



## بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و شناسایی باکتری‌های غالب چند نمونه سرکه خرما سنتی

رضا حاجی‌محمدی فریمانی<sup>\*</sup>، محمد بلوردی<sup>۱</sup>

۱- استادیار، بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	کشف سویه‌های جدید با قابلیت‌های مفید صنعتی و دارویی و پرهیز از واردات سویه‌های میکروبی از سه منظر اقتصادی، پدافند غیرعامل و حفظ ذخایر ژنتیکی میکروبی کشور دارای اهمیت فراوان می‌باشد. حضور و فعالیت میکروبه‌های مناسب، عاملی ضروری برای موفقیت فرآیندهای تخمیری محسوب می‌شود. غذاها و نوشیدنی‌های تخمیری، یکی از مهم‌ترین و بهترین منابع و زیست‌بوم‌های طبیعی برای کشف سویه‌های مفید می‌باشد. در این پژوهش، نمونه‌هایی از سرکه خرما سنتی از بازار کرمان تهیه شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، مواد جامد محلول، فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی)، رئولوژیکی (شاخص قوام و اندیس جریان) و جمعیت میکروبی آن با کمک روش‌های مولکولی (ARDRA و توالی‌یابی ژن 16S rRNA) از نظر حضور باکتری‌های اسید استیک بررسی شد. حاصل این تحقیق، شناسایی دو گونه از باکتری‌های اسید استیک به نام‌های استوباکتر پاستوریانوس و کوماگاتئیباکتر اروپائوس بود. علاوه بر این سه باکتری لاکتوباسیلوس، پانیاسیلوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در نمونه‌های سرکه مشاهده گردید. از طرف دیگر مشخص شد که نمونه‌های مختلف سرکه از نظر بار میکروبی و نوع میکروبه‌های موجود با یکدیگر متفاوت می‌باشند که رقم خرما، روش تولید و سن سرکه از جمله دلایل احتمالی این تنوع می‌باشد. در نهایت، به کارگیری باکتری‌های اسید استیک شناسایی شده در این پژوهش به عنوان کشت آغازگر برای تولید سرکه میوه پیشنهاد می‌شود. این باکتری‌ها با کدهای FCC-10971 و FCC-10973 در کلکسیون میکروبه‌های غذایی دانشگاه شهید باهنر کرمان ذخیره شدند و قابل سفارش توسط سایر پژوهشگران می‌باشند.
تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۳۱	
کلمات کلیدی: خرما، تخمیر، سرکه، 16S rDNA، استوباکتر.	
DOI: 10.29252/fsct.18.01.15	
* مسئول مکاتبات: r-farimani@uk.ac.ir	

**۱- مقدمه**

پژوهشی دیگر ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۵) توانستند با کمک روش های بیوشیمیایی و مولکولی، حضور لاکتوباسیلوس برویس را در سرکه سیب و انگور شناسایی کنند [۱۷]. استاندارد ملی ایران به شماره ۳۵۵، پیرامون ویژگی های میکروبی سرکه (جمعیت کل، کپک و مخمر و باکتری های شاخص) حدود و مشخصاتی در اختیار قرار نمی دهد [۱۸]. به نظر می رسد یکی از دلایل اصلی این موضوع شمار اندک پژوهش های مرتبط منتشر شده، پیرامون کیفیت میکروبی انواع سرکه (سستی و صنعتی) در کشور می باشد. در این میان، سرکه خرما سستی در حجم محدود و با کیفیت متغیر تولید و به بازار عرضه می شود. بخش عمده این محصول ارزشمند در استان های تولید کننده خرما از جمله استان کرمان تولید می شود. در صورت معرفی سویه های میکروبی بومی و بازتعریف و طراحی فرآیند، می توان محصولی با کیفیت مناسب تولید و بازارهای مختلف داخلی و خارجی را پوشش داد. در حال حاضر هر کیلوگرم خرما صادراتی ایران در بازار بین المللی بین ۵۰ سنت تا شش دلار به فروش می رسد حال آنکه با احتساب بازده فیزیکی ۳۰۰ درصد، سرکه ای به ارزش تا ۴۰ دلار از هر کیلو خرما تولید می شود [۱۹].

