مروری بر تولید طعم‌دهنده‌های مواد غذایی توسط روش‌های بیوتکنولوژیکی

اسما بساطی[a]، مینا خان بگی دوگاهه[a]، مریم قراچورلو[b] *

[a] دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۲۰
DOI: 10.30495/JFTN.2023.75309.11279

چکیده

مقدمه: عطرو طعم یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های غذا است که مستقیماً با پذیرش محصول توسط مصرف‌کنندگان ارتباط دارد. روند رو به افزایش مصرف ترکیبات طعم‌دهنده غذا باعث ایجاد انگیزه در تولید طعم‌های غذایی شده بطوریکه تقاضای جهانی برای طعم و عطر طبیعی به‌طور مداوم در حال افزایش است. گیاهان و میکروارگانیسم‌ها منابع اصلی ترکیبات ایجاد کننده طعم و عطر مانند ترپنوئیدها، آلدئیدها، متیل کتون ها هستند اما به دلیل تولید در غلظت‌های کمتر، جداسازی و استخراج چنین مواد شیمیایی با ارزش افزوده هزینه‌بر است. لذا تولید بیوتکنولوژیکی ترکیبات طعم دهنده مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در دهه گذشته تحقیقات گسترده ای در زمینه تولید بیوتکنولوژیکی ترکیبات طعم دهنده انجام شده است. در این مطالعه سعی شده است تا سه روش بیوتکنولوژیکی اصلی شامل استفاده از آنزیم‌ها، استفاده از میکروارگانیسم‌ها و بافت گیاهی و کشت سلولی مورد بحث قرار گیرند.

یافته‌ها: تکنیک‌های مرسوم تولید ترکیبات طعم‌دهنده با توجه به تقاضای صعودی بازار از نظر کمیت و تنوع کافی نیست. روش‌های تولید طعم فعلی از سنتز شیمیایی استفاده می‌کنند که می‌تواند تعداد بیشتری طعم را با زمان کمتر تولید کند. بااین‌حال، تقاضا برای محصولات طبیعی در مواد مصرفی، نیاز به روش‌های جدید برای تولید ترکیبات طعم‌دهنده با برچسب منشأ طبیعی را ایجاد کرده است. تولید بیوتکنولوژیکی جایگزین جذابی برای تولید طعم است، زیرا در شرایط ملایم رخ می‌دهد، انتخاب‌پذیری بالایی دارد، ضایعات سمی تولید نمی‌کند و محصولاتی تولید می‌کند که می توانند به‌عنوان «طبیعی» برچسب‌گذاری شوند. ترکیبات طعم دهنده طبیعی که توسط فرآیندهای بیوتکنولوژیکی به دست می آیند به دلیل افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای افزودنی های غذایی طبیعی، نقش فزاینده ای در صنایع غذایی، آرایشی، شیمیایی و دارویی ایفا می کنند.

نتیجه‌گیری: تکنیک‌های نوظهور در بیوتکنولوژی، صنایع را قادر به تولید ترکیباتی کرده است که می‌تواند طبیعی در نظر گرفته شود. شکی نیست که این فناوری ها به سبب مزایای زیاد، در آینده به عوامل مهم‌تری در تولید طعم‌دهنده تبدیل خواهند شد.

واژه‌های کلیدی: *آنزیم، بیوتکنولوژی، تخمیر، طعم، کشت بافت، میکروارگانیسم*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: m_gharachorlo@srbiau.ac.ir

مقدمه

عطروطعم[1] به‌عنوان یک پارامتر کلیدی مرتبط با پذیرش غذا در نظر گرفته شده است و سهم مهمی را در بازار افزودنی‌های غذایی به خود اختصاص می‌دهد. انتظار می‌رود بازار طعم غذا از ۱۳/۳۱ به ۱۹/۷۲ میلیارد دلار بین سال‌های ۲۰۲۰ و ۲۰۲۶ افزایش یابد که درنتیجه نرخ رشد سالانه ۵ درصد برای این دوره تخمین زده می‌شود و برآورد می‌شود که این پیشرفت با تولید طعم‌دهنده‌های طبیعی، که در حال حاضر ۴۰ درصد از بازار طعم را شامل می‌شوند، همراه باشد. در این راستا، تولید بیوتکنولوژیک طعم‌دهنده‌ها به‌عنوان یک جایگزین امیدوارکننده به دلایلی که در ادامه بحث می‌شود، مطرح می‌شود (Spence, 2020).

طعم‌دهنده و ترکیبات عطروطعمی حاصل از فرآیند زیستی به‌صورت طبیعی و ارگانیک برچسب‌گذاری می‌شوند (به‌عنوان مثال طبق مقررات اتحادیه اروپا (EC) شماره ۲۰۰۸/۱۳۳۴ و مقررات فدرال ایالات متحده ۲۱ / (FDA) 6). علاوه بر این، تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که برخی از ترکیبات عطر و طعمی ممکن است فعالیت‌های بیولوژیکی (خواص ضد میکروبی، ضدویروسی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی) داشته باشند که منجر به کاربردهایی می‌شود که فراتر از استفاده کلاسیک آن‌ها به‌عنوان افزودنی غذایی است (Gotow *et al*., 2018). ثانیاً، تولید بیوتکنولوژیکی ترکیبات عطروطعمی یک رویکرد سازگار با محیط‌زیست در نظر گرفته می‌شود، زیرا فرآیندهایی زیستی هستند، در تولید آنها از کاتالیزورهایی که احتمال سمیت‌زایی دارند، استفاده نمی‌شود. و مسائل کمتری در مورد مدیریت ضایعات دارند. علاوه بر این، در تولید این فرآیندهای زیستی ممکن است از پسماندهای کشاورزی به‌عنوان مواد خام جایگزین استفاده شود که از نظر پایداری اکولوژیکی و اقتصادی سودمند است. ضایعات لیگنوسلولز نمونه‌های خوبی از نحوه استفاده از این بسترها برای تولید بیوآروما هستند، مانند الکل‌ها، آلدئیدها، استرها، اسیدهای چرب، کتون‌ها، لاکتون‌ها، پیرازین‌ها و ترپن‌ها (Kaur *et al*., 2020). علاوه بر این، با تولید طعم‌دهنده‌ها توسط تخمیرهای صنعتی نگرانی‌های مربوط به استخراج وجود ندارد. با توجه به غلظت کم ترکیبات عطروطعمی موجود در گیاهان، معمولاً برای تولید محصول موردنظر به مقدار زیادی مواد اولیه نیاز است. به‌عنوان‌مثال، تولید ۱ کیلوگرم اسانس وانیل به ۵۰۰ کیلوگرم غلاف گیاه وانیل[2] نیاز دارد ، درحالی‌که ۱۶۰۰۰۰ پرتقال برای به دست آوردن ۱ لیتر والنسن[3] و حدود ۲۰۰ کیلوگرم برگ نعناع هندی[4] یا ۷ میلیون گل برای تولید یک کیلوگرم به ترتیب اسانس نعناع هندی یا عطر یاس نیاز است (de Oliveira Felipe *et al*., 2017; Paulino *et al*., 2021). در نهایت، تولید طعم‌دهنده مبتنی بر بیوتکنولوژی یک فرآیند به‌خوبی کنترل شده است. طعم‌های به‌دست‌آمده از استخراج مواد طبیعی به دلیل فصلی بودن همواره در دسترس نیستند و ویژگی‌های حسی و قیمت آن‌ها دچار نوسان هستند. بیوتکنولوژی، به نوبه خود، یک منبع تقریباً غیرقابل خاموش شدن از ترکیبات را ارائه می‌دهد که ممکن است (حداقل از نظر تئوری) بدون وقفه تولید شود. بنابراین، تولید طعم مبتنی بر بیوتکنولوژی به‌عنوان یک استراتژی همسو با سه رکن پایداری، یعنی ویژگی‌های زیست‌محیطی، اقتصادی و اجتماعی در نظر گرفته شده است (de Oliveira Felipe *et al*., 2019).

در فرآیندهای بیولوژیکی، سلول‌ها و آنزیم‌ها عناصر کلیدی هستند. همانطور که در شکل ۱ مشخص شده است، بیوتکنولوژی شامل تبدیل زیستی و تولید نوپدید[5] است. در زمینه تکنیک‌های فرآیند زیستی، کنترل فرآیند برای تولید بهینه و عملیات پایین‌دستی برای دستیابی به تولید مقرون‌به‌صرفه موردنیاز است. بنابراین، در این مقاله پیشرفت‌های بیوتکنولوژیکی اصلی اخیر در تولید آنزیمی و میکروبی و سلولی طعم‌دهنده‌ها و ترکیبات عطروطعمی ارائه می‌شود.

