

بهینه‌سازی تخمیر اوکارا و تولید برگر گیاهی از اوکارای تخمیر یافته

داود زارع^۱، ته‌مینه تقی‌زاده^۲

۱- گروه زیست انرژی و فرآورده‌های تبدیلی، پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
(نویسنده مسئول)*

۲- مرکز کلکسیون میکروبیهای صنعتی ایران، پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۳۰

چکیده

امروزه غذاهای تخمیری و یا عملگرا از مزایای فراوانی برخوردارند. یکی از این محصولات، غذاهای تخمیری سویا و یا اصطلاحاً تمپه است که در آن از کپک ریزوپوس/اولیگوسپوروس برای تخمیر دانه سویا استفاده می‌شود. از طرفی اوکارا که باقیمانده تولید شیر سویا می‌باشد از قابلیت‌های خوبی برای تبدیل شدن به یک محصول تخمیری برخوردار است. در این بررسی اثر قارچ‌های مختلف بر روی بستر جامد اوکارا ارزیابی شد و بهترین قارچ برای تخمیر محصول اوکارا مورد بهینه‌سازی از نظر دما قرار گرفت. نتایج نشان داد از میان قارچ‌هایی نظیر پلوروتوس، آگاریکوس، فلامولینا، رسولا و ریزوپوس، بهترین شرایط برای به دست آوردن یک بستر مناسب به‌عنوان یک محصول غذایی را کپک ریزوپوس/اولیگوسپوروس ایجاد می‌نماید. هم‌چنین شرایط بهینه از نظر دما برای رشد این کپک مورد بررسی قرار گرفت که نشان داد بهترین دما برای تخمیر اوکارا دمای ۳۲ °C است. در پایان، بستر تخمیر شده اوکارا مورد بهینه‌سازی از نظر فرمولاسیون غذایی قرار گرفت. نتایج نشان داد بهترین فرمولاسیون برای تولید یک برگر تخمیری از اوکارا شامل پودر سیب‌زمینی ۲۵٪، توفو ۲۰٪، شکر ۴٪، نمک ۲٪، پیاز ۳۵٪، سیر ۳/۵٪، ادویه ۱/۵٪ و تخم مرغ ۲۰ gr می‌باشد. بررسی مقدار پروتئین نیز نشان داد محصول نهایی دارای حدود ۴۰/۶٪ پروتئین است که از مقدار قابل قبولی به‌عنوان یک محصول غذایی برخوردار می‌باشد.

کلمات کلیدی: سویا، اوکارا، غذای تخمیری، ریزوپوس/اولیگوسپوروس

* davoodz@yahoo.com

مقدمه

مسئله غذا و کمبود آن در حقیقت مشکلی است که تمامی کشورها به نوعی با آن درگیر می‌باشند. ازدیاد نفوس در دنیا و تکثیر روزافزون جمعیت مدتهاست که توجه مراکز بین‌المللی را به خود جلب نموده‌است (۱). بررسی‌ها نشان می‌دهد که ۹۰٪ کالری و ۸۰٪ پروتئین مورد نیاز انسان را مستقیماً منابع گیاهی تأمین می‌کنند و بقیه آن بطور غیرمستقیم با مصرف گیاهان توسط حیوانات، از منابع حیوانی تأمین می‌گردد. کمبود مواد پروتئینی، ویتامین‌ها و املاح معدنی، عامل اصلی بروز بیماری‌ها در ممالک فقیر می‌باشد. فقط ۲۸٪ از جمعیت جهان از مقدار کالری لازم در روز یعنی بیش از ۲۷۰۰ کالری بهره‌مند می‌شوند و ۱۲٪ از ۲۲۰۰ تا ۲۷۰۰ کالری در روز و ۶۰٪ کمتر از ۲۲۰۰ کالری در روز مصرف می‌کنند (۱).

سویا یا سوژا^۱ گیاهی است از خانواده بقولات Legumineuse و اسم علمی آن Glycinemaxl می‌باشد (۲). سویا در شرق آسیا به‌عنوان غذای انسان و حیوان دارای سابقه بسیار قدیمی است ولی در سایر نقاط دنیا تولید سویا در این قرن اهمیت یافته‌است (۱،۳). زراعت سویا در ایالات متحده آمریکا تقریباً از سال ۱۳۴۰ به صورت یک زراعت عمده در آمد و در بعضی مناطق دیگر مانند برزیل و آرژانتین نیز آغاز شد که امروزه از تولیدکنندگان عمده سویا در جهان هستند. سویا هم‌اکنون تقریباً به‌عنوان یک گیاه استراتژیک در سطح دنیا مطرح شده‌است (۱،۳). در ایران در سال ۱۳۵۵ سطح زیر کشت سویا حدود ۶۰ هکتار و محصول آن بالغ بر ۹۰ هزار تن بود و در سال ۱۳۹۲ سطح زیر کشت سویا در ایران برابر ۸۰ هزار هکتار بوده که از این سطح حدود ۲۱۷۰۰۰ تن محصول برداشت شده‌است و به نظر می‌رسد روند افزایش کشت سویا بدلیل فواید آن توسعه‌یابد (۱،۴،۵).

فرآیند سویا در مصارف غذایی انسان به دو دسته غذاهای تخمیری و غذاهای غیر تخمیری سویا تقسیم می‌گردد. از جمله غذاهای غیر تخمیری سویا می‌توان از شیر سویا، توفو، سویای سبز، آجیل سویا و جوانه سویا نام برد. در مقابل، غذاهای تخمیری سویا غذاهایی هستند که در یک مرحله از تولید آن‌ها، سویا و یا فرآورده‌های آن تحت تاثیر آنزیم‌ها و یا میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته و تخمیر شده است. بطور کلی تخمیر سویا به منظور بهبود طعم و کیفیت و در بسیاری از موارد برطرف کردن بوی لوبیایی سویا انجام می‌پذیرد (۶).

از جمله غذاهای تخمیری سویا می‌توان سس سویا، میزو، تمپه و سوفو را نام برد. تمپه^۲ یک محصول غذایی تخمیری از دانه سویا است و در کشورهای نظیر اندونزی و دیگر کشورهای آسیایی مصرف زیادی دارد. این محصول در واقع از تخمیر و رشد نوعی قارچ به نام *ریزوپوس اولیگوسپوروس* بر روی دانه سویا به‌دست می‌آید. در طی فرآیند تخمیر، ارزش غذایی و طعم محصول نهایی تخمیر شده افزایش می‌یابد و در عوض یک هضم اولیه از مواد لیپیدی، پروتئینی و فیتات‌ها در سویا اتفاق می‌افتد و بنابراین هضم بعدی آن در بدن آسان‌تر می‌گردد. از طرف دیگر یکی از قندهای موجود در سویا کربوهیدرات‌های آلفا-گالاکتوزید است. این کربوهیدرات‌ها در بدن قابل هضم کردن نیستند زیرا بدن انسان فاقد آنزیم α -(۱-۶) گالاکتوزیداز است و بنابراین کربوهیدرات‌های آلفا-گالاکتوزیدی توسط باکتری‌های روده تجزیه شده و باعث نفخ معده می‌گردند و استفاده مستقیم سویا مانند دیگر بقولات موجب نفخ شکم می‌گردد. تخمیر سویا توسط *ریزوپوس الیگوسپوروس* کربوهیدرات‌های سویا را تا حدی تجزیه نموده و مانع از نفخ شکمی می‌گردد (۷،۸).

