علمی پژوهشی

ارزیابی تولید سرکه عناب و نقش مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* و گلوکز بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و خاصیت آنتی اکسیدانی آن

طیبه شاهی[۱]، سید مهدی جعفری[۲*]، مرتضی محمدی[۳]، محسن پویان[۴]، مهدی ابراهیمی[۵]، ساره حسینی[۶]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و عضو گروه پژوهشی بهینه‌سازی تولید و فراوری گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی.

۲- استاد و عضو هیئت علمی گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- دکتری علوم و صنایع غذایی، موسسه‌ی پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد.

٤- کارشناسی ارشد بیولوژی، مدیر مجتمع تحقیقات گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی.

۵- دکتری زراعت و عضو هیئت علمی گروه پژوهشی بهینه سازی تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی.

٦- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد سبزوار و عضو گروه پژوهشی بهینه‌سازی تولید و فراوری گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی.

(تاریخ دریافت: ۹۸ /۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۱۷)

چکیده

سرکه طبیعی از دو مرحله تخمیر الکلی توسط مخمرها و مرحله تخمیر اسیدی توسط باکتری‌های اسید استیک بدست می آید. از مهم‌ترین فاکتورهایی که فرآیند تولید سرکه را تحت تاثیر قرار می‌دهند، وجود مواد مغذی قابل دسترس و میزان مخمر جهت انجام سریع‌تر و بیشتر فرآیندهای تخمیری می‌باشد. این پژوهش با هدف بررسی تاثیر مقدار مخمر (۰ ، ۲ و ٤ درصد) و گلوکز (۰ و ۱۰ درصد) بر پارامترهای اسیدیته، pH، بریکس، میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی سرکه عناب انجام گردید. برای این منظور نمونه های عناب‌پس از شستشو تحت تاثیر غلظت‌های مختلف گلوکز و مخمر قرار گرفتند. سپس در دمای ۲٦درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۵ روز جهت تولید سرکه نگهداری شدند. بر اساس نتایج بدست آمده، ارتباط مستقیمی بین افزایش مقدار مخمر و گلوکز با پارامترهای اسیدیته، بریکس، ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش pH وجود داشت که تاثیر مقدار مخمر بیشتر از گلوکز بود. مقدار pH و اسیدیته در تیمارهای مختلف به ترتیب بین ۳/٤٦-۳/۰۰ و 3/51- 1/39٪ متغیر بود. با افزایش مقدار ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت. کمترین و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۳۵۸۲/۸ mg/L و ۳۳/۸۷٪، ٦٤۰۳/۳ mg/L و ٤۵/۳۷٪ بود که به ترتیب مربوط به تیمار ۲٪ مخمر و فاقد گلوکز، ٤٪ مخمر و ۱۰٪ گلوکز بود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد مخمر باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش زمان فرآیند تولید سرکه به ۳۵ روز در تیمار ٤٪ نسبت به ۲٪ و ۰٪ می‌شود که از نظر اقتصادی فاکتور مهمی در تولید سرکه می‌باشد.

کلید واژگان: عناب، سرکه تخمیری، ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی

* مسئول مکاتبات: jafarism@hotmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

۱- مقدمه

تولید سرکه به زمان تولید شراب توسط انسان باز می‌گردد، به طوریکه واژه سرکه برگرفته از کلمه فرانسوی vinaigre به معنی شراب ترش می‌باشد. در زمان قدیم سرکه در مقیاس کم به صورت سنتی جهت مصارف خانگی تولید می‌شد. اما به تدریج به دلیل افزایش مصرف و کندی روش سنتی، از روش‌های صنعتی برای تولید این محصول تخمیری استفاده گردیده است[۱]. سرکه از دیرباز در کشورهای مختلف به عنوان چاشنی، طعم دهنده و نگهدارنده در بسیاری از مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌است. تنوع وسیع فرآورده‌های حاوی سرکه در سال‌های اخیر در افزایش تولید این محصول نقش بسزایی داشته است. سرکه طبیعی حاوی اسیدهای‌آمینه ضروری بوده و علاوه بر کاربرد در صنایع غذایی جهت اهداف پزشکی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد[۲]. سرکه از طریق مکانیسم‌های مختلف مانع از بروز بیماری‌های قلبی و عروقی، بهبود هضم غذا و تنظیم وزن بدن، کاهشفشارخون و بهبود مقاوت به انسولین می‌گردد[۳].

اولین مرحله در تولید سرکه، تخمیر الکلی به وسیله مخمر است. این مرحله به دو حالت وجود دارد: ۱- تخمیر خودبه‌خودی: به طور طبیعی میکروب‌های عامل تخمیر در ماده اولیه وجود دارند، بنابراین ماده را به حال خود می‌گذارند تا فرآیند تخمیر انجام گیرد. ۲- استفاده از استارتر (آغازگر): تشکیل الکل از قندها با مخمرهای تولیدکننده الکل به‌خصوص *ساکارومایسسرویزیه* صورت می‌گیرد. سرعت تخمیر در این روش بیشتر از روش قبلی بوده و راندمان تولید سرکه نیز افزایش خواهد یافت. عوامل موثر در مرحله تخمیر الکلی که کنترل آنها از اهمیت زیادی برخوردار است شامل، غلظت قند، مواد مغذی، pH، غلظت اکسیژن و درجه حرارت می‌باشد[٤]. در دومین مرحله تولید سرکه، اتانول بر اثر فعالیت باکتری‌های اسید استیک به اسید استیک و برخیترکیب طعم‌زا تبدیل می‌شود. این مرحله حساسیت زیادی نسبت به غلظت اکسیژن محلول در محیط دارد. رسیدن سرکه متضمن واکنش بین اتانول باقیمانده و اسید استیک و تشکیل اتیل‌استات است که طعم ویژه محصول را ایجاد می‌کند. اگرچه اسیداستیک جز موثر و فعال سرکه است، ولی وجود آب همراه مواد معطر، اسیدهای آلی موجود در میوه، استرها و نمک‌های معدنی نیز در مطبوع کردن کیفیت سرکه نقش موثری دارند [٥].