طبقه‌بندی ترکیبات طعم‌دهنده

عطروطعم در ترکیبات غذایی عمدتاً به دلیل وجود ترکیبات آروماتیک در آن ایجاد می‌شود و توسط گیرنده‌های حسی انسان در بینی حس می‌شود.هر یک از ترکیبات عطروطعمی دارای خصوصیات و خواص متفاوتی است. ترکیبات آروماتیک به مقدار کم در غذاها وجود دارند. آن‌ها عمدتاً ترکیبات با وزن مولکولی کم هستند که بسیار فرار هستند. این ترکیبات آروماتیک را می‌توان بر اساس گروه های عاملی موجود در آن‌ها به لاکتون،

[1] Flavor [2] Vanilla orchid [3] Valencene [4] Patchouli [5] De novo synthesis

پیرازین، استر، ترپن، کتون، آلدئید، الکل و اسید چرب طبقه‌بندی کرد. چند نمونه از هر گروه از ترکیبات آروماتیک در جدول ۱ فهرست شده است (de Oliveira Felipe *et al*., 2019).

- لاکتون‌ها

لاکتون ها استرهای کربوکسیلیک حلقوی اسیدهای γ- و δ-هیدروکسی هستند. این مولکول‌ها ابتدا به‌عنوان مشتقات اسید لاکتیک توصیف شدند. عطر آن‌ها به‌صورت طعم‌های نارگیلی، شیرین، خامه‌ای، میوه‌ای و آجیلی بیان می‌شود. لاکتون‌ها به طور طبیعی در سبزیجات تازه مانند کرفس، زردآلو، آلو، تمشک، گوجه فرنگی، بادام بو داده و غیره وجود دارند. روش‌های بیوتکنولوژیکی برای سنتز لاکتون در دهه ۱۹۶۰ با استفاده از فرآیندهای تخمیر میکروبی با چندین گونه از میکروب‌ها کشف شد که می‌توانند انواع لاکتون‌ها را تولید کنند (Longo and Sanromán, 2006).

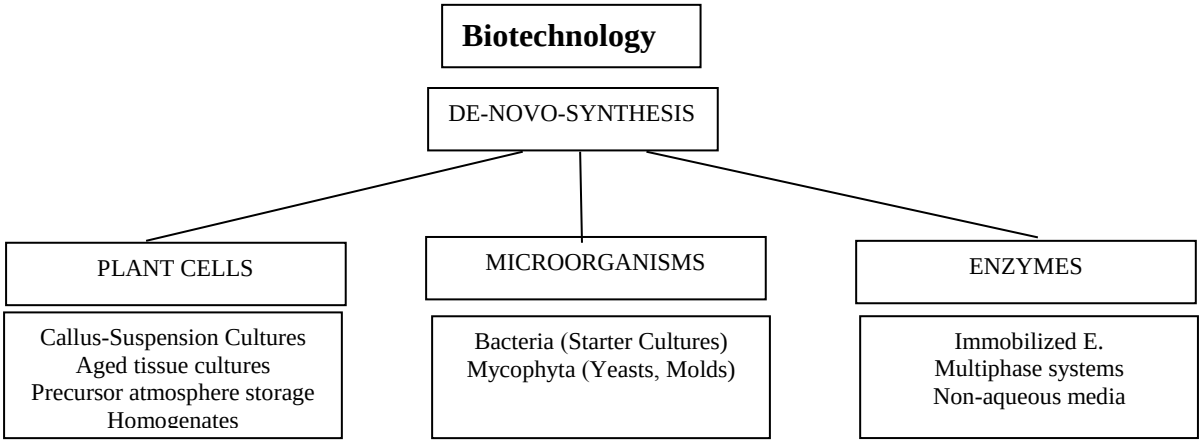
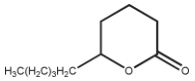
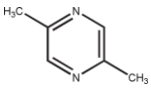
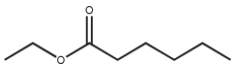
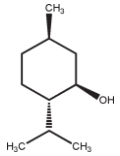
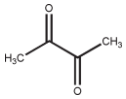
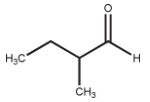
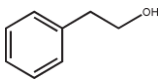
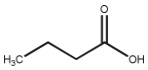


Figure 1- Types of flavor production biotechnology methods

شکل ۱- انواع روش‌های بیوتکنولوژی تولید طعم

جدول ۱- طبقه بندی ترکیبات طعم‌دهنده

Table 1-Classification of flavoring compounds

Class	Example	Structure	Taste	Ref
Lactones	δ-decalactone		Fruity	(Dastager, 2009)
Pyrazines	2,5-dimethyl pyrazine		Nutty	(Sharma, Sharma, Singh, Singh, & Nain, 2020)
Esters	Ethyl hexanoate		Aniseed	(Sharma *et al*., 2020)
Terpenes	Menthol		Minty flavour	(Caputi & Aprea, 2011)
Ketones	Diacetyl		Butter flavour	(Dastager, 2009)
Aldehydes	2-methylbutanal		Chocolate like flavour	(B. A. Smit, Engels, & Smit, 2009)
Alcohols	Phenyl ethyl alcohol		Rose	(Issa-Issa *et al*., 2019)
Fatty acids	Butyric acid		Butter flavour	(G. Smit, Smit, & Engels, 2005)

- پیرازین‌ها

پیرازین ها ترکیبات آروماتیک هتروسیکلیک هستند که اتم‌های نیتروژن در حلقه آروماتیک قرار دارند. طعم آجیل یا آجیل بو داده را فراهم می‌کند. به طور طبیعی، آن‌ها توسط واکنش مایلارد در طی پخت و پز معمولی یا برشته کردن غذاها تشکیل می‌شوند. یکی از مشتقات پیرازین، ۲،۵- دی متیل پیرازین در مرغ کبابی شناسایی شد که مسئول عطر آجیلی و برشته شده در مرغ کبابی بود، مخصوصاً در جاهایی که کارامل شدن وجود دارد. برخی از گروه‌های باکتری مانند *باسیلوس سوبتیلیس* و *کورینه باکتریوم گلوتامیکوم* نیز می‌توانند ترکیبات پیرازین را طی تخمیر تولید کنند (Ngamchuachit *et al*., 2020).

- استرها

در طبیعت، بسیاری از انواع رایحه ها معمولاً به‌عنوان ترکیبات استری شناخته می‌شوند که از واکنش بین اسیدهای کربوکسیلیک و الکل‌ها ایجاد می‌شوند. استرها به طور کلی بوی میوه را ایجاد می‌کنند. ترکیبات استر در بسیاری از محصولات به ویژه غذاها و نوشیدنی ها از جمله آب نبات، ژله، مربا، ماست، شیر، نوشابه، پنیر و غیره اضافه می‌شود. نشان داده شده است که سویه‌های مختلف باکتری اسید لاکتیک مانند *Lactococcus lactis*، sacharomyces *Pichia anomala*، قادر به سنتز اتیل استرها و تیواسترها هستند، (Kruis *et al*., 2019).

- ترپن‌ها

ترپن‌ها ترکیبات فراری هستند که حاوی هیدروکربن‌های غیر اشباع هستند و از واحدهای ایزوپرن تشکیل شده‌اند.ترپن ها بلوک ساختمانی ترکیبات ترپنوئیدی هستند که گروه‌های اصلی ترکیبات زیست فعال در گیاهان هستند. آن‌ها عمدتاً در گیاهان به‌عنوان اجزای مهم در اسانس‌ها یافت می‌شوند و طیف گسترده ای از رایحه‌ها را ارائه می‌دهند. آسکومیست‌ها و بازیدیومیست ها گونه‌های اصلی قارچی هستند که در طبیعت ترپن تولید می‌کنند. در بین ترپن‌های معطر، لیمونن یکی از پیش سازهای ترپنوئیدی اصلی است که به طور گسترده‌ای به‌عنوان افزودنی‌های غذایی با خاصیت طعم یا عطر مورد مطالعه قرار می‌گیرد. لیمونین به‌عنوان ترکیبی تلخ در ترکیباتی مانند *Citrus aurantifolia* و *Citrus latifolia* شناسایی شد. ترکیباتی مانند ترپینولن و لینالول در نمونه‌های آب لیموترش تایلندی به‌عنوان معطرهای کلیدی شناسایی شده‌اند. کارون، لینالول، نوت کاتون، اکالیپتول و غیره چند ترکیب طعم‌دهنده ترپنوئیدی دیگر هستند (Braga *et al*., 2018).

