

کاربردهای فرایند تخمیر حالت جامد در تولید ترکیبات غذایی

مریم سلیمانی^۱، نعیمه و کیلی^۱، کیانوش خسروی دارانی^۲

۱- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو 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 هوازی، وجود نرخ افزایش یافته‌ای از انتشار اکسیژن در ماده‌ی جامد مرطوب، کاربرد در نواحی روستایی 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) پروبیوتیک، طعم دهنده‌ها، نوشیدنی‌ها، رنگ دانه‌ها و شیرین کننده‌های پپتیدی به طور گسترده به روش SSF تولید می‌شوند. هدف نویسندگان از نوشتن این مقاله، بررسی کاربردهای غذایی فرایند تخمیر حالت جامد به ویژه در تهیه آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، رنگ دانه‌ها، پروتئین تک سلولی SCP، آگزوپلی 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 اندازه ی تلفیقی (معمولا در یک طیف تلفیقی) استفاده شود تا صرفه اقتصادی را به حداکثر رساند. (۱-۱۱، ۲، ۱). علاوه بر رطوبت و اندازه ذره، عوامل فیزیکی-شیمیایی و بیولوژیکی مانند pH محیط، دما و دوره ی زمانی تخمیر، سن، اندازه و نوع تلقیح، ماهیت ماده و نوع میکروارگانیسم در فرایندهای SSF مورد توجه قرار می‌گیرند.

به طور کلی مواد جامد یک محیط زیستی مناسبی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری، مخمر و قارچ فراهم می‌کند. در این میان قارچ‌های رشته‌ای نسبت به سایر میکرو ارگانیسم‌ها به 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 سبوس گندم، سبوس 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 قهوه 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 تقریبا 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، سوبسترای 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 ماده ی 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 هواگیری و تنفس میکروارگانیسم مشکل ایجاد می‌کنند. ذرات بزرگتر امکان هواگیری و تنفس را تسهیل می‌بخشند ولی نسبت سطح به حجم کم آن‌ها زیست دسترسی سوبسترا را کاهش می‌دهد. در بهینه سازی

فرایندهایSSF 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 آگرو-هیدرولیتیکی بر روی سوبسترا 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 فرایندSSF در صنعت غذا

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

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 درSSF موفقیت آمیز بوده

تولید آمینواسیدها: استفاده از محیط کشتSSF روش‌های کشت میکروبی مفیدی را برای تولید مواد با ارزش ارائه می‌دهد. تولید L-گلوتامیک اسید درSSF با تفاله نیشکر به عنوان سوبسترا و گونه ی بروی باکتریوم برای تخمیر مورد

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 ی مغذی قابل قبول در سطح جهان وارد صنعت غذا شده اند. بنابر درخواست‌های بی شمار مصرف کنندگان، کشت قارچ‌های تجاری درSSF 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 درSSF شامل سه مرحله کود دادن، تولید دانه و رشد قارچ در سوبسترای مرطوب می‌باشد. جهت تولید در محیط کشت انتخابی که در آن میسلیم‌ها کلنی تشکیل داده و قارچ تشکیل می‌شود در مرحله ی کود دادن، سوبسترا برای مدت زمان طولانی تعبیه می‌شود. شرایط مناسب در این مرحله از فرایند بسته به ماهیت سوبسترا، رطوبت ۶۰-۴۰٪، 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 انباشته شده در محصول و در نهایت افزایش رشد قارچ می‌شود. محصولات در مرحله ی دوم و سوم توسعه اسپروפור کشت می‌شوند. در این مرحله رطوبت سوبسترا از مراحل قبلی (تشکیل کود و آماده سازی دانه) بیشتر است. رطوبت بالا (۸۰ تا ۹۵ 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 (۱، ۱۰، ۱۹-۲۲).