نام توصیفی سرکه از ماده اولیه‌اینا‌شی می‌شود که از آن تهیه می‌شود. به عنوان مثال سرکه سیب از سیب، سرکه انگور از انگور، سرکه بالزامیک از انگور سفید، سرکه خرما از خرما، سرکه مالت از غلات و سرکه تقطیری از اتانول تهیه می‌شود [٦ و ٧]. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و کیفیت نهایی سرکه تحت تاثیر عوامل مختلفی به خصوص نوع ماده خام اولیه، تنوع میکروبی و نوع فرآیند تخمیر می‌باشد. محصول نهایی تولید سرکه به دلیل تشکیل ترکیبات در طی فرآیند دارای خواص منحصر به فردی می‌باشد و از آن به عنوان غذای فراسودمند[1] نام می‌برند[۸].

عناب گیاهی درختچه ای، با نام علمی*ziziphus jujube* و متعلق به خانواده رامناسه [2] می‌باشد. این گیاه در مناطق وسیعی از جهان از جمله منطقه مدیترانه و کشورهای جنوبی اروپا مثل اسپانیا، یونان و قبرس کشت می‌شود [۹]. در ایران نیز عناب به مقدار زیاد در استان‌های خراسان،گلستان، مازندران، فارس، اصفهان، یزد، همدان، قزوین و قم و به خصوص در خراسان جنوبی کشت می شود به طوری که ۹٤ درصد تولید عناب ایران، نزدیک به ۵ هزارو ۵۰۰ تن در این استان محقق می‌گردد[۱۰].

میوه نارس عناب نرم، سبز رنگ و زیتونی شکل با خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی بالا است و میوه رسیده آن چروکیده و قهوه‌ای مایل به ارغوانی تیره می‌باشد. به طور خاص، میوه عناب غنی از کربوهیدرات، بیوفلاوونوئید، ویتامین‌هایB و C، فیبر خوراکی و مواد معدنی به ویژه آهن و پتاسیم می‌باشد. میوه عناب به دلیل خاصیت ضد اکسایشی از برخی بیماری ها که در آنها گونه های رادیکال آزاد در نتیجه فشار اکسایشی تولید می‌شوند، جلوگیری می‌کند[۱۱].

کوباتا و همکاران در سال ۱۹۸۸ فرآوری و تولید سرکه از میوه‌ها و غلات را مورد بررسی قرار دادند. آنها میزان قند و مواد ازته به کار رفته در تولید سرکه میوه و غلات را به ترتیب٤ میلی گرم در میلی‌لیتر و ۰/٤۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش نمودند. افزودن ماده مغذی مکمل مناسب می‌تواند منجر به افزایش سرعت رشد مخمر و در نتیجه افزایش راندمان تولید و کوتاه شدن زمان این مرحله شود[۱۲]. ویتلانی و پاتل

1. Functional foods
2. Ramnaceae

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

در سال ۲۰۱۰ تولید سرکه فراسودند از عناب و بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق سرکه تحت تاثیر فرآیند تخمیر الکلی و تخمیر اسید استیک از آب عناب تولید شد. نتایج این تحقیق نشان داد در سرکه مقدار اسیدیته، فلاوونوئیدها، فلاوونول‌ها و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به آب عناب تازه به طور معنی‌داری بیشتر است. درحالی که pH، مقدار کربوهیدرات‌ها و ترکیبات فنولی کل در سرکه عناب کمتر از آب میوه تازه آن است. نتایج این بررسی نشان داد که سرکه عناب به دلیل مقدار زیاد ترکیبات آنتی‌اکسیدان و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک محصول فراسودمند می‌باشد[۱۳]. جو و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ بهینه‌سازی تولید سرکه عناب را با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق تاثیر غلظت عصاره عناب، غلظت *استوباکتراستی*، pHو دما بر راندمان تولد اسیداستیک، با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که حداکثر تولید اسید استیک با مقدار mg/mL ۵۲/۷۶ از عصاره عناب با غلظت ۲۵٪ در دمای ۲۱/۷۵ درجه سانتی‌گراد و مقدار الکل ۷/۶۹٪ صورت می‌گیرد[۱٤].

عناب دارای خواص درمانی مختلف شامل کاهنده فشار خون، چربی خون، دیابت، ضد سرطان، درمان سرفه، گلودرد و سرماخوردگی، مناسب لک و جوش‌های پوستی، آرامش‌بخش و غیره می‌باشد. با این وجود استفاده از آن به صورت سنتی (دم کرده) می‌باشد و فراوری آن به ویژه در زمینه صنایع غذایی در ایران کمتر مورد توجه قرار گرفته‌است[۱۰].

باتوجه به اهمیت تغذیه‌ای سرکه طبیعی در رژیم غذایی و همچنین جایگاه ارزشمند میوه عناب در طب سنتی ایران، انجام تحقیقات بیشتر در زمینه استفاده از فرآورده‌های عناب در صنایع غذایی ضروری به نظر می‌رسد. از این رو در این پژوهش تولید سرکه از عناب‌های درجه ۲ و ۳ و اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته و مواد جامد محلول)، خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی در سرکه های مختلف تهیه شده، مورد بررسی قرار گرفت که تاکنون گزارشی مبنی بر تولید سرکه از عناب در ایران صورت نگرفته-است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل موارد ذیل می‌باشد: عناب (تهیه شده از مزرعه مجتمع تحقیقات گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی)، گلوکز (از شرکت دکستروز ایران)، سود، متانول، ۲و۲- دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل[2](شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا)، کربنات سدیم، و معرف فولین سیوکالته (شرکت مرک آلمان).

۲-۲- روش آماده‌سازی

در این پژوهش میوه عناب در اواخر شهریور ماه ۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید و سپس با آب شستشو داده شده و در سایه خشک گردید. جهت تولید سرکه ٦ تیمار متشکل از دو متغیر شامل مقدار مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* (۰ و ۲ و ٤ درصد) و مقدار گلوکز (۰ و۱۰ درصد) جهت تخمیر الکلی و افزودن سرکه‌ی غیرپاستوریزه برای تخمیر استیکی و با سه تکرار در طرح فاکتوریل کاملا تصادفی آماده‌سازی شدند. نمونه‌ها بعد از اعمال تیمارهای مختلف در دمای ۲٦ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ٤٥ روز قرار گرفتند. سپس نمونه‌های سرکه صاف شده و در ظروف شیشه‌ای جهت انجام آزمایشات نگهداری گردیدند.