- متیل کتون ها

متیل کتون ها عمدتاً برای ایجاد طعم میوه‌ای و پنیری استفاده می‌شوند. همچنین می‌تواند باعث ایجاد طعم کهنگی در شیر UHT (فرآوری با دمای فوق العاده بالا) شود. متیل کتون‌ها را می‌توان به طور طبیعی توسط پستانداران و قارچ ها با دکربوکسیلاسیون اسیدهای بتا کتو تولید کرد. بو و طعم پنیر رسیده به دلیل وجود متیل کتون‌های تولید شده در اثر اکسیداسیون هیدروکربن‌های آلیفاتیک توسط متابولیسم باکتری‌ها است. دی استیل یک کتون مهم است که طعم کره‌ای را در محصولات لبنی فراهم می کند. همراه با باکتری‌های اسید لاکتیک، برخی از قارچ ها مانند *آسپرژیلوس نیجر*، *پنی سیلیوم روکوفورتی* و غیره نیز می توانند کتون تولید کنند (Gupta *et al*., 2015).

- آلدهیدها

آلدئیدها ترکیبات طعم‌دهنده کلیدی در بسیاری از غذاها هستند. وانیلین، بنزآلدئید، ۳- متیل بوتانال، ۲- متیل پروپانال نمونه های کمی از ترکیبات طعم‌دهنده متعلق به آلدئیدها هستند. آلدئیدها، که دارای یک گروه CHO^- هستند، می‌توانند به راحتی به الکل احیا شوند یا به اسیدهای کربوکسیلیک اکسید شوند. از این رو، حضور طبیعی آن‌ها به‌عنوان آلدئید نسبتا کم است. آلدئیدها ترکیبات آروماتیک اصلی در نمونه‌های مرغ کبابی ژاپنی هستند. وانیلین یکی از طعم‌های مورد مطالعه است که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است زیرا شکل طبیعی آن که از غلاف وانیل بدست می‌آید، گران است. بسیاری از کارهای تحقیقاتی بر تبدیل مولکول‌های پیش ساز آن مانند اسید فرولیک، اوژنول یا ایزوئژنول به وانیلین با استفاده از تخمیر میکروبی تمرکز دارند. به طور مشابه، مطالعاتی برای شناسایی روش‌های جدید برای سنتز ترکیبات طعم‌دهنده

طبیعی در حال انجام است (Smit *et al*., 2009).

- الکل ها

بسیاری از باکتری ها می توانند الکل را در طی تخمیر بی هوازی به‌عنوان بخشی از متابولیسم طبیعی خود تولید کنند. الکل همچنین می‌تواند توسط تخمیر باکتریایی مانند *Zymomonas mobilis* تولید شود. بسیاری از ترکیبات الکلی آروماتیک در صنعت طعم‌دهنده‌سازی کاربرد فراوانی دارند ، مانند ۲- فنیل اتانول، ایزوآمیل الکل و غیره (Gupta *et al*., 2015).

- اسیدهای چرب

در گیاهان، بسیاری از ترکیبات فرار از اسیدهای چرب اشباع یا غیر اشباع به دست می آیند. این اسیدهای چرب تحت اکسیداسیون α یا β قرار می‌گیرند و الکل ها، آلدئیدها، استرهای متیل کتون و لاکتون را تشکیل می دهند. باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک مانند لاکتوکوکوس، لاکتوباسیلوس می توانند ترکیبات اسید چرب مانند اسید بوتیریک تولید کنند که طعم لبنیات را به غذا می بخشد. علاوه بر باکتری های لاکتیک، برخی از گونه های قارچی متعلق به ریزوپوس همچنین می‌تواند اسید لاکتیک تولید کند. اسیدهای چرب که طعم لبنی را ایجاد می‌کنند در صنعت غذا و نوشیدنی مهم هستند (Meussen *et al*., 2012).

تولید ترکیبات طعم‌دهنده

در دهه‌های گذشته، ترکیبات عطروطعمی از گیاهان به روش‌های مختلف استخراج می‌شد. این ترکیبات در دمای اتاق بسیار فرار هستند، بنابراین استخراج و بازیابی آن‌ها دشوار است. علاوه بر این، غلظت این ترکیبات معطر موجود در گیاهان ممکن است به طور استثنایی کم باشد یا ممکن است به شکل پیوندی با سایر ترکیبات وجود داشته باشد که استخراج را حتی دشوارتر می کند(Verma *et al*., 2022). علاوه‌براین، متابولیسم گیاه برای تشکیل این ترکیبات می‌تواند بسته به عوامل مختلفی مانند فصل، رطوبت، فاز رشد، شدت نور متفاوت باشد. دانش در مورد ساختار شیمیایی آن‌ها به تولید این طعم‌ها با سنتز شیمیایی کمک کرد. این نوع سنتز برای تولید طعم موثرتر از استخراج از منابع طبیعی بود. بااین‌حال، فرآیند سنتز شیمیایی گاهی اوقات محصولات جانبی نامطلوب تولید می‌کند که باعث پیچیدگی بیشتری در جداسازی، تصفیه ضایعات می‌شود. علاوه بر این، افزایش نگرانی مردم در سراسر جهان در مورد سلامت خود باعث ایجاد تقاضا در بازار برای محصولات طبیعی شد. این موضوع منجر به نیاز به تکنیک‌های نوآورانه تر برای به دست آوردن ترکیبات طعم‌دهنده به طور طبیعی شد (Arya *et al*., 2019). از این رو روش بالقوه برای سنتز محصولات طعم‌دهنده در میکروب‌ها از طریق بیوسنتز میکروبی یا تبدیل زیستی شناسایی شد. میکروب‌ها می توانند این ترکیبات را به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه خود در طی تخمیر در محیط غذایی سنتز کنند. طعم‌دهنده‌ها همچنین می توانند با فعالیت های کاتالیزوری آنزیم‌هایی مانند لیپازها، پروتئازها و غیره تولید شوند. این آنزیم‌ها به تبدیل مولکول پیش ساز به محصول موردنظر کمک می‌کنند (Gandhi *et al*., 2017). بر اساس این روش ها، تولید طعم را می توان به روش‌های آنزیمی، میکروبی و کشت سلولی طبقه بندی کرد که در زیر شرح داده شده است.

تولید ترکیبات طعم‌دهنده توسط آنزیم‌ها

آنزیم‌های خالص شده می توانند نقش مهمی در تولید طعم داشته باشند. آنزیم‌ها واکنش‌های تبدیل سوبستراها به محصولات هدف، به‌ویژه ترکیبات طعم‌دهنده را تسریع می‌کنند. لیپازها، پروتئازها، گلوکوزیدازها، استراز نمونه‌هایی از آنزیم‌های دخیل در تولید طعم هستند (Schreier, 2006). لیپازها معمولاً در تولید استرها استفاده می‌شوند و در حال حاضر در تحقیقات زیادی در تولیدات بیودیزل استفاده می‌شود (Aravindan *et al*., 2007). لیپاز واکنش استری شدن بین اسید کربوکسیلیک و الکل را با سرعت واکنش بسته به طول زنجیره اسیدی یا الکلی کاتالیز می‌کند. pH، دما، غلظت لیپاز و محتوای امولسیون پارامترهای مهمی هستند که برای افزایش تولید طعم و عطر باید کنترل شوند (Aravindan *et al*., 2007). لیپاز تولید شده از *Staphylococcus simulans* توسط Chaabouni و همکاران (۲۰۰۶) برای تولید طعم سیب سبز و طعم گلابی استفاده شد. طعم سیب سبز و گلابی به ترتیب توسط اتیل والرات و هگزیل استات تولید شد. برای

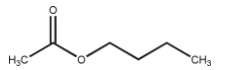
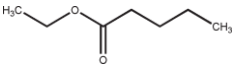
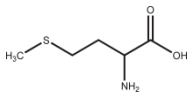
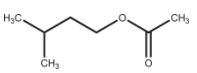
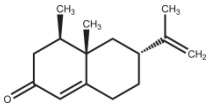
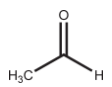
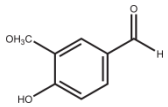
تولید این طعم‌ها، لیپاز خام *Staphylococcus simulans* بر روی یک محیط کربنات کلسیم تثبیت شد. با استفاده از ۲۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم تثبیت‌شده و ۲۰ درصد (وزنی/وزنی) آب در مخلوط واکنش (حاوی نسبت مولی اسید والریک به اتانول ۱) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تبدیل ۵۱ درصد اتیل والرات به دست آمد. از سوی دیگر، ۴۱ درصد تبدیل هگزیل استات احتمالاً با ۱۰۰ واحد لیپاز تثبیت شده، ۱۰ درصد (وزنی/وزنی) آب و نسبت مولی اسید استیک: هگزانول ۱ در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به دست آمد (Karra-Châabouni *et al*., 2006).