² Tempe¹ Soybean

زارع و همکاران

پروتئین‌ها و لیپیدها نیز تغییر می‌یابد. استاچوز که یک تتراساکارید غیر قابل جذب در انسان است کاهش یافته و ریوفلاوین تقریباً دو برابر می‌گردد و نیاسین هفت برابر افزایش می‌یابد. هم‌چنین ویتامین B₁₂ که معمولاً در غذاهای گیاهی از نسبت پایین برخوردار است در بستر افزایش می‌یابد (۸-۱۰). مقدار پروتئین بالا و دلپذیر و بافت نرم تمپه اجازه می‌دهد تا این غذا قسمت کوچک اما وسعت‌یافته‌ای از فروش گیاهخواری را در ژاپن، آمریکا و اروپا اشغال کند (۸،۹). بر طبق گزارش شورتلف و آیاگی^۱، ۵۳ کارخانه تولید تمپه در ایالات متحده فعال است که بزرگترین آن‌ها ۷۰۰۰ پوند در روز تمپه تولید می‌کند. بزرگترین کارخانه در اندونزی روزانه ۱۷۶۰ پوند تمپه تولید می‌نماید. بنابراین تولید تمپه هنوز یک عمل اقتصادی نسبتاً کوچک است و فرصت‌های زیادی در اختیار کشورها به‌ویژه جهت جایگزینی محصولات غنی از پروتئین به جای گوشت با قیمت نسبتاً پایین قرار داده است (۱۱).

اوکارا محصول فرعی حاصل از فرآیند تولید شیر سویاست. در واقع در هنگام تولید شیر سویا ترکیبات غیرمحلول و جامد سویا که شامل مقادیر قابل توجهی فیبر، پروتئین و دیگر ترکیبات سویاست فیلتر شده و از شیر سویا جدا می‌گردد. این ماده از طرفی قیمت بسیار ارزانی دارد و از طرف دیگر نگهداری و ذخیره آن به دلیل مقدار بالای رطوبت مقرون‌به‌صرفه نیست. بررسی‌های فراوانی در دنیا به منظور استفاده از اوکارا در رژیم غذایی انسان صورت گرفته است. در واقع بدلیل این که اوکارا حاوی مقادیر بالایی فیبر، و هم‌چنین مقدار نسبتاً خوبی پروتئین است و از طرفی محصول فرعی تولید توفو است می‌تواند با قیمت بسیار ارزان به‌عنوان یک ماده غذایی در اختیار انسان قرار گیرد. ما و همکاران^۲ (۱۹۹۷) با اندازه‌گیری

امروزه تمپه در بسیاری از کشورهای غربی نظیر هلند و ایالات متحده مورد مصرف قرار می‌گیرد و به طور کلی به دلیل گزارشات فراوانی که از مزایای سویا در سال‌های اخیر منتشر شده است علاقمندی به تمپه به آرامی در کشورهای مختلف رو به افزایش است (۸).

تولید تمپه در واقع تخمیر مستقیم دانه سویاست و برای این کار دانه سویا برای چند ساعت خیسانده می‌شود و سپس پوست‌گیری شده و برای حدود ۰/۵h جوشانده می‌شود تا بافت آن کاملاً نرم شود. پس از آن آب اضافی دانه‌های سویا گرفته شده و سطح آن‌ها با یک پارچه تمیز خشک می‌شود. پس از انجام مراحل فوق دانه‌های سویا با اسپور خالص قارچ ریزوپوس *الیکوسپوروس* تلقیح می‌گردد و پس از حدود ۲۴h گرماگذاری در دمای ۲۸°C، میسلیم‌های قارچی دانه‌های سویا را به هم متصل می‌نماید و یک بستر پیوسته ایجاد می‌نماید. به این ترتیب محصولی تخمیر شده از سویا به دست می‌آید که می‌توان آن‌را به صورت خام یا پخته به‌عنوان غذای انسانی مورد استفاده قرار داد (۷،۸).

بسیاری از مطالعات انجام شده نشان می‌دهد تمپه یک غذای ضد اسهال است و اثرات ضد چربی دارد (۸،۹). هم‌چنین مشخص شده است که فیتواستروژن‌های فلاونویدی سویا هم‌چون daidzein و enistein مسئول فعالیت‌های بیولوژیک تمپه هستند. در سنگاپور مشخص شده است علت پایین بودن نسبت سرطان پستان در زنان بدلیل مصرف بالای ترکیبات سویاست. مصرف سویا هم‌چنین در زنان یائسته در بهبود و سلامت سیتولوژی واژن و مقدار ترکیبات معدنی مغز و استخوان بسیار موثر است (۱۰). در عوض مقدار ایزوفلاون‌ها در تمپه حداقل به اندازه دانه سویا می‌باشد. بنابراین منصفانه است تا بگوئیم تمپه خواص ضد سرطانی و ضد پوکی استخوان دارد، هر چند مطالعات بیشتر برای تعیین و درک میزان آن لازم است (۱۰). در طی تخمیر تمپه نه تنها بافت، بلکه

¹ Shurtleff and Aoyagi

² Ma et al

حدود ۸۰۰ ml آب با استفاده از یک بلندر آزمایشگاهی کاملاً آسیاب گردید. محلول آسیاب شده به مدت ۳-۵ min جوشانده شد و سپس با یک صافی مناسب با سایز حدود ۰/۱ mm، شیر سویا صاف گردید تا ذرات جامد آن که اصطلاحاً اوکارا نامیده می‌شود کاملاً جدا شود. بستر یا همان اوکارا برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت. شیره به دست آمده نیز شیر سویا نام دارد که به روش‌های مختلفی قابل تبدیل به توفو یا پنیر سویا است (۱۲).

تهیه کشت‌های اولیه

برای تولید بستر قارچی از اوکارا یا باقیمانده جامد سویا، از قارچ‌های خوراکی ذیل استفاده گردید. همگی قارچ‌ها از مرکز کلکسیون میکروب‌های صنعتی ایران تهیه گردید. پلوروتوس ساجور کاجو^۳، پلوروتوس استراتوس^۴، پلوروتوس سیتروپیلاتوس^۵، ریزوپوس الیگوسپوروس^۶، آگاریکوس بیسپوروس^۷، یک گونه فلامولینا^۸ و یک گونه رسولا^۹. تمامی این قارچ‌ها در محیط کشت Potato (PDA) Dextrose Agar کشت داده شد و پس از کامل شدن رشد، نمونه‌ها در دمای ۴ °C نگهداری گردید.