۲-۳- آزمایشات فیزیکوشیمیایی

۲-۳-۱-اندازه‌گیری pH

از pHمتر دیجیتال (مدل ۸۲٦، شرکتMetrohm، سوئیس) بعد از کالیبره نمودن با بافرهای ٤ و ۷ برای تعیین pH نمونه‌های سرکه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. الکترود pHمتر در داخل نمونه‌های سرکه قرار گرفت و pH خوانده شد[۱۵].

۲-۳-۲- اندازه‌گیری اسیدیته

به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا ایجاد رنگ ارغوانی با استفاده از ۵ میلی‌لیتر نمونه سرکه رقیق شده با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر تعیین شد. مقدار اسیدیته کل برحسب درصد اسیداستیک بر اساس رابطه ۱محاسبه گردید[۱۵].

$$\text{درصد اسیدیته} = \frac{N \times 0.006 \times 100}{V} \quad \text{رابطه (۱)}$$

N= حجم سود مصرفی (میلی‌لیتر) و V= حجم سرکه مصرفی (میلی‌لیتر) می‌باشد.

2. DPPH

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

۲-۳-۳- اندازه گیری بریکس (مواد جامد محلول)

برای تعیین مواد جامد از رفراکتومتر دیجیتالی (مدل RX-5000، شرکت آتاگو ژاپن) استفاده شد. ابتدا دستگاه با استفاده از آب مقطر کالیبره و سپس دو قطره از سرکه در عدسی دستگاه قرار داده شد، سپس میزان مواد جامد محلول به عنوان درجه بریکس بیان گردید[۱۵].

۲-۳-٤- اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی کل

مقدار کل ترکیبات فنولی کل سرکه با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه گیری شد.به ۰/۱ میلی‌لیتر از هر نمونه ۳/۹ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو ۲۵٪ اضافه شده و پس ار ۵ دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول سدیم‌کربنات ۲۰٪ به آن اضافه گردید. جذب مخلوط نیم ساعت بعد در طول موج ۷٦۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر (Visible-U، Recording-Shimadzu 160 A) قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت. مقدار ترکیبات فنولی کل بر اساس میزان معادل میلیگرم اسید گالیک در لیتر نمونه گزارش گردید. آزمایشات۳ بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش گردید[۱٦].

۲-۳-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۱۰۰ میکرولیتر سرکه رقیق شده (۱۰٪) با ۳/۹ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH در متانول مخلوط شد. نمونه شاهد نیز با اضافه کردن ۳/۹ میلی‌لیتر متانول با ۰/۱ میلی‌مولار DPPH تهیه گردید. سپس این مخلوط‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و در نهایت، جذب محلول‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید[۱۷].

$$I\% = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}}$$ رابطه (۲)

I= درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، $A_{control}$= میزان جذب نوری متانول و A_{sample}=میزان جذب نوری نمونه

۳- تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بر صفت‌های مورد نظر، با استفاده از نرم افزار SAS و آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح α=۰/۰۱ صورت پذیرفت. متغیرهای فرآیند شامل مقدار مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* در سه سطح (۰، ۲ و ٤٪) و غلظت گلوکز در دو سطح (۰ و ۱۰٪) و سه تکرار انجام شد. پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل اسیدیته، pH، مواد جامد محلول، ترکیبات فنلی کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی درپایان مرحله‌ی استیکی بود. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار اکسل۲۰۱٦ استفاده گردید.

٤- نتایج و بحث

اثرات مقدار مخمر و گلوکز و اثر متقابل دوگانه آنها بر خصوصیات مختلف فیزیکوشیمیایی سرکه در جدول ۱ نشان داده شده است.

Table 1 Result of physicochemical analysis

	Glucose (10%)			Glucose (0%)		
	Yeast (0%)	Yeast(2%)	Yeast(4%)	Yeast (0%)	Yeast (2%)	Yeast (4%)
pH	$3.19\pm3.22^{0.01c}\pm3.46^{0.01c}\pm3.05^{0.01a}\pm3.00^{0.02d}\pm3.40^{0.00e}\pm0.01^{b}$					
TitratableAcidity (%)	$2.67\pm2.52^{0.03c}\pm1.29^{0.12c}\pm3.08^{0.03d}\pm3.51^{0.07b}\pm1.39^{0.02a}\pm0.18^{d}$					
Brix (%)	$13.5\pm11.97^{0.21a}\pm6.17^{0.06c}\pm14.23^{0.12c}\pm8.53^{0.21a}\pm8.73^{0.74b}\pm0.15^{d}$					
Total Phenolic (Galic acid) (mg/L)	$5813.3\pm3582.77^{3.38a}\pm4990.05^{0.33ab}\pm6403.36^{2.90ab}\pm5373.36^{5.06ab}\pm5590.03^{0.55b}\pm36.06^{ab}$					
Antioxidant Activity (%)	$42.40\pm33.87^{0.06a}\pm34.03^{0.10c}\pm45.37^{0.21d}\pm38.30^{0.10b}\pm37.27^{0.06e}\pm0.06^{e}$					

Note: Values with the same letter within the row are not significantly different at $p < 0.01$.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

٤-١- بررسی اثر متغیرهای غلظت مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* و گلوکز بر میزان pH