هدف از این پژوهش، مطالعه کیفیت میکروبی، شیمیایی و رئولوژیکی سرکه خرما و به کارگیری این اطلاعات برای اصلاح استاندارد فعلی سرکه خرما و تعریف مشخصات میکروبی آن می باشد. جداسازی، شناسایی و ذخیره سازی سویه های میکروبی ارزشمند در کلکسیون میکروبی کشور و معرفی سویه ها به شرکت های تولید کننده سرکه، از دیگر اهداف این پژوهش است.

**۲- مواد و روش****۲-۱- نمونه برداری**

شش نمونه سرکه (A تا F) از بازار کرمان و یک نمونه سرکه (G) جهت مقایسه از بازار مشهد تهیه شد (جدول ۱).

انتخاب و جداسازی، قدیمی ترین رویکرد بشر برای کشف موجودات زنده مورد نیاز تلقی می شود. گونه های مختلفی از حیوانات، گیاهان و میکروبها در طی قرن ها انتخاب و به صورت بومی شده، مورد استفاده قرار گرفته اند [۲۰]. سرکه محصولی است که از تخمیر دو مرحله ای مواد قندی به دست می آید. در مرحله اول، ماده قندی توسط مخمر به اتانول تبدیل می شود؛ در مرحله بعد، اتانول با اثر میکروبهایی از خانواده باکتری های اسید استیک، به اسید استیک تبدیل می شود. ماده اولیه تولید سرکه بسیار متنوع می باشد و انواع میوه ها همچون انگور، سیب، انواع مواد نشاسته ای همچون جو، برنج و سایر منابع همچون نیشکر، عسل و الکل تقطیری برای این منظور استفاده می شود. خرما یکی از میوه هایی است که در تولید سرکه به کار می رود و به لحاظ تاریخی، غرب آسیا و شمال آفریقا، زادگاه سرکه خرما می باشد [۳-۵]. مطالعات گسترده ای پیرامون شناسایی جمعیت میکروبی سرکه صورت گرفته است. از جمله این پژوهش ها می توان به پژوهش های صورت گرفته روی سرکه بالزامیک [۶]، سرکه سیب [۸ و ۷]، سرکه خرمالو [۹]، سرکه توت فرنگی [۱۰]، سرکه غلات [۱۱-۱۳] و سرکه تهیه شده از الکل تقطیری [۱۴] اشاره کرد. از جمله پژوهش های صورت گرفته در کشور می توان به کار مقدمی و همکاران (۱۳۸۳) اشاره کرد [۱۵]. در این تحقیق، شناسایی تنها بر اساس ویژگی های کشتی صورت گرفت و نتیجه شناسایی دقیق نبود. رائی و همکاران (۱۳۹۳) فلور استیکی سرکه های خرما تهیه شده از دو شهر گرگان و تهران را بررسی نمودند [۱۶]. گرچه در این پژوهش ژن 16S rRNA تکثیر شد اما تنها به واکنش زنجیره ای پلیمرز و الکتروفورز اکتفا شد و در نتیجه تنها وابستگی جدایه های میکروبی به خانواده باکتری های اسید استیک به اثبات رسید. در این تحقیق، پیرامون شناسایی و تعیین جنس و گونه کاری صورت نگرفت. در

**Table 1** Specifications of traditional date vinegar with assigned code for each sample.

Code	Specifications
A	Three years old date vinegar made from Mazafati date cultivar (Bam, Iran)
B	Six years old date vinegar made from Mazafati date cultivar (Bam, Iran)
C	Date vinegar without specifications
D	Forty days old vinegar made from Karoot date cultivar (Anduhjerd, Iran)
E	Four month old vinegar made from Mazafati date cultivar (Bam, Iran)
F	Date vinegar without specifications
G	Three years old date vinegar with no specifications

ریزی بر سطح لام ایجاد می‌کند. برای تهیه کشت ذخیره، جدایه‌های خالص میکروبی در محیط کشت مشابه حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره و نگهداری شدند [۲۰ و ۲۱].