تهیه محیط بذر قارچ برای نمونه‌های پلوروتوس و آگاریکوس

با توجه به این که کشت قارچ‌های خوراکی شامل پلوروتوس، آگاریکوس، فلامولینا و رسولا در داخل محیط بستر جامد نیاز به تلقیح محیط توسط بذر دارد، برای این نمونه‌ها بذر قارچی تهیه گردید. به این منظور ابتدا حدود ۳۰۰ gr گندم پاک شده حدود ۱h در آب ولرم خیسانده و سپس به مدت ۲۰ min جوشانده شد. پس از این مرحله آب

میزان پروتئین موجود در این ماده نشان داده‌اند که این ماده دارای حدود ۲۷٪ پروتئین است و آن را قابل مقایسه با دیگر ترکیبات صنعتی سویا دانسته‌اند (۱۲). یاماگوچی و همکاران^۱ (۱۹۹۶) نیز اوکارا را از نظر وجود ترکیبات فیبری، پلی‌ساکاریدی و پکتینی حائز اهمیت دانسته‌اند و این ماده را از نظر غذایی توصیه کرده‌اند (۱۳). جنتا و همکاران^۲ (۲۰۰۲) تولید نوعی شکلات توسط اوکارا همراه با بادام زمینی را آزمایش کردند و عنوان نمودند استفاده از اوکارا هم می‌تواند مصرف پروتئین‌های گیاهی در انسان را افزایش دهد و هم این که بازدهی کارخانجات تولید کننده فرآورده‌های سویا را افزایش دهد (۱۴). در ایران مصرف سویا عمدتاً در کارخانجات روغن‌کشی و تولید خوراک دام است و فعالیت‌های محدودی در زمینه وارد نمودن پروتئین‌های سویا در جیره غذایی انسان صورت پذیرفته است. اما در چند سال اخیر فعالیت‌هایی به منظور معرفی فرآورده‌های دیگر سویا به جامعه صورت پذیرفته است و هم‌اکنون دو یا سه کارخانه به منظور تولید شیر سویا فعالیت خود را آغاز نموده‌اند و به نظر می‌رسد به زودی فرآورده‌های دیگر سویا نیز به بازار عرضه گردد. در تحقیق انجام شده سعی شده است از اوکارا به جای سویا استفاده شده و با رشد قارچ‌های مختلف بر روی اوکارا محصولی تخمیری و تا حدی مشابه تمپه ایجاد گردد. سپس محصول تولید شده متناسب با ذائقه ایرانی فرموله شده و میزان پذیرش آن ارزیابی گردد. در واقع با رشد قارچ‌ها درصد پروتئین اوکارا بالا رفته و با طعم مناسب قارچی فرموله و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

مواد و روش

تهیه بستر اوکارا

به منظور تهیه اولیه بستر اوکارا ابتدا ۲۰۰ g سویا به مدت حدود ۴-۶h در آب ولرم خیسانده شد و سپس با

³Pleurotus sajor caju

⁴Pleurotus ostreatus

⁵ Pleurotus Citrinopileatus

⁶ Rhizopus oligosporus

⁷ Agaricus bisporus

⁸ Flammulina sp

⁹ Russula sp

¹ Yamaguchi et al

² Genta et al

بهینه‌سازی دمای رشد کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس

با توجه به این که در مرحله قبل ریزوپوس اولیگوسپوروس به عنوان بهترین سویه قارچی انتخاب گردید به منظور بهینه‌سازی رشد بیومس، میزان رشد این کپک در دماهای مختلف ارزیابی گردید.

به منظور بهینه‌سازی دمای رشد، ابتدا اوکارا با وزن ۳۰ gr در ظروف مناسب تقسیم شد و پس از استریل شدن در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۱۰ min، در شرایط استریل و در زیر هود بیولوژیک توسط اسپور این کپک که در محلول جداگانه‌ای با غلظت ۱۰^۷/ml اسپور تهیه شده بود تلقیح گردید و به هر ظرف ۱ ml از این محلول اضافه شد. سپس تمام ظروف در انکوباتور با دمای ۳۰، ۳۲، ۳۴ و ۳۶ °C، ۲۴، ۲۶، ۲۸ گرماگذاری شد و پس از حدود ۱۸ h تمامی نمونه‌ها از انکوباتور خارج شد و رشد آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های مطلوب نمونه‌هایی بودند که میسلیم سفید قارچ تمام بافت اوکارا را پوشش داده بود اما ایجاد اسپور نکرده بود.

تهیه فرمولاسیون مناسب غذایی از بستر قارچی انتخاب متغیرها

در این مرحله از فرمولاسیون، بستر قارچی به منظور ایجاد غذایی قابل مصرف مورد بهینه‌سازی قرار گرفت. بررسی‌های اولیه نشان داد اضافه کردن مقداری توفو یا پنیر سویا به بافت بستر کیفیت آن را افزایش می‌دهد. هم‌چنین بررسی‌ها نشان داد افزودن کمی شکر طعم نهایی بستر را بهبود می‌بخشد. به علاوه نمک، سیر، پیاز و ادویه ترکیبی نیز موادی هستند که عمدتاً در تولید محصولات غذایی به‌خوبی مصرف می‌گردند. هم‌چنین پودر سیب‌زمینی نیز چسبندگی بافت اوکارا را بهبود می‌بخشد. به همین دلیل متغیرهای پودر سیب‌زمینی، توفو، شکر، نمک، پیاز، سیر و ادویه ترکیبی جهت بهینه‌سازی بافت و طعم مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به بررسی‌های اولیه انجام شده، پودر سیب‌زمینی با

گندم گرفته‌شده و سطح آن توسط پارچه‌های مناسب خشک گردید و به آن ۲٪ کربنات کلسیم اضافه گردید تا به‌خوبی یکنواخت گردد و رطوبت اضافی سطح گندم جذب شود. در این مرحله گندم تهیه‌شده در داخل ارلن‌های یک لیتری تا حدود یک پنجم حجم ارلن تقسیم شد و به مدت ۱۵ min در اتوکلاو استریل گردید. پس از آن در شرایط استریل و در زیر هود بیولوژیک با مقداری از میسلیم حاصل از محیط‌های کشت شیبدار گونه‌های پلوروتوس ساجورکاجو، پلوروتوس استراتوس، پلوروتوس سیترونیویلاتوس و آگاریکوس بیسپوروس، فلامولینا و رسولا تلقیح گردید. سپس ارلن‌های تلقیح شده در انکوباتور در دمای ۲۸ °C به مدت ۷ شبانه روز گرماگذاری گردید تا رشد قارچ‌ها کامل شود.