نتایج آنالیز واریانس اثر متغیرهای فرآیند بر میزان pH نهایی نمونه سرکه تولید شده در جدول(۱) نشان داده شده است. طبق نتایج نمودار (۱) ملاحظه می‌شود، اثرات مقدار گلوکز و همچنین غلظت‌های مخمر بر میزان pHمحصول در سطح اطمینان برابر ۰/۰۱ معنی‌دار شده است. مطابق جدول (۱) کمترین pH مربوط به نمونه سرکه تولید شده با ۲ درصد مخمر و صفر درصد گلوکز می‌باشد. نمونه‌های سرکه تیمار شده با ۲ و ٤ درصد مخمر نسبت به نمونه‌های فاقد مخمر دارای pH کمتری در محصول نهایی می‌باشند. این موضوع به دلیل تولید بیشتر اتانول توسط مخمر در مرحله تخمیر الکلی نسبت به تخمیر خودبه‌خودی (فاقد مخمر) و در نتیجه افزایش ماده اولیه جهت تولید اسید استیک در مرحله تخمیر اسیدی می‌باشد (رابطه ۳)[۱۸ و ۱۹]. وجود مقدار بیشتر مخمر در طی فرآیند تولید سرکه باعث کاهش زمان تولید سرکه می‌شود. همان طور که در نمودار ۱ نشان داده‌شده است، نمونه تیمار شده با ٤ درصد مخمر نسبت به نمونه دارای ۲ درصد مخمر، pHبیشتری دارد و این به دلیل پایان مرحله تخمیر اسیدی قبل از ٤٥ روز (۱۰ روز قبل) و در نتیجه اکسایش اسید استیک به CO_2و افزایش pHمی‌شود.باکتری‌های اسیداستیک مقاوم به شرایط اسیدی بوده و در پایان مرحله تخمیر اسیدی از طریق چرخه‌ی تری‌کربوکسیلیک اسید باعث تجزیه استات و منجر به تولید CO_2 می‌شوند [۲۰]. pH نمونه‌های تیمار شده با ۱۰ درصد گلوکز نیز نسبت به نمونه های فاقد گلوکز در غلظت یکسان مخمر کمتر بوده و اختلاف معنی‌داری وجود دارد. درواقع بخش اعظم مواد مغذی مورد نیاز مخمر شامل مواد آلی، قندها و اسیدهای چرب می‌باشد. وجود کربوهیدرات ساده گلوکز در شروع فرآیند تخمیر الکلی منجر به افزایش شدید فعالیت مخمر و و تولید اتانول بیشتر و درنتیجه افزایش راندمان تولید سرکه و کاهش pH می‌شود (شکل) [۲۱]. آدبایو- ایوتورو و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ تاثیر دو غلظت صفر و ۱۰ درصد ساکاروز بر میزان pHنهایی سرکه انبه مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش نمونه تیمار شده با ۱۰ درصد ساکاروز میزان pH٤/۰۲ و نمونه فاقد گلوکز pH٤/۲٥ را نشان داد که این کاهش را به مقدار بیشتر غلظت اتانول در تیمار ۱۰ درصد گلوکز نسبت دادند[۲۲].

رابطه (۳)

$$C_6H_{12}O \xrightarrow{\text{تخمیر بی‌هوازی}} 2C_2H_5O + 2CO_2$$

Glucos → Ethanol + Carbon dioxide

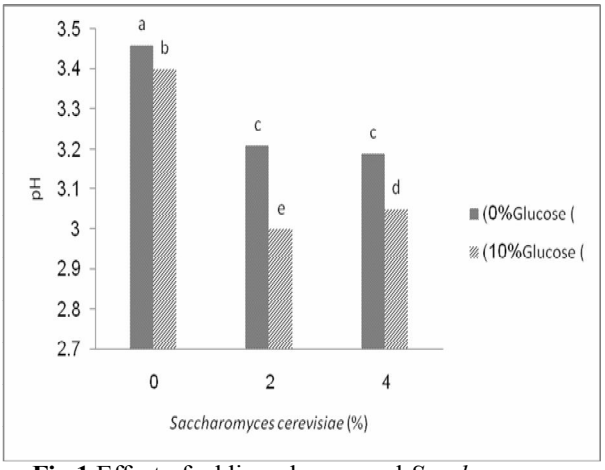


Fig 1 Effect of adding glucose and *Saccharomyces cerevisiae*interactions on pH of jujube vinager

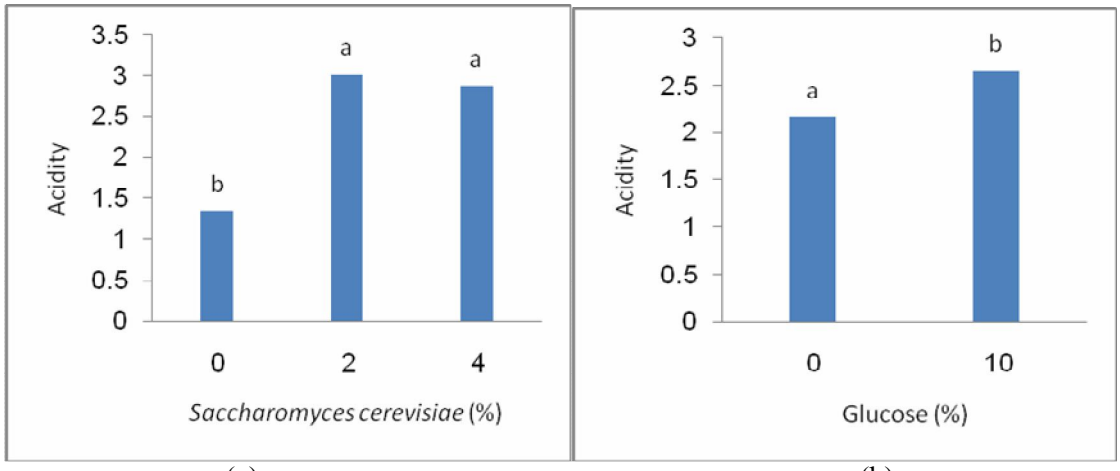
٤-٢- بررسی اثر متغیرهای غلظت مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* و گلوکز بر میزان اسیدیته