### ۲-۳- استخراج و خالص‌سازی DNA

استخراج و خالص‌سازی DNA ژنومی جدایه‌ها با کمک کیت دنازیست (DENazist Bacterial DNA) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام و تا زمان مطالعات ژنومی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

### ۲-۴- تکثیر ژن 16S rRNA

ژن 16S rRNA جدایه‌ها به کمک آغازگر پیش‌رو 27FYM و آغازگر پیرو 1492R تکثیر شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۳۰ میکرولیتر حاوی ۱۵ میکرولیتر MasterMix، یک میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پیش‌رو و پیرو، و مقدار ۱۳ میکرولیتر (حدود ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم) DNA بود. مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه تکثیر (واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، و بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه)، بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه اجرا شد. کیفیت محصول واکنش با ژل الکتروفورز روی آگارز یک درصد بررسی شد.

### ۲-۵- هضم آنزیمی ژن 16S rRNA تکثیر یافته و تحلیل آن

محصولات به دست آمده از تکثیر ژن 16S rRNA، دارای اندازه تقریباً یکسانی در باکتری‌های مختلف است ولی دارای الگوی برش متفاوت توسط آنزیم‌های محدودگر هستند که

### ۲-۲- کشت میکروبی، بررسی اولیه و جداسازی

#### جدایه‌ها

رقت‌سازی سریالی نمونه‌های سرکه با رقیق‌کننده آب پیتونه (۲/۱ pH = ۷/۰ ±) انجام شد. از هر رقت (صفر تا ۱۰<sup>-۳</sup>) در دو تکرار به مقدار یک دهم میلی‌لیتر به سطح محیط کشت GYC آگار (گلوکز، عصاره مخمر، کربنات کلسیم) برای رشد باکتری‌های اسید استیک و محیط کشت YGC آگار (عصاره مخمر، گلوکز، کلرامفنیکل، آگار) برای مخمر، منتقل و با کمک سوآب پخش شد. گرمخانه‌گذاری در شرایط هوازی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت (برای باکتری‌ها) و ۵ روز (برای مخمرها) انجام شد. وضعیت ظاهری کلنی‌ها و ایجاد هاله روشن (مربوط به تولید اسید) روی محیط کشت GYC بررسی و به همراه نتایج شمارش جمعیت میکروبی ثبت شد. پس از شمارش کلنی‌های رشد یافته روی دو محیط کشت GYC و YGC و انجام سه مرحله کشت خطی پایایی، مشاهده میکروسکوپی انجام شد تا از خلوص جدایه‌ها از نظر شکل ظاهری اطمینان حاصل شود. برای این منظور از روش رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد. شکل (کروی یا میله‌ای)، آرایش سلولی (تک، دوتایی، زنجیری، خوشه‌ای، ...)، اندازه (تمایز باکتری از مخمر) و در نهایت خلوص ظاهری جدایه‌ها با کمک میکروسکوپ نوری بررسی شد. علاوه بر این، آزمون کاتالاز در مورد باکتری‌ها انجام شد. برای اجرای آزمون کاتالاز، مقداری از کلنی میکروبی با کمک چوب خلال استریل برداشته و به روی لام شیشه‌ای منتقل شد. یک قطره آب اکسیژنه (سه درصد) روی کلنی ریخته شد و پس از چند ثانیه، تشکیل یا عدم تشکیل حباب مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که باکتری مورد آزمایش، دارای آنزیم کاتالاز باشد، با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، حباب‌های

۰/۱ نرمال و شناساگر فنل فتالین تعیین و اسیدیته بر حسب درصد اسید استیک در ۱۰۰ میلی لیتر سرکه گزارش شد.