استفاده از اوکارا در کشت قارچ‌های مختلف

پس از آماده شدن بذر، اوکارای به‌دست آمده در ظروف مناسب با وزن حدود ۳۰ gr در هر ظرف تقسیم شد و پس از استریل شدن با اتوکلاو در دمای ۱۲۱ °C برای مدت ۱۰ min، در شرایط استریل در زیر هود بیولوژیک با مقدار حدود ۳g بذر آماده قارچ‌های مختلف تلقیح گردید و در انکوباتور با دمای ۲۶ °C گرماگذاری شد تا رشد قارچ‌ها کامل شود. در مورد کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس، با توجه به رشد بسیار مناسب و تولید اسپور در محیط‌های کشت شیبدار، از اسپور قارچ برای تلقیح اوکارا استفاده شد. با توجه به این که گونه‌های قارچ‌ها با یکدیگر متفاوت بود، طبیعتاً رشد آن‌ها نیز بر روی اوکارا متفاوت خواهد بود. پس از بررسی روزانه نمونه‌ها و با تکمیل رشد هر نمونه، مراحل بعدی شامل آسیاب و نمک‌زنی برای آن انجام شده و به یخچال منتقل گردید و سپس از نظر بافت و طعم از طریق آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای مورد بررسی اولیه قرار گرفت. میزان رشد نمونه‌ها نیز به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت که با توجه به تنوع قارچ‌ها به خوبی اختلاف آن‌ها قابل تشخیص بود.

One Factor at the Time استفاده شد (جدول ۱).
براین اساس، ابتدا همه متغیرها در سطح میانی ثابت نگه داشته شد و فقط متغیر اول در مقادیر مختلف مورد بررسی قرار گرفت. پس از بهینه‌شدن متغیر اول مقدار بهینه متغیر اول انتخاب شده و متغیر دوم در مقادیر مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت و بقیه متغیرها در سطح میانی ثابت باقی ماند. این موضوع تا پایان آزمایش‌ها و به دست آمدن شرایط بهینه برای همه متغیرها به کار گرفته شد.

مقدار ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪، توفو با مقدار ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪، شکر با مقدار ۱٪، ۳٪ و ۵٪، نمک با مقدار ۲٪، ۳٪، ۴٪، پیاز با مقدار ۲۰٪، ۳۰٪ و ۴۰٪، سیر با مقدار ۴٪، ۵٪، ۶٪، ادویه ترکیبی (شامل پودر گشنیز خشک، زردچوبه، زیره سبز، فلفل سیاه و دارچین به نسبت مساوی) با مقدار ۲٪، ۲/۵٪ و ۳٪ و تخم مرغ با مقدار ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ جهت بهینه‌سازی انتخاب گردید (۱۵).

طراحی آزمایش‌ها

برای بهینه‌سازی شرایط طعم و بافت محصول به دست آمده از روش یک فاکتور در زمان

جدول (۱): متغیرهای مورد استفاده برای بهینه‌سازی و سطوح آن‌ها

نام متغیر	سطح متغیر (g/۱۰۰g محصول)		
پودر سیب‌زمینی	۵	۱۰	۲۰
توفو	۱۰	۲۰	۳۰
شکر	۱	۳	۵
نمک	۲	۳	۴
پیاز	۲۰	۳۰	۴۰
سیر	۴	۵	۶
ادویه	۲	۲/۵	۳
تخم مرغ	۱۰	۲۰	۳۰

برگر آماده طبخ گردید و برای مدت ۱۰ min در روغن سرخ شد و از نظر طعم و بافت با استفاده از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای طبق جدول (۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی توسط ۲۷ نفر ارزیاب با سن ۱۵ الی ۵۰ سال و بدون در نظر گرفتن جنس افراد صورت پذیرفت.

به منظور تهیه فرمولاسیون‌ها و انجام آزمایش‌ها، ابتدا اوکارای رشد یافته در شرایط بهینه طبق روش طراحی آزمایش (جدول ۱) با مقادیر مختلف متغیرها مخلوط شد. پس از اضافه نمودن همه مواد به اوکارا، مواد در داخل یک میکسر با سرعت بالا به خوبی یکنواخت گردید. سپس محصول به دست آمده به صورت قطعات یکسان و به شکل

جدول (۲): فرم هدونیک پنج نقطه‌ای به منظور ارزیابی طعم و بافت محصول نهایی

امتیاز					
متغیر ارزیابی	خیلی بد	بد	متوسط	خوب	خیلی خوب
طعم	۱	۲	۳	۴	۵
بافت	۱	۲	۳	۴	۵

زارع و همکاران

قرار داده شده و پس از این که وزن نمونه‌ها در چند ساعت متوالی ثابت باقی ماند توزین گردید.

تحلیل‌های آماری

طراحی آزمایش‌ها برای فرمولاسیون نهایی به روش یک فاکتور در زمان صورت پذیرفت. تمامی آزمایش‌ها به صورت سه تکرار صورت پذیرفت. برای ارزیابی محصول از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده گردید. تعداد ارزیاب‌ها ۲۷ نفر بودند. برای ارزیابی و مقایسه میزان پروتئین، رطوبت و میزان ازت در بافت اوکارا قبل و بعد از تخمیر، از روش تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون T غیرجفتی با فاصله اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. نرم‌افزار مورد استفاده مینی تب ۱۶ بود.

نتایج

بررسی نمونه‌های بذر تولید شده از قارچ‌ها

بررسی نمونه‌های بذر نشان داد نمونه‌های پلوروتوس بسیار سریع و حداکثر در عرض یک هفته تمام سطح محیط را سفید کرده و رشدشان کامل می‌شود. لازم به ذکر است بررسی رشد نمونه‌های بذر به عنوان یک مایه تلقیح اولیه نیاز به بررسی میزان پروتئین و یا ترکیبات دیگر ندارد و معمولاً در همه مقالات به صورت چشمی ارزیابی می‌گردد. در طول رشد بدلیل سرعت رشد بالا و پنجه‌دوانی متمرکز هر دو روز یکبار ارلن‌ها به شدت تکان داده می‌شد تا میسلیم‌ها از هم جدا شده و رشد کامل تری ایجاد نمایند. در هر صورت همه سویه‌های پلوروتوس پس از یک هفته رشدشان کامل شده و به یخچال منتقل شدند. سویه فلامولینا نیز رشد بسیار خوبی داشت و تقریباً مشابه سویه‌های پلوروتوس پس از یک هفته به یخچال منتقل شد. اما سویه آگاریکوس از رشد ضعیف تری برخوردار بود و پس از دو هفته رشد آن کامل شد. سویه روسولا نیز دارای رشد بسیار ضعیفی بود و به سختی تولید بذر آن محقق شد.

در نهایت تمامی امتیازات داده شده جمع شده و میانگین آن‌ها به عنوان میانگین آن آزمایش در نظر گرفته شد (۱۵).