با توجه به نمودار (۲) بین نمونه‌های تیمار شده با گلوگز ۰ و ۱۰ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<0.01$). همچنین با افزایش مقدار مخمر از صفر درصد به ۲و ٤ درصد مقدار اسیدیته افزایش یافت، اما بین نمونه‌های تیمار شده با ۲و ٤ درصد مخمر اختلاف معنی‌داری در مقدار اسیدیته مشاهده نشد. با توجه به نتایج تجزیه واریانس بیشترین اسیدیته (۳/٥۱) مربوط به نمونه تیمار شده با ۱۰ درصد گلوکز و ۲ درصد مخمر بود که کمترین pHرا دارا بود و کمترین اسیدیته (۱/۲۹) مربوط به نمونه‌های فاقد مخمر بود. افزایش اسیدیته در نمونه‌های حاوی مخمر و گلوکز به دلیل وجود دو فاکتور مهم در طی فرآیند تخمیر الکلی می‌باشد. مخمرها میکروارگانیسم‌های شیمیوارگانوتروف هستند که انرژی مورد نیاز خود را از طریق اکسایش اسیدهای آلی بدست می‌آورند. اگر چه گلوکز به عنوان منبع کربن منحصر به فرد برای رشد مخمر مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی در بیشتر منابع،قندها معمولا به صورت آزاد وجود ندارد. تولید اتانول در طی فرآیند تخمیر الکلی مستلزم رشد کافی مخمر *ساکارومایسزسرویزیه*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

می‌باشد[۱۸]. وجود گلوکز منجر به افزایش سرعت رشد مخمر در مرحله تخمیر الکلی و افزایش سوبسترای لازم برای باکتری‌های اسیداستیک و در نتیجه افزایش اسیدیته می‌شود (رابطه ٤). مخمر نیز از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل انتقال پروتون در حین انتقال مواد مغذی (از طریق عمل ATPase غشاء)، تولید مستقیم اسیدهای آلی (شامل سوکسینات و استات)، حذف مواد بافر و انحلال کربن دی‌اکسید باعث افزایش اسیدیته می‌شود [۲۱]. همچنین افزایش در میزان اسیدیته علاوه بر تجمع اسیداستیک،به علت تولید اسیدهای آلی دیگر نیز می‌باشد مانند اسید تارتاریک و اسید پروپیونیک که نقش موثری در طعم و آرومای سرکه دارند[۲۲]. چن و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ تاثیر عوامل مختلف بر میزان اسیدیته سرکه آبمیوه مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد میزان اسیدیته در طی فرآیندهای تخمیر تحت تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری، مقدار مخمر و قندها افزایش می‌یابد. وجود برخی قندها باعث افزایش رشد باکتری‌های اسیداستیک در شروع فرآیند تخمیر اسیدی می‌شود و بقیه قندها جهت ادامه فرآیند تخمیر الکلی مورد استفاده قرار می‌گیرد[۲۳].همچنین عدم اختلاف چشمگیر بین دو تیمار ۲ و ٤ درصد مخمر از نظر میزان اسیدیته، به دلیل اختتمام سریع‌تر فرآیند تولید سرکه در تیمار ٤ درصد مخمر و تبدیل اسیداستیک به CO_2و H_2O توسط استوباکترها می‌باشد[۲٤].



(a) (b)

Fig 2 (a) Effect of adding *Saccharomyces cerevisiae*on acidity of jujube vinager, (b) Effect of adding glucose on acidity of jujube vinager

رابطه (٤)

$$2C_2H_5OH \xrightarrow{\text{باکتری}} CH_3COOH + H_2O$$

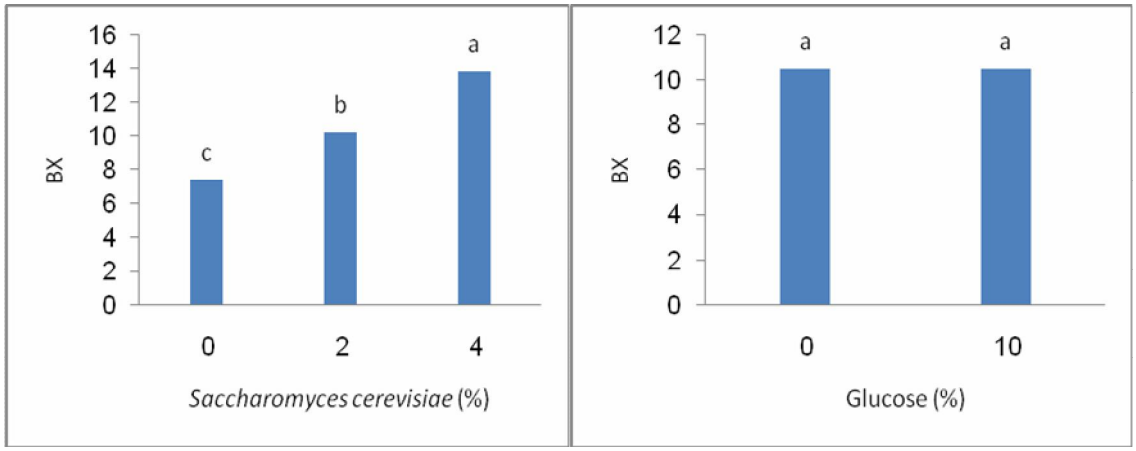
Ethano Acid Acetic + Water

٤-۳- بررسی اثر متغیرهای غلظت مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* و گلوکز بر میزان مواد جامد محلول

مقادیر میانگین میزان مواد جامد محلول تحت تاثیر تیمارهای مختلف در جدول (۱) نشان داده شده است. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف گلوکز نشان داد که با افزایش غلظت گلوکز از صفر به ۱۰ درصد تاثیر معنی‌داری بر افزایش میزان مواد جامد محلول سرکه نداشت ($P>0.01$) (نمودار ۳). در صورتی که بین نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف صفر، ۲ و ٤ درصد مخمر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (نمودار ۳). میزان مواد جامد محلول بین ۱٤/۲۳-٦/۱۷٪ متغیر بود. با توجه به جدول ۱ کمترین مواد جامد محلول٦/۱۷٪ بوده که مربوط به تیمار فاقد مخمر و گلوکز می‌باشد و بیشترین مواد جامد محلول مربوط به نمونه تیمار شده با ٤ درصد مخمر و ۱۰ درصد گلوکز می‌شود. وجود مقدار مخمر بیشتر در شروع فرآیند مرحله تخمیر الکلی باعث شدت فعالیت و تخریب بیشتر بافت‌های عناب جهت تجزیه و استفاده کربوهیدرات و خروج بیشتر ترکیبات می‌شود. همچنین در طی فرآیند تخمیر الیگوساکاریدهای مختلف تولید می‌شود که برخی از اینها توسط مخمر مورد استفاده قرار نمی‌گیرند و در محصول نهایی باقی می‌مانند[۲۰]. چیرسلیپ (۲۰۰۸) نیز گزارش داد، افزایش میزان ترکیبات محلول در حین فرآیند تخمیر موز ممکناست به دلیل تولید بیومس از ساکارومایسز سرویزیه باشد[۲۵].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]