پروتئازها گروهی از آنزیم‌ها هستند که در هیدرولیز پروتئین به زنجیره‌های کوتاه‌تر اسیدهای آمینه مورداستفاده قرار می‌گیرند که می‌تواند برای افزایش طعم غذا استفاده شود. این هیدرولیزهای پروتئینی می توانند باعث تلخی غذا شوند پروتئاز به طور گسترده در تولید پنیر استفاده شده است. آنزیم پروتئاز با منشأ باکتریایی نیز در رسیدن پنیر و بهبود طعم استفاده شده است (Poornima and Preetha, 2017). گلوکوزیدازها در صنعت شراب برای افزایش طعم شراب با آزاد کردن ترپن های فرار یا پیش سازهای طعم از پیوندهای گلیکوزیدی آن‌ها استفاده می‌شوند (Longo and Sanromán, 2006). به همین ترتیب، آنزیم‌های زیادی وجود دارد که از میکروارگانیسم‌ها به‌دست می‌آیند و در تولید طعم استفاده می‌شوند، چند نمونه در جدول ۲ آورده شده است.

وانیلین محبوب ترین ترکیب طعم‌دهنده است که به‌طور گسترده در مواد غذایی، نوشیدنی‌ها، عطرها و محصولات دارویی استفاده می‌شود. تولید بیوتکنولوژیک آن به طور گسترده گزارش شده است. در تولید وانیلین هم از روش‌های آنزیمی و هم روش‌های تبدیل زیستی استفاده شده است (شکل ۲) (Luziatelli *et al*., 2019). در روش آنزیمی، وانیلین را می‌توان با آنزیم‌هایی مانند لیپوکسیژنازها، اسید فرولیک دکربوکسیلاز، اکسیژنازکاروتنوئیدی و اوژنول اکسیداز به دست آورد (Yao *et al*., 2020). تبدیل آنزیمی ایزواوژنول به وانیلین با استفاده از لیپوکسیژناز استخراج شده از آرد سویا گزارش شد که پس از ۸۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ۲/۶۸ گرم در لیتر وانیلین رسید (Liu *et al*., 2020).

جدول۲-تولید طعم با تبدیل کاتالیزوری آنزیمی

Table 2- Flavor production by enzymatic catalytic conversion

Enzyme	Source	Flavor Compound	Flavor Produced	Chemical Structure	Reference
Lipase	*Rhizopus oryzae*	Butyl acetate ester	Pineapple		(Salah, Ghamghui, Miled, Mejdoub, & Gargouri, 2007)
Lipase	*Burkholderia cepacia*	Ethyl valerate	Green apple		(Moreira, Elias, Osório, & Padilha, 2019)
Aminotransferase	*Lactobacillus casei* IFPL731	Methionine	Cheese		(Martínez-Cuesta, de Palencia, Requena, & Peláez, 2001)
Lipase	*Rhizomucor meihei* *Candida antartica*	Isoamyl acetate	Banana		(Güvenç, Kapucu, & Mehmetoğlu, 2002)
Oxygenase	*Pleurotus sapidus*	Nootkatone	Grapefruit flavor		(Fraatz *et al*., 2009)
Threonine aldolase	*Lactobacillus bulgaricus* *Lactobacillus acidophilus*	Acetaldehyde	Yoghurt flavor		(Wolf, Vénica, & Perotti, 2015)
Eugenol oxidase	*Rhodococcus jostii*	Vanillin	طعم وانیل		(García-Bofill *et al*., 2019)

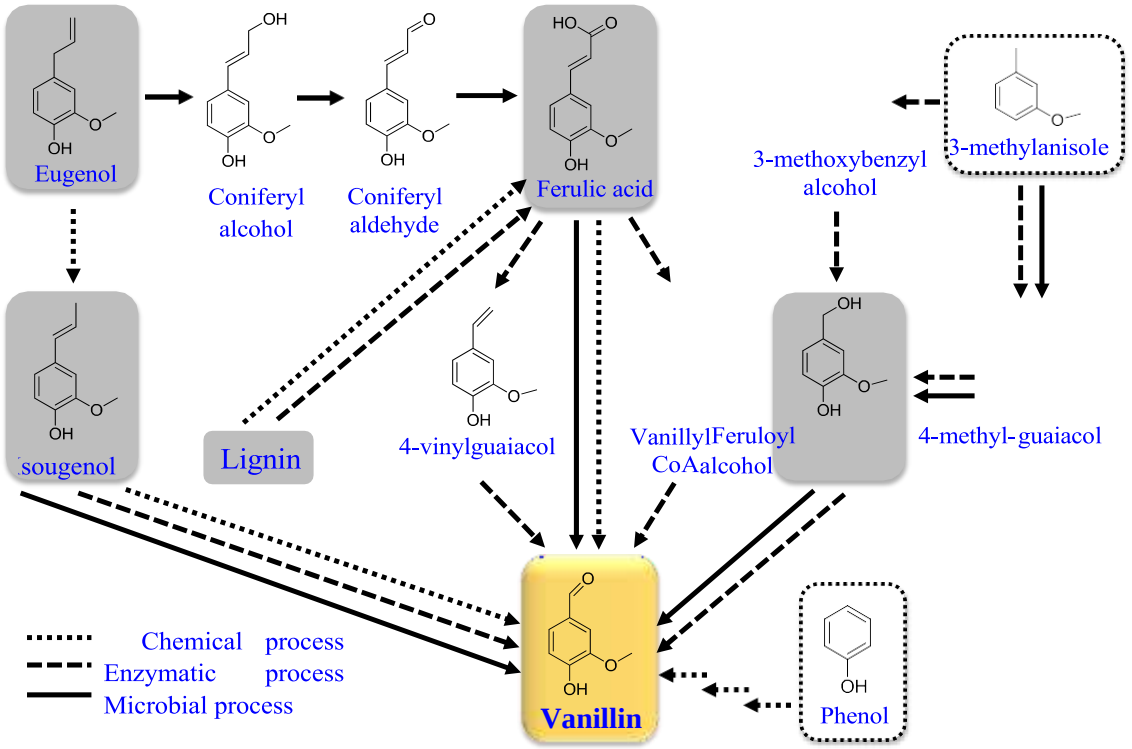


Figure 2- Enzymatic, microbial and chemical production of vanillin flavoring

شکل ۲- تولید آنزیمی، میکروبی و شیمیایی طعم‌دهنده وانیلین (García-Bofill *et al.*, 2019)

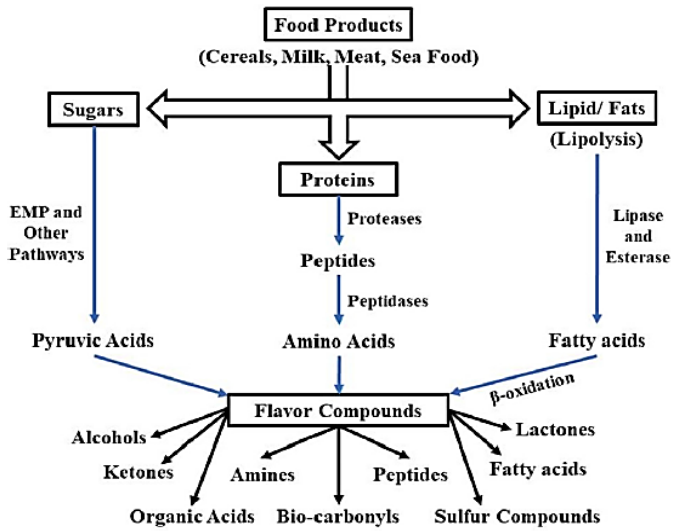


Figure 3- Biosynthesis of flavors by different microorganisms in different food products

شکل ۳- بیوسنتز طعم‌ها توسط آنزیم های مختلف در محصولات غذایی مختلف (Verma *et al.*, 2022)

در پژوهشی دیگر، تولید آنزیمی ۲/۹ گرم در لیتر وانیلین را از طریق اکسیداسیون مستقیم الکل وانیلیل کاتالیز شده توسط اوژنول اکسیداز تثبیت شده و افزودن یک کاتالاز آزاد در سیستم واکنش گزارش گردید (García-Bofill *et al.*, 2019). سایر مسیرهای آنزیمی جایگزین برای سنتز وانیلین را می توان با تبدیل بیولوژیکی اسید فرولیک از طریق ۴-vinylguaiacol با استفاده از دکربوکسیلاز و اکسیژناز برش کاروتنوئید و همچنین تبدیل متوالی ۳-متیل انیزول به وانیلیل الکل با استفاده از محصول میانی 4-methylagua-acol بدست آورد (Klaus, Seifert, Häbe, Nestl, & Hauer, 2019). بنابراین، استفاده از روش‌های آنزیمی مختلف برای تولید وانیلین به‌عنوان یک استراتژی به‌طور گسترده در بیوتکنولوژی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

- تولید ترکیبات طعم‌دهنده با میکروارگانیسم‌ها

طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها توانایی تولید طعم‌ها و عطرهای طبیعی در محیط کشت های مغذی به عنوان متابولیت ثانویه در طول تخمیر را دارند. بااین‌حال، ایجاد تغییرات ژنتیکی در این میکروارگانیسم‌ها به دلایلی مانند فقدان ابزارهای کافی زیست‌شناسی مولکولی مشکل است. بنابراین می‌توان از میکروارگانیسم‌هایی که به‌خوبی مطالعه شده‌اند در مقیاس صنعتی برای تولید این ترکیبات استفاده کرد (Maurya *et al*., 2022).