اندازه‌گیری میزان ازت، پروتئین و درصد رطوبت بستر جامد اوکارا

بررسی‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری پروتئین اوکارا و استفاده از آن در رژیم غذایی انسان صورت گرفته است. در این بررسی میزان پروتئین اوکارا قبل و پس از کشت قارچ در شرایط بهینه با کپک ریزوپوس/اولیگوسپوروس، به روش لوری اندازه‌گیری شد و مورد مقایسه قرار گرفت. به منظور اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول ابتدا پروتئین‌های محلول با استفاده از روش ما و همکاران (۱۹۹۷) استخراج گردید و میزان آن با استفاده از روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد (۱۶، ۱۲). برای این کار ابتدا دو معرف A و B به صورت جداگانه به شرح زیر تهیه گردید.

معرف A: محلول ۱٪ CuSO_4 + ۰/۵ ml محلول ۱٪ سدیم پتاسیم تارتارات ۰/۵ ml + ۵۰ ml محلول قلیایی کربنات سدیم

معرف B: محلول تازه فولین سیوکالتو که با حجم مساوی آب مخلوط گردیده است.

سپس به ۱ ml از سوپرناتانت نمونه ۵ ml معرف A اضافه گردید و با ورتکس به خوبی مخلوط شد و به مدت ۱۰ min در حرارت آزمایشگاه قرار داده شد. پس از آن ۰/۵ ml معرف B به آن افزوده گردید و پس از مخلوط کردن به مدت ۳۰ min در حرارت آزمایشگاه و در تاریکی قرار گرفت. در پایان نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ nm در مقابل شاهد که نمونه آب مقطر همراه با موارد زیر است قرائت گردید و بر اساس منحنی استاندارد پروتئین که قبلاً رسم شده بود درصد پروتئین محلول محاسبه گردید.

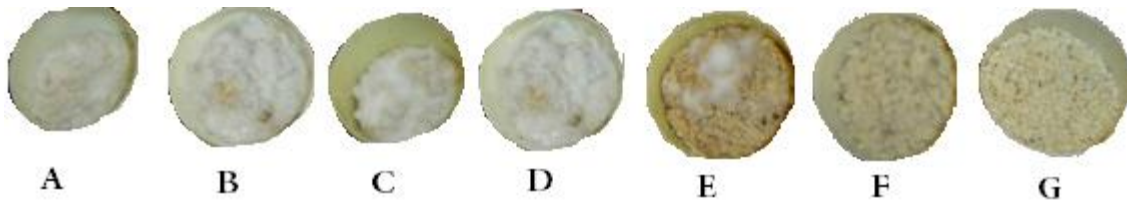
درصد رطوبت نمونه‌ها نیز با استفاده از روش (AOAC:1984) محاسبه گردید. به این منظور ابتدا مقدار ۱۰ gr از نمونه‌ها به مدت یک شبانه روز در دمای 100°C

داد گونه‌های پلوروتوس سیترونیلا توس و پلوروتوس استراتوس دارای طعم گس و نسبتاً تلخی هستند. بافت ایجاد شده پس از آسیاب نمودن نمونه‌ها نیز به رنگ قهوه‌ای تیره تبدیل شده بود. به نظر می‌رسد علت اصلی این امر قابلیت سلولازی بسیار بالای این قارچ‌ها است که کاملاً بافت سویا را تغییر داده و غیرقابل مصرف می‌کند. گونه پلوروتوس ساجورکاجو رنگ بستر را تغییر چندانی نداده بود اما طعم و مزه بستر تولید شده چندان قابل قبول نبوده و کمی حالت تلخی داشت. در مجموع بافت حاصل از کشت قارچ‌های پلوروتوس بر روی بستر اوکارا به گونه‌ای نبود که قابلیت تهیه ماده غذایی از آن‌ها وجود داشته باشد. لذا این قارچ‌ها برای انجام مراحل بعدی حذف گردیدند.

سویه ریزوپوس اولیگوسپوروس پس از ۴۸ h تمامی بستر را کامل کرده و تولید اسپور نمود، اما بدلیل این که معمولاً از مایه اسپوری این کپک برای کشت استفاده می‌شود در تلقیح اوکارا نیز از مایع اسپوری این کپک استفاده شد. در هر صورت پس از تکمیل رشد، همه قارچ‌ها در یخچال نگهداری شده و سپس به محیط اوکارا تلقیح گردید.

بررسی قارچ‌های کشت شده بر روی اوکارا و انتخاب سویه مناسب

تقریباً هر سه گونه پلوروتوس کشت داده شده بر روی اوکارا پس از حدود یک هفته، بستر را کاملاً سفید نمودند (شکل ۱A,B,C). بررسی‌های بعدی از نظر طعم و رنگ نشان



شکل (۱): کشت قارچ‌های مختلف بر روی بستر اوکارا. A: پلوروتوس سیترونیلا توس B: پلوروتوس استراتوس C: پلوروتوس ساجورکاجو D: آگاریکوس بیسپوروس E: گونه‌ای از فلامولینا F: ریزوپوس اولیگوسپوروس G: کنترل بدون کشت قارچ

چندان قابل قبولی نداشت و به همین دلیل مورد بررسی بیشتر قرار نگرفت (شکل ۱E).

بررسی کشت قارچ ریزوپوس اولیگوسپوروس نشان داد پس از حدود ۲۰h اوکارا کاملاً با میسلیم‌های قارچی سفید می‌گردد (عکس ۱F). به همین دلیل پس از حدود ۲۰h نمونه برداشته شد و پس از آسیاب و نمک زنی مورد ارزیابی قرار گرفته و در یخچال نگهداری شد. موضوع قابل توجه این بود که با کشت این قارچ تغییر چندانی در بافت اوکارا ایجاد نشده و طعم بستر ایجاد شده نیز قابل قبول بود و پس از نگهداری در یخچال نیز بافت آن تغییر چندانی نکرد. به این ترتیب قارچ ریزوپوس اولیگوسپوروس به منظور تولید بستر قارچی و انجام مراحل بعدی انتخاب شد (شکل ۲).

قارچ آگاریکوس بیسپوروس نیز دارای فعالیت سلولازی است اما نیاز به مواد بیشتری برای رشد داشته و کند رشد می‌باشد (شکل ۱D). کشت این قارچ پس از حدود دو هفته بستر را کاملاً سفید نمود اما پس از آسیاب و نمک‌زنی مشخص شد بستر تهیه شده هم‌چون نمونه‌های قبلی جهت مصرف غذایی چندان قابل قبول نیست.

نتایج کشت نمونه اوکارا با قارچ فلامولینا نشان داد سرعت رشد آن بر روی اوکارا تقریباً مشابه پلوروتوس ساجورکاجو است و البته از نظر کیفیت و طعم، بافت بستر تغییر یافته بود و قابل مصرف نبود.