(a) (b)

Fig 3 (a) Effect of adding *Saccharomyces cerevisiae*on Bx of jujube vinager, (b) Effect of adding glucose on Bx of jujube vinager

٤-٤- بررسی اثر متغیرهای غلظت مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* و گلوکز بر میزان ترکیبات فنلی

طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف به کار رفته از مخمر، با افزایش مقدار مخمر در غلظت یکسان گلوکز اختلاف معنی‌داری بین ترکیبات فنلی نمونه‌ها مشاهده نشد ($P>0.01$). همچنین تاثیر مقدار گلوکز بر میزان ترکیبات فنلی نیز معنی‌دار نشد ($P>0.01$) (نمودار ٤). در صورتی که اثرات متقابل مقدار مخمر و گلوکز بر میزان ترکیبات فنلی در سطح ۰/۰۱ بین نمونه حاوی ۲ درصد مخمر و صفر درصد گلوکز و نمونه ٤ درصد مخمر و ۱۰ درصد گلوکز معنی‌دار شد ($P<0.01$). میزان تغییرات ترکیبات فنلی نمونه ها بین ٦٤٠٣/٣mg/L - ٣٥٨٢/٧ متغیر بود و بیشترین میزان ترکیبات فنلیدر تیمار ٤ درصد مخمر و ۱۰ درصد گلوکز و کمترین مقدار در تیمار ۲ درصد مخمر و فاقد گلوکز مشاهده شد. به طوری که با افزایش میزان رسیدگی و سن سرکه غلظت ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد[۲۲]، که درمورد تیمار ٤ درصد مخمر و ۱۰ درصد گلوکز بیشترین میزان رسیدگی وجود داشت. همچنین مخمرها در حین فرآیند تخمیر به علت فعالیت آنزیمی باعث تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی می‌شوند که برخی از این ترکیبات باعث ایجاد بدطعمی در محصول نهایی می‌شوند. برخی از گونه‌های *ساکارومایسزسرویزیه* باعث تولید ترکیبات فنلی مولد طعم مطلوب از جمله ٤-وینیل‌لگیوکول[3] می‌شوند[٢٦].

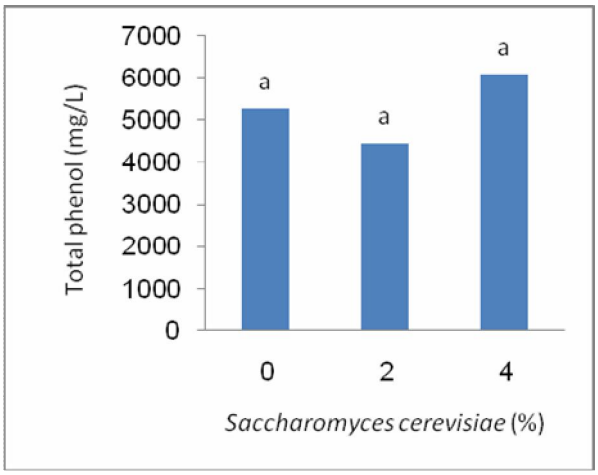


Fig 4 Effect of adding *Saccharomyces cerevisiae*on Total phenol of jujube vinager

٤-٥- بررسی اثر متغیرهای غلظت مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* و گلوکز بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

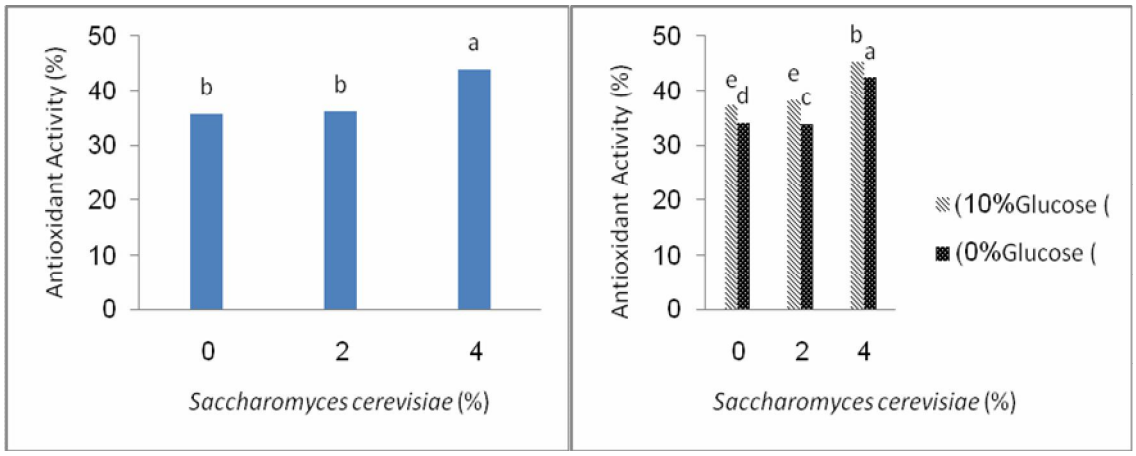
نتایج آنالیز داده‌های حاصل از بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* و گلوکز بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرکه نشان داد که غلظت‌های مختلف این دو متغیر تاثیر معنی‌داری بر مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدان داشته‌است ($P<0.01$) (نمودار ٥). فقط بین دو تیمار فاقد گلوکز ۲

