydney, 1999; 293–300.
22. Fan L, Pandey A, Mohan R, Soccol CR. Solid-state culturing: an efficient technique to utilize toxic agro-industrial residues. *J Basic Microbiol* 2000; 40(3):177–187.
23. Stredansky M, Conti E. Xanthan production by solid state fermentation. *Proc Biochem* 1999; 34:581–7.
24. Kennedy JF, Bradshaw IJ. Production, properties and applications of xanthan. *Prog Ind Microbiol* 1984; 19, 319–371.
25. Flores Candia JL, Deckwer WD, Xanthan gum. In: Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation Vol. 5, Flickinger, M.C., S.W. Drew, eds., New York: Wiley, 1999; 2695–2711.
26. Johns MR, Stuart DM, Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. *J Ind Microbiol* 1991; 8:23–28.
27. Fink-Gremmels J, Dresel J, Leistner L, Von Einstaz K. Monascus-extrakten als nitrate alternative beifleischerzeugnissen [Use of Monascus extracts as an alternative to nitrite in meat products]. *Fleischwirtschaft* 1991; 71:329–331.
28. Ito K, Yoshida K, Ishikawa T, Kobayashi S. Volatile compounds produced by the fungus *Aspergillus oryzae* in rice koji and their changes during cultivation. *J Ferment Bioeng* 1990; 70:169–172.

29. Gervais, P., M. Sarrette. Influence of age of mycelium and water activity of the medium on aroma production by *Trichoderma viride* grown on solid substrate. *J Ferment Bioeng* 1990; 69:46–50.
30. Bramorski, A., P. Christen, M. Ramirez, C.R. Soccol, S. Revah. Production of volatile compounds by the edible fungus *Rhizopus oryzae* during solid-state cultivation on tropical agro-industrial substrates. *Biotechnol Lett* 1998; 20:359–362.
31. Christen P, Villegas E, Revah S. Growth and aroma production by *Ceratocystis fimbriata* in various fermentation media. *Biotechnol Lett* 1994; 16(11):1183–1188.
32. Christen P, Meza, Revah S. Fruity aroma production in solid-state fermentation by *Ceratocystis fimbriata*: influence of the substrate type and the presence of precursors. *Mycol Res* 1997; 101:911–919.
33. Meza JC, Christen P, Revah S. Effect of added amino acids on the production of a fruity aroma by *Ceratocystis fimbriata*. *Sci Aliment* 1998;18:627–636.
34. Soares M, Christen P, Pandey A, Soccol CR. Fruity flavor production by *Ceratocystis fimbriata* grown on coffee husk in solid-state fermentation. *Proc Biochem* 2000; 35:857–861.
35. Keuth S, Bisping S. Vitamin B₁₂ production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumoniae* during tempeh fermentation and proof of enterotoxin absence by PCR. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60:1495–1499.
36. Keuth S, Bisping S. Formation of vitamins by pure culture of tempe molds and bacteria during the tempe solid substrate fermentation. *J Appl Bact* 1993; 75:427–434.
37. Vinas I, Dadon J, Sanchis V. Citrinin-producing capacity of *Penicillium expansum* strains from apple packinghouses of Lerida (Spain). *Int J Food Microbiol* 1993; 19(2):153–156.
38. Bullernman LB, Buchanan RL, Solid state fermentation. *J Food Protect* 1981; 44:701.
39. González JB, Rodríguez GM, Tomasini A. Environmental and nutritional factors controlling aflatoxin production in cassava solid state fermentation. *J Ferment Bioeng* 1990; 70:329–333.
40. Juzlova P, Martinkova L, Kren V. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: a review. *J Ind Microbiol* 1996; 16:163–170.
41. Muller M, Thermal denaturation: is solid-state fermentation really a good technology for the production of enzymes? *Bioresour Technol* 2004; 93: 261-68.
42. Couto SR, Sanromán MA, Application of solid-state fermentation to food industry a review *J Food Eng* 2006; 76: 291-302.
43. Gross RA, Kalra B, Biodegradable polymers for the environment. *Sci* 2002; 297:803–807.
44. Bohlmann G, Yoshida Y, Biodegradable polymers Chemical economic handbook report. 2000; 25-30.
45. Litchfield JH. Microbiological Production of Lactic Acid. In: Saul LN, Allen IL, editors. *Advances in Applied Microbiology*: Academic Press; 1996; 45-95.
46. Soccol CR, Marin B, Raimbault M, Lebeault JM. Potential of solid state fermentation for production of L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1994;41(3):286-90.
47. Richter K, Träger A. L(+)-Lactic acid from sweet sorghum by submerged and solid-state fermentations. *Acta Biotechnologica*. 1994;14(4):367-78.
48. Naveena BJ, Altaf M, Bhadrayya K, Madhavendra SS, Reddy G. Direct fermentation of starch to l(+) lactic acid in SSF by *Lactobacillus amylophilus* GV6 using wheat bran as support and substrate: medium optimization using RSM. *Process Biochemistry*. 2005;40(2):681-90.
49. Shah DN, Chattoo BB, Kothari RM, Hegde MV. Starch hydrolysate, an optimal and economical source of carbon for the secretion of citric acid by *yarrowia lipolytica* (DS-1). *Starch - Stärke*. 1993;45(3):104-9.

Application of Food Solid State Fermentation in Production of Food Ingredients

Soleimani M¹, Vakili N¹, Khosravi-Darani K^{*2},

1- Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- *Corresponding author: Associate Prof. (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: kiankh@yahoo.com

Abstract

Solid-state fermentation (SSF) has special benefits in compare to submerged fermentation including being cost effective, uses small amounts of water, use low volume equipment (lower cost), and more productivity or yield in unit volume, easier the aeration process, increased diffusion rate of oxygen into moistened solid substrate, supporting the growth of aerial mycelium. SSF can be effectively used at smaller volumes, which makes it suitable for rural areas. From the beginning of human civilization, SSF has been applied in production of food ingredients. Several types of fermented food e.g. single cell protein, probiotics, flavor enhancing, drinks, pigments, peptide sweetners have been broadly produced in SSF. Authors purpose in writing this paper reviews the in food applications of solid-state fermentation process, it has been used particularly for the production of enzymes, organic acids, pigments, SCP, exopolysaccharides, and aroma compounds.

Keywords: Solid-state (substrate) fermentation, Enzyme, Organic acid, Pigment, single cell protein (SCP)