تولید آگزوپلی ساکارید:SSF در تولید آگزوپلی 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 توسط FDA در آمریکا پذیرفته شده و بکار می‌رود (۲۴). صمغ زانتان به علت ایجاد امولسیون پایدار، ثبات دمایی صمغ و سازگاری با سایر عناصر سازنده ی غذا و خاصیت رئولوژیکی سودوپلاستیک بطور وسیعی در غذاها بکار می‌رود

(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 درSSF استفاده از محیط کشت باکتریایی *Zantomonas کامپستریس* می‌باشد. آگزوپلی ساکارید در سطح کشت صنعتی بوسیله محصولات جانبی مثل ذرات مالت، تغاله سیب، تغاله انگور، پوست مرکبات و ملاس چغندر تولید می‌شود (۲۶). تولیدات صمغی طی فرایندSSF قابل مقایسه باSmF می‌باشد (۲۳).

تولید رنگدانه‌ها: رنگدانه‌ها نقش مهمی در صنعت غذا به عهده دارند. رنگدانه‌هایی که پروویتامین A دارند خاصیت ضد سرطانی از خود نشان می‌دهند. این رنگدانه‌ها کموسنتتیک بوده و جزء سازنده غذا محسوب می‌شوند. در گذشته تولید رنگدانه‌ها به وسیله روش میکروبی در SmF انجام می‌گرفته، با این وجود کشت درSSF 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 انحلال در آب را خواهند داشت. این رنگدانه می‌تواند به عنوان جایگزین افزودنی‌های قدیمی غذا مانند نیتريت به گوشت اضافه شود (۲۷).

Monascus جانشین بالقوه‌ای برای رنگ غذاهای سنتتیک می‌باشد (۴۰). *M. pupureus* و *Monascus anka* درSSF 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، آمینو اسید و فلزات در تولید مهم هستند و باعث افزایش ۱۰ برابری محصول در طی دو فرایندSSF و SmF می‌شود. تشکیل رنگدانه در حضور گلوکز در محیط کشت تخمیری، نقش منع کنندگی آن را نشان می‌دهد ولی با هوادهی به مقدار محدودی می‌توان به تشکیل 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 معمولSSF در صنعت غذا تولید ترکیبات معطر است. دو مزیت اصلیSSF که متناوباً برای ترکیبات معطر به کار می‌رود عبارتند از:

فیزیولوژیکی خوبی را برای ویتامین B₁₂ از خود نشان دادند (۳۵، ۳۶).

مایکوتوکسین: مایکوتوکسین‌ها ترکیبات سمی هستند که به عنوان متابولیت ثانویه همراه غذاهایی مثل سریال‌ها و لوبیای سویا، ذرت، سرگرم و مغزها تولید می‌شوند. آفلاتوکسین، استریگماتوکسین، زئارالنون، پاتولین اوکراتوکسین و فومونیا سین از جمله سمومی هستند که احتمال ابتلا به سرطان را بالا می‌برند. آفلاتوکسین در برابر حرارت ۲۱۲ درجه فارنهایت پایدار است (۳۷).

فرایسینت و همکاران روش‌هایی جهت بررسی مایکوتوکسین در غذا ارائه کرده است. راهکارهایی مهم برای از بین بردن آفلاتوکسین، تریکوتیکنز، زئارالنون، فومونیا سین و اکراتوکسین A توسط این افراد ارائه شده است. تولید مایکوتوکسین در SSF به عوامل مختلفی مثل دما، فعالیت آبی، منبع غذایی و هوادهی بستگی دارد (۳۸).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که تولید آفلاتوکسین در فرایند SSF با هوادهی زیاد (در محدوده ۰/۰۱ تا ۰/۰۴ میلی لیتر هوا 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 آفلاتوکسین خواهد شد (۳۹).

آنزیم‌ها: تقریباً همه ی آنزیم‌های میکروبی با استفاده از سیستم‌های SSF قابل تولید هستند. آنزیم‌های غذایی مهم از نظر صنعتی شامل آلفا آمیلاز، لیپاز، پروتئاز، پکینیناز هستند که به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته اند (۳۳، ۱۷، 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 (۴۱-۳۴).