3. 4-vinylguiacol

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

درصد مخمر و صفر درصد مخمر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمارهای حاوی مقدار ۱۰ درصد گلوکز نسبت به تیمارهای فاقد گلوکز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری بوده و اختلاف چشمگیری داشتند. تیمارهای حاوی ٤ درصد مخمر نسبت به نمونه‌های حاوی ۲ و صفر درصد مخمر دارای اختلاف معنی‌داری بودند. بیشترین میزان خاصیت انتی‌اکسیدانی ٤٥/۳۷٪ بود که مربوط به تیمار ٤ درصد مخمر و ۱۰ درصد گلوکز و کمترین مقدار (۳۳/۸۷٪) مربوط به تیمار ۲ درصد مخمر و فاقد گلوکز بود که مشابه نتایج مربوط به ترکیبات فنلی بود. ارتباط بسیار زیادی بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی وترکیبات فنلی و غلظت سرکه وجود داشت[۲۷] که در نمونه تیمار شده با غلظت ٤ درصد مخمر و ۱۰ درصد گلوکز بیشترین ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی-اکسیدانی وجود داشت. فنل‌ها از ترکیبات بسیار مهم در گیاهان هستند که به علت وجود گروه هیدروکسیل توانایی جذب رادیکال‌های آزاد را دارند. وجود ترکیبات فنلی ممکن است مستقیما در اثر آنتی‌اکسیدانی نمونه دخیل باشند [۲۸]. نتایج سلی (۲۰۱۷) نشان داد که بین ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی سرکه انار ارتباط مستقیمی وجود دارد. در حین فرآیند، ترکیبات فنلی به خصوص الاژی‌تانن‌ها و پونیکالیژین از پوست میوه استخراج و وارد محصول نهایی می‌شوند. همچنین مقدار بیشتر غلظت مخمر باعث تجزیه بیشتر بافت میوه عناب شده و خروج بیشتر ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی را فراهم می‌آورد [۲۹].



(a) (b)

Fig 4 (a) Effect of adding *Saccharomyces cerevisiae*on Antioxidant activity of jujube vinager, (b) Effect of *Saccharomyces cerevisiae*and glucose interactions onAntioxidant activity of jujube vinager

٦- نتیجه‌گیری

یکی از عوامل موثر در مرحله‌ی تخمیر الکلی و استیکی، مقدار مخمر، نوع و غلظت قند می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد گلوکز به عنوان سوبسترای اصلی فرآیند تخمیر الکلی باعث افزایش رشد مخمر و تسریع در تبدیل قند به الکل و درنتیجه افزایش رشد باکتری‌های استیکی و تولید بیشتر اسید استیک می‌گردد. افزایش مقدار مخمر *ساکارومایسزسرویزیه* نیز از سطح صفر به ۲ و ٤ درصد نیز باعث افزایش اسیدیته، ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش زمان تولید سرکه می‌شود.از این رو کنترل دقیق مرحله‌ی پایانی تخمیر استیکی، با اندازه‌گیری اسیدیته و pHجهت تولید سرکه‌ی مطلوب ضروری می‌باشد. در این تحقیق با افزودن ۱۰٪ گلوکز و ٤ درصد مخمر، بهترین نتیجه برای تولید سرکه عناب بدست آمد. سرکه عناب به دلیل نسبت بیشترمواد جامد محلول به اسیدیته نسبت به سایر سرکه‌ها، دارای قابلیت پذیرش بالایی بوده و عوارض ناشی از مصرف زیاد سایر سرکه ها را ندارد، از این رو تولید سرکه عناب جهت مصارف مختلف غذایی و کاهش ضایعات این میوه توصیه می‌شود.

۷- تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از همکاری و مساعدت جناب آقای مهندس صادقی،رئیس محترم جهاد

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

دانشگاهی واحد خراسان جنوبی، سرکارخانم محمودی، مهندس راغ‌آرا و سایر همکاران حوزه پژوهشی جهاد دانشگاهی در فراهم‌سازی شرایط و امکانات لازم جهت انجام این طرح تقدیر و تشکر نمایند.

۸- منابع

[1]Budak, N. H., Doguc, D. K., Savas, C. M., Seydim, A. C., Tas, T. K., Ciris, M. I and Guzel-Seydim, Z. B. (2011). Effects of apple cider vinegars produced with different techniques on blood lipids in high-cholesterol-fed rats, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 6638-6644.

[2] Pazuch, C. M., Siepmann, F. B., Canan, C and Colla, E. (2015). Vinegar: functional aspects. Científica, Jaboticabal, 43:4, 302-308.

[3] Sugiyama, M. A.C., Tang, Y., Wakaki, Y., Koyama, w. (2003). Glycemic index of single and mixed meal foods among common Japanese foods with white rice as a refrencefood. Eur. J. Clin. Nutr. 57 : 743-752.

[4] Walker, G.M. (1988).Yeast Physiology & Biotechnology; John Wiley & Sons: Chichester, UK; New York, NY, USA..

[5] Solieri, L., Giudici, P. (2008). Yeasts associated to traditional balsamic vinegar: ecological and tech-nological features. International Journal of Food Microbiology, 125:36-45.

[6] Sharifi, M., SaeediAsl, M. R., Haddad khodaparast, M. H., Jahed, I., Abedinia, A. R., Saerdarian, A. (2014). Investigation of the Stimulant Effect of date Kabakab&Mordabsang Core Powder on the Growth of Saccharomyces cerevisiae yeast in Vinegar Production. Journal of Innovation in science and food technology, 6 (4): 9-18.

[7] Raspor, P., and Goranovic, D. (2009). Biotechnological application of acetic acid bacteria in food Production. Fundamentals in Biotechnology, 7: 178–198.

[8] Li, S., Li, P., Feng, F and Luo, L. X. (2015). Microbial diversity and their roles in the vinegar fermentation process. Applied Microbiology and Biotechnology, 99(12): 4997–5024.

[9] Benammar, C. (2010). Zizyphus lotus L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. BMC Complement Altern Med, 10: 45-54.

[10] Pouyan, M. (2015). Comprehemsive Introduction of Medicinal Plants of South Khorasan. Isalmic Azad university of Birjand. 582.

[11] Tripathi, M., Pandey, M.B.,Jha, R.N.,Pandey, V.B.,Tripathi, P.N. and Singh, J.P. 2011. Cyclopeptide alkaloids from Zizyphus jujube. Fitoterapia. 72: 507-510.

[12] Kubota, T., Kato, H., Tanijiri, S and Matsuda, H. (1988). Process for production vinegar. US patent 4770881.

[13] Vithlani, V. A. and Patel, H. V. (2010). Production of Functional Vinegar from Indian Jujube(Zizyphusmauritiana)and its Antioxidant Properties. Journal of Food Technology, 8(3): 143-149.