## ۲-۸- مواد جامد محلول

مواد جامد محلول نمونه های سرکه با استفاده از یک دستگاه رفرکتومتر (2WJ, OPTIKA, Italy) در دمای °C ۲۰ اندازه گیری شد و بر حسب درجه بریکس گزارش گردید.

## ۲-۹- اندازه گیری فنول کل

برای اندازه گیری ترکیبات فنولی موجود در نمونه های سرکه از روش ارائه شده توسط تاگا و همکاران (۱۹۸۴) پس از برخی اصلاحات استفاده شد. بدین منظور ابتدا نمونه های سرکه به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ g با کمک سانتریفیوژ (Sigma, 3-30K, Germany) صاف شد. سپس به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول صاف شده ۷۵۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰ و ۷۵۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۶ درصد افزوده شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه دور از تابش مستقیم نور، جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (2802, UNICO, China) در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت [۲۳].

## ۲-۱۰- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

ظرفیت مهار رادیکال های آزاد توسط نمونه های سرکه با استفاده از روش DPPH اندازه گیری شد. بدین منظور پس از جدا کردن ذرات معلق موجود در نمونه های سرکه به کمک سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ g، به ۶۰۰ میکرولیتر از نمونه صاف شده و رقیق شده به نسبت ۱ به ۵، ۶۰۰ میکرولیتر معرف DPPH ۰/۲ میلی مولار افزوده شد و پس از گذشت ۱۵ دقیقه نگهداری در محیط تاریک، جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد [۲۴]. فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب درصد مهار کنندگی از رابطه زیر به دست آمد.

$$100 \times ((\text{جذب شاهد} / \text{جذب نمونه}) - 1) = \text{فعالیت آنتی اکسیدانی} (\%)$$

## ۲-۱۱- اندازه گیری ویژگی های رئولوژیکی

اندازه گیری ویسکوزیته با استفاده از یک دستگاه ویسکومتر (DV3T, Brookfield, USA) در سرعت های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ rpm و دمای °C ۲۰ انجام شد. ویسکوزیته

می توان از این ابزار برای تمایز بین گونه ها و جنس های مختلف استفاده کرد. به منظور تحلیل قطعات محدود شده (برشی) DNA ریبوزومی تکثیر یافته (ARDRA<sup>1</sup>)، محصول واکنش زنجیره ای پلیمرز به صورت جداگانه به کمک آنزیم های برشی Hinfl و TaqI (ThermoScientific, USA) هضم شد. واکنش هضم آنزیمی حاوی آنزیم به حجم ۱ میکرولیتر (10 U/μL)، بافر (10X) به حجم ۲ میکرولیتر، آب با درجه مولکولی به حجم ۷ میکرولیتر و محصول واکنش زنجیره ای پلیمرز به حجم ۱۰ میکرولیتر (تقریباً ۰/۱ تا ۰/۵ میکروگرم DNA) اجرا شد. میکروتیوب های حاوی آنزیم برشی Hinfl به مدت ۱۲۰-۹۰ دقیقه داخل حمام آب گرم (۳۷ درجه سانتی گراد) قرار گرفت. میکروتیوب های حاوی آنزیم برشی TaqI به مدت ۱ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محصول حاصل از واکنش هضم هر کدام از آنزیم ها به کمک الکتروفورز و استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد و شرایط ۸۰ ولت به مدت ۹۰ دقیقه از یکدیگر جدا شد. در نهایت ژل ها با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و تحت تابش ماوراء بنفش عکس برداری شد. خط کش مولکولی 100 bp (سیناژن، ایران) برای مقایسه و تعیین اندازه ژن 16r RNA تکثیر شده و محصولات هضم آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