برخی از میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌های اسیدلاکتیک یا مخمرها قادر به سنتز طعم‌های خاص مربوط به دی استیل و استالدئید به‌عنوان متابولیت های ثانویه هستند. باکتری‌های اسیدلاکتیک (LABs) گروه مهمی از میکروارگانیسم‌ها برای تولیدکننده طعم هستند. LAB ها برای صنایع لبنی بسیار مهم هستند و به‌طور گسترده در تولید مواد غذایی تخمیر شده استفاده می‌شوند. طی فرآیندهای تخمیر، LABها بر خواص حسی محصولات نهایی، از جمله توسعه طعم، تأثیر می‌گذارند. تولید طعم بسیار به سوبسترا و سویه وابسته است و حضور پیش سازهای طعم و واکنش‌های تنظیمی ممکن است بر تعادل بیوسنتز طعم از یک محصول متابولیت ثانویه به ترکیب اصلی تأثیر بگذارد. سویه‌هایی مانند *لاکتوباسیلوس لاکتیس* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* به‌طور صنعتی برای بیوسنتز طعم به‌عنوان تنها میکروارگانیسم یا در کشت مخلوط با *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* استفاده می‌شوند (Paterson and Piggott, 2006).

- باکتری‌ها

میکروارگانیسم‌های مختلف مسیر متابولیک خاصی را دنبال می‌کنند تا ترکیبات طعم‌دهنده خاصی را که در شکل ۲ خلاصه شده است، تولید کنند. سویه‌های میکروبی می‌توانند برای تولید ترکیبات عطروطعمی به‌صورت *in-situ* یا در سوبستراهای مناسب به دست آیند و سپس در مواد غذایی مختلف مورد استفاده قرار گیرند (Wang *et al*., 2020).

تحقیقات متعددی برای تولید ترکیبات طعم‌دهنده از طریق تخمیر باکتریایی انجام شده است. باکتری‌های دست‌کاری شده ژنتیکی نیز در بسیاری از مطالعات برای تولید ترکیبات طعم‌دهنده استفاده می‌شوند. مطالعه‌ای توسط Escamilla و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که سویه های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *پدیوکوکوس پنتوساسئوس* می توانند مشتقات دی استیل بیشتری را در محیط های مبتنی بر نشاسته تولید کنند (Escamilla *et al*., 2000). دی استیل عمدتاً مسئول طعم کره است. اتانول آروماتیک، ۲- فنیل اتانول، که بوی گل رز را می دهد، از *E.coli* نوترکیب تولید شد. از آنجایی که این ترکیب در غلظت بسیار کم در طبیعت وجود داشت، استخراج از گیاهان نیز بی‌اثر بود. از این رو محققان *E.coli* را با شبیه‌سازی ژنتیکی آن با kdc (رمزکننده فنیل پیروات دکربوکسیلاز) و adh1 (کدکننده الکل دهیدروژناز) از Pichia pastoris و *Saccharomyces cerevisiae* مهندسی کرده‌اند تا مسیری مصنوعی برای تولید ۲-Phenylethanol ایجاد کنند (Santos *et al*., 2019). به طور مشابه، لیمونن که طعم پرتقال را بیان می کند توسط *E.coli* پس از مهندسی ژنتیکی با ژن‌های مولکول های پیش ساز لیمونن و *E.coli* با مسیر بیوسنتزی مونوترپن ساخته شد (Carter *et al*., 2003). سویه جدیدی از *Escherichia coli* نیز با حذف شش ژن که آلدو کتو ردوکتازها و الکل دهیدروژنازها را کدگذاری می‌کردند، مهندسی ژنتیکی شد. این سویه *E.coli* که از نظر ژنتیکی مهندسی شده بود قادر به تولید وانیلین از گلوکز بود(Kunjapur and Prather, 2015).

- قارچ‌ها

علاوه بر باکتری‌ها، قارچ نیز طور طبیعی طعم‌های زیادی تولید می‌کند *Ceratocystis moniliformis*به‌عنوان یک کاندید بالقوه برای تولید اسانس عطری مانند میوه شناسایی شد. با تغییر منابع کربن و نیتروژن در محیط، C. moniliformis قادر به تولید ترکیبات آروماتیک مختلف بود و مقدار عطر بسته به ترکیبات محیط رشد متفاوت بود (de Souza Sevalho, Paulino, de Souza, & de Souza, 2023). نشان داده شد که *Candida tropicalis* و *Yarrowia lipolytica* اسید ریسینولئیک را به اسید زنجیره ای کوچکتر تجزیه کرده و δ-دکالاکتون ذخیره می‌کنند که عطرهای میوه‌ای و روغنی را برای بوی هلو، توت‌فرنگی و زردآلو فراهم می‌کند (Longo & Sanromán, 2006). مطالعه ای توسط یازده

سویه مخمر، که متعلق به جنس *Candida*، *Hanseniaspora*، Metschniowia، *Pichia*، *Schizosaccharomyces*، Zygoaccharomyces و Saccharomyces بودند، برای غربالگری تولیدات استات انجام شد. نتایج نشان داد که Hanseniaspora و Pichia برای انواع خاصی از سوبستراها ویژگی‌های متفاوتی از خود نشان دادند اما قادر به تولید مشتقات مختلف استر از جمله اتیل استات، ژرانیل استات، ایزوآمیل استات و ۲-فنیل اتیل استات بودند. سایر ترکیبات، از جمله ۲-فنیل اتیل استات و ایزوآمیل استات، به شدت توسط *Hanseniaspora guillierondii* و *Pichia anomala* تولید شدند (Rojas *et al*., 2001). علاوه بر این، وانیلین، یک عامل طعم‌دهنده مهم، می‌تواند توسط مخمراز گلوکز پس از اصلاح ژنتیکی سنتز شود (Hansen *et al*., 2009).

عوامل مؤثر بر تولید طعم‌های میکروبی

ترکیبات محیط های رشد (شامل انواع منبع نیتروژن و کربن)، دما، ترکیب معدنی و سطح هوادهی تأثیر زیادی بر بیوسنتز طعم‌ها توسط هر گونه میکروبی دارد. بیوسنتز طعم به شدت تحت تأثیر محیط رشد و شرایط تخمیر قرار می گیرد و علاوه بر این، به سویه بستگی دارد. یکی از مهم‌ترین عوامل منبع کربن است که در برخی موارد پیش ساز طعم است. منبع نیتروژن بر بیوسنتز طعم توسط متابولیت های تولیدشده از مسیر تخریب کاتابولیک تأثیر می گذارد. به‌عنوان مثال، Paterson و Piggott (۲۰۰۶) بیان کردند که افزودن ساکارز در محیط کشت، بیوسنتز طعم را برای LAB ها و مخمرها تحریک می کند (Paterson and Piggott, 2006). حضور اکسیژن نیز به شدت بر رشد تاثیر می گذارد. تأثیر هوادهی بر تولید طعم به دلیل این واقعیت است که تقریباً همه سویه های میکروارگانیسم‌ها هوازی هستند و طعم در حضور اکسیژن به دست می‌آید. تحت شرایط هوادهی، *Lacticaseibacillus casei* منجر به بیوسنتز بالاتر دی استیل در پنیر چدار نسبت به کشت استارتر بی هوازی شد (Reale *et al*., 2016). از طرف دیگر، سویه *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 بیوسنتز دی استیل را فقط در شرایط هوازی نشان داد (De Vuyst *et al*., 2011).

دمای تخمیر به شدت بر بیوسنتز طعم توسط میکروارگانیسم تأثیر می‌گذارد. به‌عنوان مثال، *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 دی استیل و استوئین را در فاصله دمایی ۲۲-۴۵ درجه سانتیگراد از سیترات بیوسنتز کرد در مقایسه با دمای ۲۲ درجه سانتیگراد، سطح دی استیل و استوئین در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ۴/۱ برابر بیشتر بود. این اثر عمدتاً با فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم مرتبط است. وجود مواد معدنی نیز بر تولید طعم در سلول های میکروبی تأثیر می گذارد. در *Lactiplantibacillus plantarum* van Kranenburg و همکاران (۲۰۰۲) دو سیستم انتقال منگنز را مشخص کردند که در جذب مواد معدنی و تبدیل فنیل آلانین به بنزآلدئید با شروع یک آمینوترانسفراز وابسته به پیریدوکسال ۵۰ فسفات نقش دارند. علاوه بر این، در حضور اکسیژن و منگنز، فنیل پیرووات به‌دست‌آمده بیشتر از نظر شیمیایی به بنزآلدئید تبدیل می‌شود(van Kranenburg *et al*., 2002). در تحقیق دیگری مشاهده شد که سولفات منیزیم و منگنز با بدست آوردن ۳,۵۸ میلی گرم در لیتر دی استیل برای *Candida globosa* و ۹۶/۰۵ میلی گرم در لیتر استالدئید برای *Candida lipolytica* باعث افزایش زیست توده و توسعه عطر هر دو ۵۲ مخمر مختلف شد (Rosca, Petrovici *et al*., 2016).