آمیلازها: آلفا آمیلاز EC-۳.۲.۱.۱ (۴-α-D-گلوکان گلوکوهدرولاز) یک آنزیم برون سلولی است که به طور اتفاقی اتصال‌های α-D-۱، ۴ گلوکوزید را درون زنجیره آمیلوز می‌شکافد. در دهه ۱۹۵۰ از آمیلاز قارچی برای تولید سیروپ شکر استفاده شد مخلوط حاصل طی این روش ترکیب خاصی از قندهای مختلف بود که به روش هیدولیز اسیدی نشاسته قابل تولید نمی باشد. 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 ترکیبات 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 موفقیت آمیزی استفاده شده است (۲۹). *ریزوپوس اوریزایی* در کشت صنعتی مناطق استوایی با بکارگیری تفاله‌ها برای تولید ترکیبات ناپایدار مثل استالدهید 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 (۳۰، ۲۸، ۱).

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

از دیگر ترکیبات معطر تولید شده طی فرایند SSF می‌توان به ترکیبات ۲ و ۵ دی متیل پیرازین (DMP) - ۲ و ۵ (بوسیله *Bacillus natto* و ترامتیل پیرازین (TTMP)) بوسیله *B. subtilis* روی لوبیای سویا اشاره کرد. نتایج بدست آمده مناسب بودن این فرایند را برای تولید ترکیباتی 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 ترکیبات تولیدی می‌باشد. تلاش‌های زیادی جهت حفظ ترکیبات 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 B₁₂، B₆، ریبوفلاوین، تیامین، نیکوتینیک 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 دارند. آنزیم‌های پکتولیتیک ماده پکتیک راکاهش 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، میکروارگانیسم‌ها 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 سیب 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 القاکننده برای سنتز آنزیم‌ها استفاده شوند. آنزیم پکتیناز تولیدی طی فرایندSSF در قیاس با SmF با ثبات تر است (۴۲، ۴۱).

بازیافت آنزیم‌ها از ماده ی 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 سانتریفیوژ و اولترا فیلتراسیون عصاره کشت تخمیری استفاده شده و در نهایت آنزیم‌های تغلیظ شده در ماده ی تخمیری، برای جدا شدن آماده می‌شوند. در بیشتر موارد از آب مقطر برای بازیابی آنزیم استفاده می‌شود. دمای استخراج نیز در میزان بازیابی آنزیم‌ها تاثیر گذار است. بازیافت پروتئاز از ماده ی تخمیریSSF نشان می‌دهد که در $\text{pH}=7$ استخراج آنزیم به خوبی صورت گرفته در صورتی که اپتیمم فعالیت آنزیم $\text{pH}=4$ گزارش شده است (۱۹، ۱۸).

فرایندهایSSF 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 قابل توجهی دارد. این ترکیب دارای دو نوع آنانتیومر (+)L و (-)D است که به دلیل حضور Lاکتات دهیدروژناز در بدن انسان نوع آنانتیومری (+)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 بیوکاتالست موثر برای هیدرولیز استر اسید چرب‌های غیر محلول در آب می‌باشد و به طور وسیعی در مقیاس صنعتی برای کاربردهای غذایی، شوینده ها، 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 سینرژیستی 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 روشSSF 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 میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۴۱).

در طی فرایندSSF انواع سوبستراها 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 *یریسینیا 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 قلیایی توسطSSF در حال تولید هستند. مطالعه مقایسه‌ای درباره تولید آنزیم‌های پروتئولیتیکی درSSF وSMF باروری بیشتری را درSSF نشان داد (۴۱).