کشت‌های روسولا بر روی بذر گندم چندان تند رشد و قوی نبود. بر روی اوکارا نیز علی‌رغم گذشت دو هفته رشد



شکل (۲): کشت قارچ ریزوپوس اولیگوسپوروس در شرایط بهینه بر روی بستر جامد اوکارا

بر روی نمونه‌ها باید به گونه‌ای باشد که از طرفی تمام بستر را مورد پوشش قرار داده‌باشد و از طرف دیگر رشد بیش از حد موجب تخریب بافت محصول و یا تولید اسپور نشده‌باشد. لذا ارزیابی رشد نمونه‌ها براساس پوشش کامل کپک بر روی سطح بستر انجام پذیرفت. به صورتیکه رشد کپک بر روی محصول کامل شده‌باشد اما به مرحله تولید اسپور و سیاه شدن اوکارا نرسیده باشد. همان‌گونه که ذکر شد بهینه‌سازی رشد کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس در دامنه دمایی بین $24-36^{\circ}\text{C}$ بررسی شد. رشد ریزوپوس اولیگوسپوروس به صورت ظاهری در دمای 28°C و 26°C ، ۲۴ به قدری ضعیف بود که پس از ۲۴ h میسلیم‌های بسیار ضعیفی در بستر تشکیل شده‌بود. اما در دمای 30°C رشد کپک حالت قابل توجهی به خود گرفته بود و در دمای 36°C و 34°C ، ۳۲ رشد کپک به حداکثر مقدار خود رسید. با توجه به این‌که در دمای 36°C و 34°C شدت اسپورزایی کپک افزایش یافته و کپک بسیار سریع به فاز تولید اسپور می‌رفت و موجب سیاه شدن بستر می‌گردید، دمای 32°C به منظور کشت نمونه‌های اوکارا انتخاب شد.

بررسی نتایج بهینه‌سازی فرمولاسیون مناسب غذایی از بستر قارچی

در بررسی اول میزان پودر سیب‌زمینی که یک ترکیب به منظور ایجاد بافت مناسب است مورد آزمایش قرار گرفت

بررسی میزان ازت و پروتئین اوکارا

میزان ازت و پروتئین اوکارا در بسیاری از بررسی‌ها و گزارش‌ها نشان‌دهنده درصد غذایی مناسب این ماده است. نتایج این بررسی نشان‌داد میزان ازت اوکارا قبل از کشت $41/4 \pm 0/4$ است و میزان پروتئین آن نسبت به وزن خشک $27/5 \pm 3/2$ و پس از کشت توسط کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس میزان پروتئین آن با روش لوری $37/8 \pm 2/3$ نسبت به وزن خشک نمونه می‌گردد و به خوبی افزایش درصد پروتئین در این بررسی مشهود است. میزان ازت کل نیز نسبت به وزن خشک ($51/5 \pm 0/5$) است که افزایش نسبی نسبت به نمونه قبل از کشت نشان می‌دهد. میزان رطوبت اوکارا نیز با خشک نمودن نمونه‌های اوکارا در دمای 100°C به مدت یک شبانه روز محاسبه گردید و نشان‌داد میزان رطوبت اوکارای خام در حدود $67/3 \pm 3/9$ می‌باشد که نشان می‌دهد بستر نسبتاً مرطوبی جهت کشت قارچ‌ها است. پس از تخمیر بستر نیز میزان رطوبت آن محاسبه گردید که در حدود $73/7 \pm 3/7$ بود و کمی نسبت به اوکارای خام افزایش نشان می‌دهد.

بهینه‌سازی دمای رشد کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس

با توجه به این‌که محصول مناسب پس از رشد کپک به‌عنوان یک ماده غذایی به کار می‌رود، ارزیابی رشد کپک

و متغیرهای دیگر در سطوح میانی ثابت نگه داشته شد. همین روش برای بهینه‌سازی متغیرهای دیگر به کار گرفته شد.

نتایج به دست آمده در جدول (۳) نشان داده شده است.

جدول (۳): امتیاز کسب شده برای مقادیر مختلف پودر سیب زمینی، توفو، شکر، نمک، پیاز، ادویه ترکیبی و تخم مرغ در ارزیابی حسی

سیب زمینی			
٪۳۵	٪۳۰	٪۲۵	درصد ماده
۲/۵±۰/۲۷	۲±۰/۳۱	۳/۵±۰/۱۹	امتیاز بافت
۱/۷۵±۰/۲۱	۲±۰/۲۸	۳±۰/۲۱	امتیاز طعم
توفو			
٪۲۵	٪۲۰	٪۱۵	درصد ماده
۲/۸۳±۰/۲	۳/۱±۰/۱	۲/۸±۰/۱۸	امتیاز بافت
۲±۰/۰۸	۲/۴۵±۰/۱۱	۲±۰/۲۳	امتیاز طعم
شکر			
٪۴	٪۳/۵	٪۳	درصد ماده
۳/۳۷±۰/۱۲	۳±۰/۲۳	۳/۱±۰/۱	امتیاز بافت
۳/۵±۰/۱۴	۳±۰/۲۷	۲/۱±۰/۲۳	امتیاز طعم
نمک			
۲/۵	۲	۱/۵	درصد ماده
۴±۰/۱	۴±۰/۲۹	۴/۱±۰/۲۲	امتیاز بافت
۲/۵±۰/۲۵	۳/۱±۰/۳۳	۲/۳±۰/۳۱	امتیاز طعم
پیاز			
٪۴۵	٪۳۵	٪۲۵	درصد ماده
۳±۰/۵۱	۴/۳±۰/۳۴	۳/۱±۰/۲۹	امتیاز بافت
۱/۴۶±۰/۴۸	۲/۵±۰/۴۱	۱/۸±۰/۳۷	امتیاز طعم
سیر			
٪۴/۵	٪۴	٪۳/۵	درصد ماده
۳/۳۳±۰/۴۸	۳/۵۸±۰/۵۳	۳/۵۸±۰/۶۹	امتیاز بافت
۲/۵±۰/۳۴	۲/۶۶±۰/۴۱	۳/۱۶±۰/۳۹	امتیاز طعم
ادویه ترکیبی			
٪۲/۵	٪۲	٪۱/۵	درصد ماده
۳/۷۵±۰/۵۵	۳/۸±۰/۲۶	۴±۰/۴۱	امتیاز بافت
۲/۳۳±۰/۳۸	۳/۲۵±۰/۴۷	۳/۵۸±۰/۵۱	امتیاز طعم

زارع و همکاران

تخم مرغ			درصد ماده
۳۰ گرم در صد	۲۰ گرم در صد	۱۰ گرم در صد	
۴/۴±۰/۵۱	۴/۴±۰/۷۹	۴/۴±۰/۳۹	امتیاز بافت
۳/۱±۰/۴۱	۳/۴±۰/۳۹	۲/۸±۰/۲	امتیاز طعم

میزان ازت و پروتئین در نمونه بهینه شده

مقدار ازت و پروتئین در بستر قارچی پس از فرمولاسیون نهایی در جدول (۴) نشان داده شده است. همان گونه که ملاحظه می گردد پس از اضافه کردن ترکیبات مختلف و فرمولاسیون نهایی محصول به دست آمده دارای حدود ۴۰٪ پروتئین است که این مقدار بسیار قابل

توجه و مناسب است و نشان دهنده کیفیت بالای غذایی این محصول گیاهی است. به ویژه این که پروتئین های این محصول تحت تاثیر کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس به پروتئین محلول و کاملاً قابل جذب همراه با مقدار بالایی ویتامین های گروه B تبدیل شده است.