تولید ترکیبات طعم زا با استفاده از کشت سلولی و کشت بافت گیاهی

کشت سلول‌های گیاهی روی کشت جامد یا مایع به‌عنوان یک ابزار تحقیقی به منظور مطالعه فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان بدون عوارض ناشی از برخورد با کل گیاه ایجاد شد. ایده کشت سلول‌های گیاهی در سال ۱۹۰۴ توسط هابرلند مطرح شد، اما تا زمان کشف اکسین‌ها و سیتوکینین‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه در سال‌های ۱۹۴۳-۱۹۶۰ بود که سلول‌های گیاهی می‌توانستند به طور قابل اعتمادی کشت شوند. توانایی یک سلول منفرد برای رشد و تقسیم به روشی خودتنظیمی به‌عنوان همه توان (totipotency) شناخته می‌شود. بنابراین، یک سلول totipotency باید بتواند یک گیاه کامل را از یک سلول واحد بازسازی کند. باید بین کشت اندام و بافت تمایز قائل شد. کشت ریشه و ساقه نمونه هایی از کشت اندام هستند که در آن مواد

گیاهی هویت مورفولوژیکی خود را حفظ می‌کنند. کشت بافت، کشت سلول های غیرمتمایز در مایع یا محیط جامد است و نمونه هایی از آن سوسپانسیون سلولی و کالوس است (Scragg, 2007).

تکنیک‌های کشت بافت گیاهی گزینه‌های متعددی را در تلاش برای تولید پایدار طعم‌های طبیعی ارائه می‌دهد. این موارد به شرح زیر است:

- ریز تکثیر[1]: تهیه گیاهانی که تکثیر آن‌ها با استفاده از روش‌های معمولی یا گونه‌های در حال انقراض دشوار است.
- تولید de novo طعم‌ها با استفاده از کالوس و کشت سوسپانسیون گیاه مبدأ
- استفاده از سلول‌های کامل یا آنزیم‌های استخراج شده برای انجام تبدیل زیستی[2] پیش سازها به ترکیب طعم‌دهنده (Scragg, 2006).

روش کشت سلولی گیاهی ریزتکثیر گیاهان مولد طعم می‌تواند به کشت کشاورزی آن‌ها کمک کند و فشار بر جمعیت‌های وحشی را کاهش دهد. با روش ریزتکثیری می‌توان تکثیر گیاهانی را که در آن‌ها تکثیر مرسوم مشکل است یا تکثیر ذخایر خاص را تسهیل کرد. اگر تقاضا برای طعم‌های طبیعی همچنان در حال افزایش باشد، استفاده از این روش می‌تواند مفید باشد (Cheetham, 2020).

در گزینه دوم، توسعه یک فرآیند کشت سلولی گیاهی برای تولید طعم‌ها نیازمند عملکرد بالا، سرعت رشد بالا، زیست توده بالا و توانایی رشد در بیوراکتورها است. واضح است که بازده بسیاری از ترکیبات طعم‌دهنده شناسایی شده کم است. اگر بخواهیم بازده بالا به دست آید، به تحقیقات مداوم نیاز دارد (Jaramillo *et al*., 2020).

سطح تولید طعم از طریق سنتز de novo توسط میکروب‌ها هنوز بسیار کم است و از این رو در کاربرد صنعتی آن مشکل ایجاد می کند. روش دیگری که می‌تواند برای تولید ترکیبات طعم‌دهنده در مقیاس تجاری در نظر گرفته شود، تبدیل زیستی است. تبدیل زیستی تبدیل یک ترکیب به محصول با استفاده از سلول های گیاهی زنده یا آنزیم‌های استخراج شده از گیاهان است. این سومین گزینه برای استفاده از کشت سلولی گیاهی برای تولید طعم است. این روش جدید می‌تواند مقدار بیشتری محصول تولید کند. برخلاف سنتز de novo که در آن ترکیبات طعم‌دهنده با استفاده از متابولیسم کامل میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند، در تبدیل زیستی تنها از یک واکنش خاص برای تولید یک ترکیب طعم استفاده می‌شود (Vilela *et al*., 2019). می‌توان آن را به‌عنوان واکنش‌های شیمیایی خاص که توسط عملکرد آنزیم‌ها یا میکروارگانیسم ها کاتالیز می‌شود تعریف کرد. تبدیل زیستی می‌تواند در مقیاس تجاری مورداستفاده قرار گیرد زیرا پتانسیل بالایی برای تولید ترکیبات طعم‌دهنده غذا دارد. به‌عنوان‌مثال، بنزآلدئید که به‌عنوان ترکیب طعم‌دهنده بادام شناخته می‌شود را می‌توان با کشت Ischnoderma benzoinum همراه با L− فنیل آلانین تولید کرد (Rosche, Sandford, Breuer, Hauer, & Rogers, 2001). طعم‌های دیگری نیز وجود دارند که توسط تبدیل زیستی میکروبی تولید می‌شوند که در جدول ۳ آورده شده‌اند.

نتیجه‌گیری

بیشتر مواد طعم‌دهنده غذا با استفاده از فرآیندهای شیمیایی تولید می‌شوند. با این حال، تمایل رو به رشدی برای تولید ترکیبات معطر با استفاده از ابزارهای بیوتکنولوژیکی وجود دارد که دارای مزایای زیر است: (i) فرآیند در شرایط ملایم انجام می‌شود. (ii) تأثیر زیست محیطی کمتری دارد. و (iii) ترکیبات ممکن است به عنوان طبیعی برچسب گذاری شوند. این یک فرصت مهم بازار با توجه به ترجیح مصرف کننده برای محصولات طبیعی است. پیشرفت‌های اخیر در مهندسی ژنتیک، فرآیندهای زیستی و استفاده از محصولات جانبی به‌عنوان بسترهای جایگزین، این پتانسیل را دارد که به غلبه بر این مشکلات و تحریک تحقیقات در فرآیندهای بیوتکنولوژیکی برای تولید ترکیبات معطر کمک کند.بیشتر طعم‌های مورداستفاده در صنایع غذایی و عطرسازی در یک فرآیند شیمیایی سنتز شده‌اند. پیشرفت تکنولوژی به دلیل افزایش تقاضا برای محصولات طبیعی منجر به تغییر در روند تولید طعم‌ها شده است. دانشمندان حتی قادر به تغییر ژن‌های میکروب‌ها و دست‌کاری مسیرهای متابولیک مختلف برای تولید ترکیب موردنظر در مقادیر زیاد هستند. این تکنیک‌های جدید همچنین می‌توانند مزایای برچسب‌گذاری طبیعی محصولات خود را در اختیار صنایع

[1] Micropropagation [2] Biotransformation

جدول ۳- بیوسنتز طعم‌ها با استفاده از میکروارگانیسم ها

Table 3- Biosynthesis of flavors using microorganisms

Substrate	Microorganism	Product	Ref
Octanoic acid (caprylic acid) found in coconut oil	Mortinella spp.	Octalactones	(Vandamme and Soetaert, 2002)
Fermented soyabean	*Bacillus subtilis*	Pyrazine	(Zhang *et al*., 2020a)
Supplimented medium of glucose or glycerol	*Pseudomonas taiwanensis* (engineered)	Benzaldehyde	(Otto *et al*., 2020)
Milk, Synthestic media	Lactobacilli and Yeasts	Acetaldehyde	(Dan *et al*., 2019; Rosca *et al*., 2016)
2-Phenylalanine	*cerevisiae 2-phenylethanin Hansenula anomala, K. marxianus, and S. cerevisiae*	2-phenylethanin	(Chantasuban, 2016)
Fermented wine	*Saccharomyces cerevisiae*	2-phenylethanol	(Liang *et al*., 2020)
Sugars or ethanol	*Yeasts including Cyberlindnera jadinii, Kluyveromyces marxianus, and Wickerhamomyces anomalus*	Ethylacetate	(Fan *et al*., 2019; Zhang *et al*., 2020b)
Octanoic acid (caprylic acid) found in coconut oil	*Mortinella spp.*	Octalactones	(Vandamme and Soetaert, 2002)
Milk, Synthestic media	*LAB such as Leuconostoc sp., Lc. lactis subsp.lactis serover diacetylactisand*	Diacetyl	(Rosca *et al*., 2016)
Limonene	Sphingobium sp.	α-terpineol	(Molina *et al*., 2019)
L-phenylalanine	*Ischnoderma benzoinum* CBS 311.29	Benzaldehyde	(Wu *et al*., 2019)
Cinnamyl alcohol	*Colletotrichum acutatum*	2-phenyl ethanol	(VELASCO B *et al*., 2010)
Oleic acid	*Micrococcus luteus*	γ-dodecalactone	(Boratyński *et al*., 2020)
Oil of *R. communis*	*Aspergillus niger, Cladosporium suaveolens* and *Pichia etchelisii*	d-Decalactone	(Prabakaran *et al*., 2020)
Castor oil	*Monilia fructicola, Rhodotorula glutinis and Sporobolomyces odorus*	d-Decalactone	(Sadecka *et al*., 2019)
11-hydroxy palmitic in sweet potatoes (Ipomoea batatas)	Yeast species	d-Decalactone	(Vandermaesen *et al*., 2016)