[14] Jo, Y., Han, J. W., Min, D., Lee, Y. U., Choi, Y. J. and Lim, S. (2015). Optimization of Acetic Acid Fermentation for Producing Vinegar from Extract of Jujube (Zizyphusjujuba Mill.) Fruits. J. Food Science Technology, 47(6): 711-718.

[15] AOAC, (1990). Official methods of analysis, 15th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemist, 930.35j.

[16] Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16(3): 144-158.

[17] Williams, W. B., Cuvelier, M. E and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LebensmittelmWissenschsft Technology, 28: 25-30.

[18] Walker, G. M and Stewart, G. G. (2016). Saccharomyces cerevisiae in the Production of Fermented Beverages. Beverages.2(30): 1-12.

[19] Ubeda, C., Callejón, R. M., Hidalgo, C., Torija, M. J., Mas, A., Troncoso, A. M., & Morales, M. L. (2011). Determination of major volatile compounds during the production of fruit vinegars by static headspace gas chromatography-mass spectrometry method. Food Research International, 44, 259–268.

[20] Arachchige, P., Perumpuli, B. N., Watanabe, T and Toyama, H. (2014). Pellicle of thermotolerantAcetobacterpasteurianus strains: Characterization of the

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

polysaccharides and of the induction patterns. J. Biosci. Bioeng,118: 134–138.

[21] Walker, G. M. (2014).Fermentation (Industrial). Media for Industrial Fermentations. In Encyclopedia of Food Microbiology; Batt, C., Tortorello, M.L., Eds.; Elsevier Science Publishers: Boston, MA, USA.

[22] Adebayo-Oyetoro, A. O., Adenubi, E., Ogundipe, O. O., Bankole, B. O and Adeyeye, S. A. O. (2017). Production and quality evaluation of vinegar from mango.CogentFood and Agriculture, 3: 127-138.

[23] Chen, G. L, Zheng, F. J, Sun, J, Li, Z. C, Lin, B and Li, Y. R. (2015). Production and characteristics of high quality vinegar from sugarcane juice. Sugar Tech, 17(1): 89–93.

[24] Saeki, A., Theeragool, G., Matsushita, K., Toyama, H., Lotong, N and Adachi, O. 1997. Development of thermotolerant acetic acid bacteria useful for vinegar fermentation at higher temperatures. Bioscience and Biotechnology and Biochemistry, 64: 138-145.

[25] Cheirsilp, B. 2008. Processing of banan-based wine product using pectinase and α-amylase. Food Process Eng, 31: 78-90.

[26] Berry, D.R. (1984). Physiology and microbiology of Scotch whisky production. In Progress in Industrial Microbiology; Bushell, M.E., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 19, pp. 199–243.

[27]Ordoudi, S. A., Mantzouridou, F., Daftsiou, E., Malo, C., Hatzidimitriou, E., Nenadis, N. &Tsimidou, M. Z. (2014). Pomegranate juice functional constituents after alcoholic and acetic acid fermentation. Journal of Functional Foods, 8, 161–168.

[28] Gulcin I., Oktay M., Kufrevioglu I.Ö., and Aslan A. (2002).Determination of antioxidant activity of Lichen *Cetriariaislandca*(L) Ach, Journal of Ethnopharmacology, 79:325-329.

[29] Selli, S. (2017). Phenolic compounds in pomegranate vinegares. Journal of Science and Technology. 7(4): 162- 167.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

Evaluation of jujube vinegar production and the role of *Saccharomyces cerevisiae* and glucose on its physicochemical and antioxidant properties

Shahi, T. [1], Jafari, S. M. [2*], Mohammadi, M. [3], Pouyan, M. [4], Ebrahimi, M. [5], Hoseini, S. [6]

1. PhD student of Food Science and Technology,Member of Optimizing the Production and Processing of Medicinal Plants, Academic Center for Education, Culture and Research, Southern Khorasan Province, Birjand, Iran
2. PhD, Prof, Food Material and Process Design Engineering, Gorgan, Iran.
3. PhD of Food Science and Technology, Research Institute of Food Science and Technology,Mashhad, Iran.
4. Head of Medicinal Plants Research Complex, Academic Center for Education, Culture and Research, Southern Khorasan Province, Birjand, Iran.
5. Assistant Professor of Research Group for Optimizing the Production and Processing of Medicinal Plants, Academic Center for Education, Culture and Research, Southern Khorasan Province, Birjand, Iran.
6. Member of Optimizing the Production and Processing of Medicinal Plants, Academic Center for Education, Culture and Research, Southern Khorasan Province, Birjand, Iran.

(Received: 2019/05/01 Accepted: 2019/12/08)

Natural vinegar is produced from two stages of alcoholic fermentation by yeasts and acid fermentation by acetic acid bacteria. The most important effective factors in vinegar production process are availability of nutrients and yeast content for faster and higher rate of fermentation processes. This study was carried out to evaluate the effect of yeast level (0. 2 and 4%) and glucose concentration (0 and 10%) on parameters including acidity, pH, brix, phenolic compounds and antioxidant properties of jujube vinegar. For this purpose, washed jujubes were exposed to different concentrations of glucose and yeast. Then the samples were kept for 45 days at 45 ° C to produce vinegar. Our results showed that there was a direct correlation between the increase of yeast and glucose content with acidity, brix, phenolic compounds, antioxidant properties and pH reduction; the amount of yeast was more effective than glucose. Also, we found that pH and acidity were between 3.00-3.46 and 1.39-3.51, respectively. A good correlation was observed between total phenolic content and antioxidant activity. The minimum and maximum phenolic compounds and antioxidant properties were 3582.8 mg / L and 33.87%, 6403.3 mg / L and 45.37%, respectively which was obtained with 2% yeast and 0% glucose, and 4% yeast and 10% glucose. Obtained results indicated that yeast increases the antioxidant property and reduces vinegar production time to 35 days in 4% yeast than 2% and 0%, which is an important economic factor in the production of vinegar.

Key words: Ziziphus jujube, Fermented vinegar, Phenolic compounds, Antioxidant properties

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.17.107.185]

* Corresponding Author E-Mail Address: jafarism@hotmail.com