جدول (۴): مقدار ازت و پروتئین در نمونه بهینه پس از فرمولاسیون نهایی

مقدار پروتئین (%)	مقدار ازت (%)	نمونه بهینه
۴۰/۶±۳/۷	۶/۵±۰/۷	

بحث و نتیجه گیری

اوکارا محصولی است که پس از تولید شیر سویا به صورت جامد از سویا باقی می ماند. این ماده دارای مقدار قابل توجهی پروتئین، فیبر و مواد معدنی است. اما به دلیل مقدار بالای رطوبت به راحتی قابل انبارداری و نگهداری نیست. پژوهش های متعددی به منظور استفاده از اوکارا در محصولات غذایی صورت پذیرفته است. اما به هر حال تخمیر اوکارا با استفاده از قارچ های خوراکی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از طرف دیگر کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس کپکی است که بر روی سویا کشت شده و به عنوان یک غذای تخمیری سنتی در بسیاری از نقاط جهان مورد استفاده قرار می گیرد. محصول تولید شده که تمپه نام دارد از محبوبیت بالایی به عنوان یک محصول غذایی پروتئینی برخوردار است. اما بررسی های انجام شده عمدتاً بر روی دانه کامل سویا صورت پذیرفته است. در این پژوهش علاوه بر کپک ریزوپوس اولیگوسپوروس از قارچ های دیگری نیز برای تخمیر اوکارا استفاده شد. هدف

از استفاده از قارچ های دیگری نظیر پلوروتوس و آگاریکوس که عمدتاً به منظور تولید کلاهیک استفاده می شوند این بود که طعم کلاهیک این قارچ ها بسیار مطبوع و قوی است، به همین منظور سعی شد از میسلیم آن ها برای تولید بستر قارچی اوکارا استفاده شود. به طور کلی قارچ های پلوروتوس سلولوتیک هستند و بر روی بسترهای سلولزی به خوبی رشد نموده و ایجاد کلاهیک می کنند و با توجه به ماهیت اوکارا که پروتئین های آن با تولید توفو حذف گردیده است و ترکیبات فیبری و کربوهیدراتی آن باقی مانده است، انتظار رشد مناسبی از گونه های پلوروتوس بر روی اوکارا می رفت. اما نتایج نشان داد این قارچ ها بدلیل تولید آنزیم های سلولوتیک و ترکیبات دیگر باعث می گردند تا بستر کاملاً تجزیه و نامطبوع گردد. در هر حال هیچ گونه گزارشی در مورد استفاده از میسلیم های قارچ های خوراکی برای تولید محصولات غذایی وجود ندارد. بررسی های انجام شده نیز نشان داد میسلیم این قارچ ها به شدت موجب تخریب بستر و ایجاد طعم نامناسب

است که وجود حداقل بعضی از این موارد در ایجاد بافت ضروری است و در صورت اضافه‌نشدن به محصول، بافت مناسبی جهت پخت ایجاد نمی‌گردد. پس از انتخاب متغیر اول در سطح یک، متغیر دوم که مقدار توفو می‌باشد مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان‌داد اختلاف قابل قبولی در سطح دوم نسبت به سطوح یک و سه دیده می‌شود. به همین دلیل سطح دوم یا ۲۰٪ توفو به‌عنوان شرایط بهینه انتخاب شد. بررسی ظاهری نمونه نشان‌داد افزودن توفو به بستر باعث ایجاد یک بافت نرم و قابل قبول در نمونه می‌گردید. اما افزایش بیش از حد آن، بافت را تا حدی از حالت سفت و شکل نزدیک به گوشت خارج نموده و به شکل خمیری نزدیک می‌نمود که در هنگام افزودن ۲۵٪ توفو به بستر این موضوع کاملاً مشهود بود.

پس از انتخاب شرایط بهینه توفو، آزمایش بعدی به منظور بهینه‌سازی شکر انجام پذیرفت. همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد امتیاز کسب شده در سطح سوم نسبت به دو سطح دیگر بیشتر است. علت اصلی این امر اثر شیرین‌سازی شکر و قدرت آنتی‌اکسیدانی ضعیف آن است. با توجه به امتیاز کسب شده در نمونه از نظر طعم، سطح سوم انتخاب شده و متغیرهای بعدی که شامل نمک، پیاز، سیر، ادویه و تخم مرغ بود مورد ارزیابی قرار گرفت. به همین ترتیب اثر متغیرهای دیگر به ترتیب نمک در سطح دوم، پیاز در سطح دوم، سیر در سطح اول، ادویه در سطح اول و تخم مرغ در سطح دوم انتخاب گردید. بر این اساس شرایط بهینه تولید محصول غذایی از بستر تخمیر شده اوکارا به شکل زیر بود.

پودر سیب‌زمینی ۲۵٪، توفو ۲۰٪، شکر ۴٪، نمک ۲٪، پیاز ۳۵٪، سیر ۳/۵٪، ادویه ۱/۵٪ و تخم مرغ ۲۰ gr. مخلوط این ترکیبات همراه با بستر تخمیر شده اوکارا تبدیل به نوعی کنتلت یا برگ گیاهی می‌گردد که علاوه بر وجود فیبر بالا و پروتئین‌های مناسب، حاوی ویتامین‌های گروه B و دیگر ترکیبات نیز می‌باشد.

می‌گردد. درحالی‌که کشت کپک ریزوپوس/اولیگوسپوروس نشان‌داد بستر به صورت کاملاً سالم و بدون ایجاد هرگونه طعم نامناسب باقی می‌ماند. لذا کپک ریزوپوس/اولیگوسپوروس برای ادامه تحقیق انتخاب گردید.

ارزیابی مقدار ازت بستر در نمونه‌های تخمیر شده و بدون تخمیر نیز نشان می‌دهد بیشتر از این که میزان ازت کل دستخوش تغییر گردد میزان پروتئین‌های بستر پس از کشت کپک دستخوش تغییر و افزایش می‌گردد (جدول ۴). این نتیجه با نتایج کار ما و همکاران (۱۹۹۷) همخوانی دارد (۱۲). به نظر می‌رسد رشد کپک بر روی بستر اوکارا می‌تواند با افزایش میزان پروتئین بستر موجب غنی شدن آن گردد. ارزیابی رطوبت نیز نشان‌داد مقدار رطوبت در محصول تخمیر شده بیشتر از اوکارای بدون تخمیر است. با توجه به این که تلقیح توسط سوسپانسیون اسپوری انجام می‌شد به نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش رطوبت می‌تواند تلقیح مایع اسپوری به اوکارا باشد.