قرار دهند. این می‌تواند بازار ترکیبات طعم‌دهنده را افزایش دهد. علاوه بر این، تکنیک‌هایی که از میکروب‌ها استفاده می‌شود، سازگارتر با محیطزیست هستند و می‌توانند محصولات ناخواسته را نیز کاهش دهند. تحقیقات بیشتری در این زمینه برای شناسایی پیش سازها و مسیرهای جدید برای تولید ترکیبات طعم‌دهنده مختلف موردنیاز است.

منابع

Aravindan, R., Anbumathi, P. & Viruthagiri, T. (2007). Lipase applications in food industry.

Arya, S., Kaimal, A. M., Chib, M., Sonawane, S. K. & Show, P. L. (2019). Novel, energy efficient and green cloud point extraction: technology and applications in food processing. Journal of food science and technology, 56, 524-534. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3546-7

Boratyński, F., Szczepańska, E., De Simeis, D., Serra, S. & Brenna, E. (2020). Bacterial biotransformation of oleic acid: New findings on the formation of γ-dodecalactone and 10-ketostearic acid in the culture of Micrococcus Luteus. Molecules, 25(13), 3024. https://doi.org/10.3390/molecules25133024

Braga, A., Guerreiro, C. & Belo, I. (2018). Generation of flavors and fragrances through biotransformation and de novo synthesis. Food and Bioprocess Technology, 11, 2217-2228. https://doi.org/10.1007/s11947-018-2180-8

Carter, O. A., Peters, R. J. & Croteau, R. (2003). Monoterpene biosynthesis pathway construction in Escherichia coli. Phytochemistry, 64(2), 425-433. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00204-8

Cheetham, P. S. (2020). The flavour and fragrance industry. In Biotechnology-The Science and the Business. 533-562: CRC Press. https://www.doi.org/10.1201/9781003078432-26

Dan, T., Ren, W., Liu, Y., Tian, J., Chen, H., Li, T. & Liu, W. (2019). Volatile flavor compounds profile and fermentation characteristics of milk fermented by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus. Frontiers in Microbiology, 10, 2183. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02183

de Oliveira Felipe, L., de Oliveira, A. M. & Bicas, J. L. (2017). Bioaromas–perspectives for sustainable development. Trends in Food Science & Technology, 62, 141-153. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.005

de Oliveira Felipe, L., Paulino, B. N., Sales, A., Molina, G. & Bicas, J. L. (2019). Production of food aroma compounds (Microbial and enzymatic methodologies). In Food Aroma Evolution. 293-306: CRC Press.

De Vuyst, L., Vaningelgem, F., Ghijsels, V., Tsakalidou, E. & Leroy, F. (2011). New insights into the citrate metabolism of Enterococcus faecium FAIR-E 198 and its possible impact on the production of fermented dairy products. International Dairy Journal, 21(9), 580-585. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.03.009

Escamilla, M., Valdés, S., Soriano, J. & Tomasini, A. (2000). Effect of some nutritional and environmental parameters on the production of diacetyl and on starch consumption by Pediococcus pentosaceus and Lactobacillus acidophilus in submerged cultures. Journal of applied microbiology, 88(1), 142-153. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00934.x

Fan, G., Teng, C., Xu, D., Fu, Z., Minhazul, K. A., Wu, Q. & Li, X. (2019). Enhanced production of ethyl acetate using co-culture of Wickerhamomyces anomalus and Saccharomyces cerevisiae. Journal of bioscience and bioengineering, 128(5), 564-570. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.05.002

García-Bofill, M., Sutton, P. W., Guillen, M. & Alvaro, G. (2019). Enzymatic synthesis of vanillin catalysed by an eugenol oxidase. Applied Catalysis A: General, 582, 117117. https://doi.org/10.1016/j.apcata.2019.117117

Gotow, N., Skrandies, W., Kobayashi, T. & Kobayakawa, T. (2018). Familiarity and retronasal aroma alter food perception. Chemosensory Perception, 11, 77-94. https://doi.org/10.1007/s12078-018-9244-z

Gupta, C., Prakash, D. & Gupta, S. (2015). A biotechnological approach to microbial based perfumes and flavours. J. Microbiol. Exp, 2 (1). http://10.0.60.46/jmen.2015.01.00034

Hansen, E. H., Møller, B. L., Kock, G. R., Bünner, C. M., Kristensen, C., Jensen, O. R. & Hansen, J. (2009). De novo biosynthesis of vanillin in fission yeast (Schizosaccharomyces pombe) and baker's yeast (Saccharomyces cerevisiae). Applied and Environmental Microbiology, 75 (9), 2765-2774. https://doi.org/10.1128/AEM.02681-08

Jaramillo, D. A., Méndez, M. J., Vargas, G., Stashenko, E. E., Vasco-Palacios, A. M., Ceballos, A. & Caicedo, N. H. (2020). Biocatalytic potential of native basidiomycetes from Colombia for flavour/aroma production. Molecules, 25 (18), 4344. https://doi.org/10.3390/molecules25184344

Karra-Châabouni, M., Ghamgui, H., Bezzine, S., Rekik, A. & Gargouri, Y. (2006). Production of flavour esters by immobilized Staphylococcus simulans lipase in a solvent-free system. Process Biochemistry, 41(7), 1692-1698. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.02.022

Kaur, K., Sharma, R. & Singh, S. (2020). Bioactive composition and promising health benefits of natural food flavors and colorants: potential beyond their basic functions. Pigment & Resin Technology, 49(2), 110-118. https://doi.org/10.1108/PRT-02-2019-0009

Kruis, A. J., Bohnenkamp, A. C., Patinios, C., van Nuland, Y. M., Levisson, M., Mars, A. E. & Weusthuis, R. A. (2019). Microbial production of short and medium chain esters: enzymes, pathways, and applications. Biotechnology advances, 37(7), 107407. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.06.006

Kunjapur, A. M. & Prather, K. L. (2015). Microbial engineering for aldehyde synthesis. Applied and Environmental Microbiology, 81(6), 1892-1901. https://doi.org/10.1128/AEM.03319-14

Liang, C., Ding, S., Sun, W., Liu, L., Zhao, W., Zhang, D. & Chen, Y. (2020). Biofilm-based fermentation: a novel immobilisation strategy for Saccharomyces cerevisiae cell cycle progression during ethanol production.

Applied Microbiology and Biotechnology, 104, 7495-7505. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10770-1

Liu, H. M., Zou, Y., Yao, C. Y. & Yang, Z. (2020). Enzymatic synthesis of vanillin and related catalytic mechanism. Flavour and fragrance journal, 35(1), 51-58. https://doi.org/10.1002/ffj.3528

Longo, M. A. & Sanromán, M. A. (2006). Production of food aroma compounds: microbial and enzymatic methodologies. Food technology and biotechnology, 44(3), 335-353.

Luziatelli, F., Brunetti, L., Ficca, A. G. & Ruzzi, M. (2019). Maximizing the efficiency of vanillin production by biocatalyst enhancement and process optimization. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 7, 279. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00279

Maurya, R., Patel, H., Bhatt, D., Shakhreliya, S., Gohil, N., Bhattacharjee, G. & Singh, V. (2022). Microbial production of natural flavors and fragrances. In Recent Advances in Food Biotechnology.139-159: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8125-7_7

Meussen, B. J., de Graaff, L. H., Sanders, J. P. & Weusthuis, R. A. (2012). Metabolic engineering of Rhizopus oryzae for the production of platform chemicals. Applied Microbiology and Biotechnology, 94, 875-886. https://doi.org/10.1007/s00253-012-4033-0

Molina, G., Pessôa, M. G., Bicas, J. L., Fontanille, P., Larroche, C. & Pastore, G. M. (2019). Optimization of limonene biotransformation for the production of bulk amounts of α-terpineol. Bioresource technology, 294, 122180. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122180

Ngamchuachit, P., Kitai, Y., Keeratipibul, S. & Phuwapraisirisan, P. (2020). Comparison of dynamic headspace trapping on Tenax TA and headspace stir bar sorptive extraction for analysis of grilled chicken (Yakitori) volatiles. Applied Science and Engineering Progress, 13(3), 202-212.