جدول ۲. سوبستراهای مصرفی به منظور تولید اسید سیتریک

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

نتیجه گیری

از آنجا که موفقیت یک فرایند تخمیر غذایی وابسته به عمل میکروارگانسیم‌ها و رشد و فعالیت میکروارگانسیم‌ها نیز به نوبه خود به شرایط محیطی بستگی دارد، در نتیجه 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 فرآورده‌های غذایی به مایکوتوکسین‌ها (دسته‌ای از ترکیبات ناخواسته که توسط قارچ‌ها تولید می‌شوند) در SSF وجود دارد. حضور مایکوتوکسین‌ها می‌تواند به خاطر استفاده از مواد خام آلوده و یا به دلیل یک تولید اتفاقی در تخمیر و یا آلودگی به یک گونه سم‌زا 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 رابینوس / اوریزا در حالت جامد با نیشکر باگاس (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 فرایندSSF 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، حلالیت 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 نیچر، از فرایندSSF عنوان جایگزین بالقوه فرایندهای پیشین مانند SmF 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 سوبسترای مناسب برای فرایندSSF مورد بررسی قرار گرفت. فرایندSSF به عنوان یک راه مناسب برای استفاده از ضایعات جامد سرشار از مواد مغذی به عنوان سوبسترا می‌باشد (۴۹).

References

- Pandey A., Soccol CR, Mitchell DA. New developments in solid-state fermentation, I: bioprocesses and products. *Proc. Biochem* 2000; 35(10):1153–69.
- Pandey A. Recent developments in solid state fermentation. *Proc Biochem* 1992;27:109–117.
- Pandey A., C.R. Soccol, J.A. Rodriguez-Leon, P. Nigam. *Solid state fermentation in biotechnology*. New Delhi: Asiatech Publishers Inc, 2001; 221-225.
- Pandey A., ed. *Solid-State Fermentation*. New Delhi: Wiley Eastern Publishers, 1994; 183.
- Pandey A. Glucoamylase research: an overview. *Starch* 1995; 47(11):439–445.
- Pandey A. Aspects for design of fermentor in solid-state fermentation. *Proc Biochem* 1991;26:355–361.
- Dorta B, Bosch A, Arcaas J, Ertola R. Water balance in solid-state fermentation without forced aeration. *Enzyme Microb Technol* 1994; 16:562–565.
- Raimbault M, General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic J Biotechnol* 1998; 1:1–20.
- Pandey A. Effect of particle size of substrate on enzyme production in solid-state fermentation. *Bioresour Technol* 1991; 37(2):169–172.
- Pandey A. Improvements in solid-state fermentation for glucoamylase production. *Biol Wastes* 1990, 34(1):11–19.
- 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.
- Pandey A, Soccol CR, Nigam P, Soccol VT. Biotechnological potential of agro-industrial residues, I: sugarcane bagasse. *Bioresour Technol* 2000; 74(1):69–80.
- 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.
- 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.
- Aidoo KE, Hendry R, Wood BJB, Mechanized fermentation systems for the production of experimental soy sauce Koji. *J Food Technol* 1984; 19:389–398.
- Banerjee R, Pandey A. Bioindustrial applications of sugarcane bagasse: a technological perspective. *Int Sugar J* 2002; 104(1238):64–67.
- Pandey A, Selvakumar P, Soccol CR, Nigam P. Solid-state fermentation for the production of industrial enzymes. *Current Sci* 1999; 77(1):149–162.
- Ikasari L, Mitchell DA, Leaching and characterization of *Rhizopus oligosporus* acid protease from solid-state fermentation. *Enzyme Microb Technol* 1996; 19:171–175.
- 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.
- Nampoothiri KM, Pandey A. Solid state fermentation for L-glutamic acid production using *Brevibacterium* sp. *Biotechnol Lett* 1996; 18(2):199–204.
- 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.
- 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.
- Stredansky M, Conti E. Xanthan production by solid state fermentation. *Proc Biochem* 1999; 34:581–7.
- Kennedy JF, Bradshaw IJ. Production, properties and applications of xanthan. *Prog Ind Microbiol* 1984; 19, 319–371.
- 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.
- Johns MR, Stuart DM, Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. *J Ind Microbiol* 1991; 8:23–28.
- 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.
- 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. Bullerman 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, Bhadrappa 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 sweeteners 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)