بهینه‌سازی دما برای این کپک نشان‌داد بهترین شرایط رشد دمای بالای 30°C می‌باشد. گزارشات مختلف عمدتاً دمای 37°C تا 30°C را برای رشد این کپک پیشنهاد کرده‌اند و در برخی موارد نیز دمای اتاق پیشنهاد شده است (۱۷، ۱۲). این موضوع نشان می‌دهد دمای بهینه رشد این کپک دامنه نسبتاً وسیعی دارد. در هر صورت با توجه به تولید اسپور در دمای بهینه رشد، برای مراحل بعدی دمای 32°C انتخاب شد. پس از بهینه‌سازی دما فرمولاسیون ترکیبات مختلف بر روی بستر تخمیر شده با هدف تولید یک برگ گیاهی صورت پذیرفت و مقادیر مختلف ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون بهینه‌سازی شد (جدول ۳). همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد در بررسی مقادیر مختلف پودر سیب‌زمینی بیشترین امتیاز به مقدار ۲۵٪ پودر سیب‌زمینی داده شده است. به همین دلیل مقدار بهینه این ماده در سطح یک انتخاب شد. لازم به ذکر است علت این که مقادیر صفر برای متغیر بالا یا دیگر متغیرها در نظر گرفته نشده است این

Peptides from Soy Hydrolysate and Soy-Fermented Food. International Journal food research. 2004; 37(2), 123-131.

8- Ha BZ, Rombouts FM, Nout MJ. Chinese Fermented Soy Bean Food. International Journal of Food Microbiology 2001; 65(1-2), 1-10.

9- Hessles PE, Larsen PE, Constantinou AI, Schram KH, Weber JM. Isolation of Isoflavones from Soy Based Fermentation of the Erythromycin - Producing Bacterium *Saccharopolyspora erythraea*. Journal of applied microbiology and biotechnology 1997; 47(4), 398-404.

10- Patrica A, Kubita B, Hauck CC. Solvent Extraction Selection in the Determination of Isoflavones in Soy Foods. Journal of Chromatography B 2002; 777(1-2), 129-138.

11- Keuth S, Bisping B. Formation of Vitamins by Pure Cultures of Tempe Moulds and Bacteria During the Tempe Solid Substrate Fermentation. Journal of Applied Bacteriology 1993; 75(5), 427-434.

12- Ma CY, Liu SW, Kwok K.C, Kwork F. Isolation and Characterisation of Proteins from Soy Milk Residue (Okara). International journal of food research 1997; 29(8), 799-805.

13- Yamaguchi F, Ota Y, Hatanka C. Extraction and Purification of Pectic Polysaccharides from Soybean Okara and Enzymatic Analysis of Their Structures. Carbohydrate Polymers 1996; 30(4), 265-273.

14- Genta HD, Genta ML, Alvarez NV, Santana MS. Production and Acceptance of a Soy Candy. Journal of Food Engineering 2002; 53(2), 199-202.

۱۵- لامع، ح. راهنمای استفاده از افزودنی های مواد غذایی. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. ۱۳۷۹ (۲): ۱۰۱-۱۰۵

16- Mullin WJ, Fregeau-Reid JA., Bulter M, Woodrow L, Jessop DB, Raymond D. An Intra Laboratory Test of a Procedure of Assess Soybean Quality for Soymilk and Tofu Production. International journal food research; 2001; 34(8), 669-677.

17- Aoki H, Uda I, Tagami K., Furuga, Y, Endo Y. The Production of a New Tempeh-Like Fermented Soybean Containing a High Level of Aminobutyric Acid by Anaerobic Incubation with *Rhizopus*. Journal of bioscience, biotechnology and biochemistry 2003; 67(5), 1018-1023

با توجه به این که تاکنون هیچ گونه گزارشی در زمینه تولید چنین محصولی در دنیا وجود ندارد و این کار به نوبه خود کاملاً منحصر به فرد است، تولید این محصول می تواند باعث استفاده از ضایعات اوکارا گردد که هم اکنون با قیمت بسیار ارزان به عنوان یک ماده فرعی از کارخانجات تولیدکننده شیر سویا در اختیار می باشد. محصول تولید شده یک ترکیب غنی و مفید از نظر غذایی می باشد که می تواند به خوبی در رژیم غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

قدردانی

بدینوسیله از سازمان گسترش و نوسازی صنایع ایران که هزینه انجام این پژوهش را تامین نموده اند کمال تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

۱- لطیفی ن. موارد استفاده و اقتصادی سویا در زراعت سویا. انتشارات جهاد دانشگاهی. مشهد. ۱۳۷۲ (۸): ۲۹-۸.

۲- عبدالواحد، ب. ۱۳۶۹. درباره سویا. مجله سنبله ۶(۱۸): ۵۷-۵۶.

۳- رنجبرغ، کریمی م، خواجه پور م. اثر فاصله ردیف و تراکم بوته بر عملکرد و اجزاء عملکرد دانه دو رقم سویا، مجله علوم کشاورزی ایران، ۱۳۶۷ (۱۹): ۱۳-۲۴.

4- Gavin M, Wettstein A. Soymilk and Other Soy Products. Buhler Ltd. Uzwil, Switzerland. 1990; 12(18): 88-183

۵- شمس کک. ترکیبات شیمیایی دانه سویا. مجله سنبله. ۱۳۷۷ (۱۲): ۴۵-۵۲.

۶- کوشا ه. ویژگی های تغذیه ای و مراحل تولید شیر سویا. مجله روغن نباتی. ۱۳۸۳ (۸): ۳۳-۳۰.

7- Gibbs FB, Zoymman A, Masse R, Mulligan C. Production and Characterization of Bioactive

Optimization of okara fermentation and production of burger from fermented okara

Davood Zare¹, Tahmineh Taghizadeh²

1-Bioenergy and Bioconversion Group, Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran (correspond author)*

2-Persian Type Culture Collection, Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

Received: 1394/11/23

Accepted: 1395/01/30

Abstract

Fermented foods have abundant benefits. One of the most popular fermented foods is fermented soy or tempe which is fermentation of soybean by *Rhizopus oligosporus*. On the other hand, okara or soy bean cured residue is solid waste after production of soy milk with capability to use for fermentation. At present study, the growth of different edible mushrooms was evaluated on okara and temperature was optimized for growth of selected fungus. Results indicated that among different species of *Pleurotus*, *Agaricus*, *Flammulina*, *Rasgulla* and *Rhizopus*, the best strain for production of a suitable fermented food was *Rhizopus oligosporus*. Temperature was optimized for growth of *Rhizopus oligosporus* on okara and result indicated that the optimum temperature was 32 °C. Finally, fermented okara was formulated by some ingredients to produce a novel fermented food. Results showed that the best formulation for production of a suitable burger by fermented okara includes potato powder (25%), tofu (20%), sugar (4%), salt (2%), garlic (3.5%), spices (1/5%) and egg (20%). The amount of protein on formulated food was 40.6% which is valuable amount on human nutrition.

Keywords: Soy, Okara, Fermented Food, *Rhizopus oligosporus*.

* davoodz@yahoo.com