Otto, M., Wynands, B., Marienhagen, J., Blank, L. M. & Wierckx, N. (2020). Benzoate synthesis from glucose or glycerol using engineered Pseudomonas taiwanensis. Biotechnology journal, 15(11), 2000211. https://doi.org/10.1002/biot.202000211

Paterson, A. & Piggott, J. R. (2006). Flavour in sourdough breads: a review. Trends in Food Science & Technology, 17(10), 557-566. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.03.006

Paulino, B. N., Sales, A., Felipe, L., Pastore, G. M., Molina, G. & Bicas, J. L. (2021). Recent advances in the microbial and enzymatic production of aroma compounds. Current Opinion in Food Science, 37, 98-106. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.09.010

Poornima, K. & Preetha, R. (2017). Biosynthesis of food flavours and fragrances-A review. Asian J Chem, 29(11), 2345-2352. https://doi.org/10.14233/ajchem.2017.20748

Prabakaran, R., Marie, J. M. & Xavier, A. J. M. (2020). Biobased Unsaturated Polyesters Containing Castor Oil-Derived Ricinoleic Acid and Itaconic Acid: Synthesis, In Vitro Antibacterial, and Cytocompatibility Studies. ACS Applied Bio Materials, 3(9), 5708-5721. https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00480

Reale, A., Ianniello, R. G., Ciocia, F., Di Renzo, T., Boscaino, F., Ricciardi, A. & McSweeney, P. L. (2016). Effect of respirative and catalase-positive Lactobacillus casei adjuncts on the production and quality of Cheddar-type cheese. International Dairy Journal, 63, 78-87. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.08.005

Rojas, V., Gil, J. V., Piñaga, F. & Manzanares, P. (2001). Studies on acetate ester production by non-Saccharomyces wine yeasts. International Journal of Food Microbiology, 70(3), 283-289. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00552-9

Rosca, I., Petrovici, A. R., Brebu, M., Stoica, I., Minea, B. & Marangoci, N. (2016). An original method for producing acetaldehyde and diacetyl by yeast fermentation. brazilian journal of microbiology, 47, 949-954. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.005

Sadecka, J., Čaplová, Z., Tomáška, M., Šoltys, K., Kopuncová, M., Budiš, J. & Kuchta, T. (2019). Microorganisms and volatile aroma-active compounds in bryndza cheese produced and marketed in Slovakia. Journal of Food & Nutrition Research, 58(4).

Santos, K. A., Gonçalves, J. E., Cardozo-Filho, L. & da Silva, E. A. (2019). Pressurized liquid and ultrasound-assisted extraction of α-bisabolol from candeia (Eremanthus erythropappus) wood. Industrial Crops and Products, 130, 428-435. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.013

Schreier, P. (2006). Enzymes and flavour biotechnology. Biotechnology of aroma compounds, 51-72.

Scragg, A. (2006). The production of aromas by plant cell cultures. Biotechnology of aroma compounds, 239-263. https://doi.org/10.1007/BFb0102062

Scragg, A. (2007). The production of flavours by plant cell cultures. In Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability 599-614: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-49339-6_25

Smit, B.A., Engels, W.J. & Smit, G. (2009). Branched chain aldehydes: production and breakdown pathways and relevance for flavour in foods. Applied microbiology and biotechnology, 81,.987-999. https://doi.org/10.1007/s00253-008-1758-x

van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., van Hylckama Vlieg, J., Ursing, B. M., Boekhorst, J., Smit, B. A. & Siezen, R. J. (2002). Flavour formation from amino acids by lactic acid bacteria: predictions from genome sequence analysis. International Dairy Journal, 12(2-3), 111-121. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00132-7

Vandamme, E. J. & Soetaert, W. (2002). Bioflavours and fragrances via fermentation and biocatalysis. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 77(12), 1323-1332. https://doi.org/10.1002/jctb.722

Vandermaesen, J., Horemans, B., Bers, K., Vandermeeren, P., Herrmann, S., Sekhar, A. & Springael, D. (2016). Application of biodegradation in mitigating and remediating pesticide contamination of freshwater resources: state of the art and challenges for optimization. Applied Microbiology and Biotechnology, 100, 7361-7376. https://doi.org/10.1007/s00253-016-7709-z

Velasco B, R., gil G, J. H., García P, C. M. & Durango R, D. L. (2010). Production of 2-phenylethanol in the biotransformation of cinnamyl alcohol by the plant pathogenic fungus Colletotrichum acutatum. Vitae, 17(3), 272-280.

Verma, D. K., Al-Sahlany, S. T. G., Niamah, A. K., Thakur, M., Shah, N., Singh, S. & Aguilar, C. N. (2022). Recent trends in microbial flavour Compounds: A review on Chemistry, synthesis mechanism and their application in food. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(3), 1565-1576. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.010

Vilela, A., Bacelar, E., Pinto, T., Anjos, R., Correia, E., Gonçalves, B. & Cosme, F. (2019). Beverage and food fragrance biotechnology, novel applications, sensory and sensor techniques: An overview. Foods, 8(12), 643. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105913

Wang, Y., Trani, A., Knaapila, A., Hietala, S., Coda, R., Katina, K. & Maina, N. H. (2020). The effect of in situ produced dextran on flavour and texture perception of wholegrain sorghum bread. Food hydrocolloids, 106, 105913. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105913

Wu, X., Zhu, L., Zhu, C., Wang, C. & Li, Q. (2019). Catalytic transformation of bio-oil to benzaldehyde and benzoic acid: an approach for the production of high-value aromatic bio-chemicals. Current Green Chemistry, 6(2), 135-146. https://doi.org/10.2174/2213346106666190830114619

Yao, X., Lv, Y., Yu, H., Cao, H., Wang, L., Wen, B. & Xin, F. (2020). Site-directed mutagenesis of coenzyme-independent carotenoid oxygenase CSO2 to enhance the enzymatic synthesis of vanillin. Applied Microbiology and Biotechnology, 104, 3897-3907. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10433-1

Zhang, H., Zhang, L., Yu, X. & Xu, Y. (2020). The biosynthesis mechanism involving 2, 3-pentanedione and aminoacetone describes the production of 2-ethyl-3, 5-dimethylpyrazine and 2-ethyl-3, 6-dimethylpyrazine by Bacillus subtilis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 68(11), 3558-3567. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07809

Zhang, S., Guo, F., Yan, W., Dong, W., Zhou, J., Zhang, W. & Jiang, M. (2020). Perspectives for the microbial production of ethyl acetate. Applied Microbiology and Biotechnology, 104, 7239-7245. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10756-z

A Review on the Production of Food Flavorings by Biotechnological Methods

A. Basati [a], M. Khanbagi Dogahe [a], M. Gharachorloo [b*]

[a] PhD Student of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 17 September 2023 Accepted: 11 November 2023

Abstract

Introduction: Flavor is one of the most important characteristics of food, which is directly related to the acceptance of the product by consumers. The increasing trend in the consumption of food flavoring compounds has motivated the production of food flavors therefore the global demand for natural flavors and aromas is continuously increasing. Plants and microorganisms are the main sources of flavor and aroma compounds such as terpenoids, aldehydes, methyl ketones, but due to their production in lower concentrations, the isolation and extraction of such value-added chemicals is expensive. Therefore, the biotechnological production of flavor compounds has been considered.

Materials and Methods: In the last decade, research has been carried out in the field of biological production of flavoring compounds. In this study, main biotechnological methods including the use of enzymes, microorganisms, tissue plants and cell culture have been investigated.

Results: Conventional techniques for producing flavor compounds are not sufficient in terms of quantity and variety due to the rising market demand. Current flavor production methods use chemical synthesis, which can produce a greater number of flavors in less time. However, the demand for natural products has created the need for new methods to produce flavoring compounds labeled as natural origin. Biotechnological production is an attractive alternative to flavor production because it occurs under mild conditions, has high selectivity, produces no toxic waste, and produces products that can be labeled as "natural." Natural flavoring compounds obtained by biotechnological processes play an increasing role in the food, cosmetic, chemical and pharmaceutical industries due to the increasing consumer demand for natural food additives.

Conclusion: Emerging techniques in biotechnology have enabled industries to produce compounds that might be considered natural. There is no doubt that these technologies will become more important factors in the production of flavoring chemicals in the future due to their many advantages.

Keywords: *Biotechnology, Enzyme, Fermentation, Flavor, Microorganism, Tissue Culture.*

* Corresponding Author: m_gharachorlo@srbiau.ac.ir