## ۲-۶- توالی یابی و مقایسه توالی های 16S

### rDNA

نماینده هریک از انگشت نگاره های مختلف ARDRA انتخاب شد. محصول واکنش PCR جدایه های منتخب با حجم ۳۰ میکرولیتر برای خالص سازی و توالی یابی با واسطه شرکت تکاپوزیست به شرکت بایونیر (کره جنوبی) ارسال شد. توالی یابی با کمک آغازگر 27FYM اجرا شد. توالی های بدست آمده با اندازه متوسط ۷۵۰ جفت باز با توالی های موجود در بانک ژن مقایسه شدند [۲۲].

## ۲-۷- اندازه گیری pH و اسیدیته

اندازه گیری pH نمونه های سرکه با استفاده از یک دستگاه pH متر دیجیتال (زاگ شیمی، ایران) انجام شد. مقدار اسیدیته با روش تیتراسیون به کمک محلول استاندارد هیدروکسید سدیم

1. Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis

در مجموع ۳۱ جدایه از نمونه‌های سرکه جدا شد. از سرکه‌های با کد D و E هر کدام ۹ جدایه، هفت جدایه از سرکه G، چهار جدایه از سرکه A و دو جدایه از سرکه F به دست آمد (جدول ۲). بر اساس مشاهدات میکروسکوپی، سه جدایه D5، D8 و D9 به گروه مخمرها تعلق داشت. به همین دلیل از مسیر شناسایی باکتری‌ها حذف شدند.

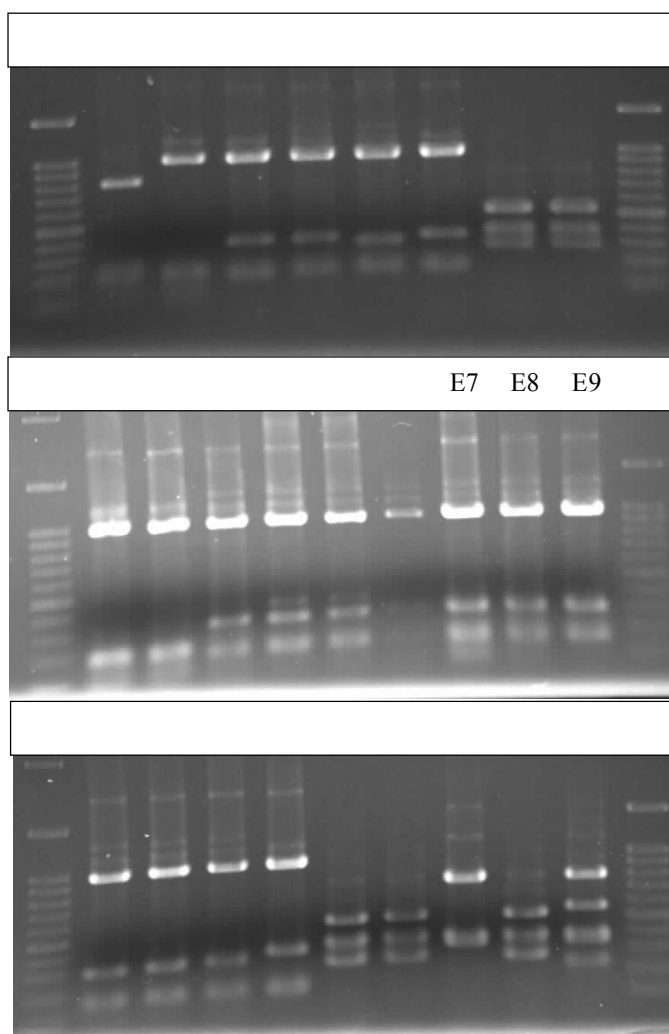
هر نمونه ۳ بار و با فاصله زمانی ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. سرعت برش و تنش برشی با استفاده از روش ارائه شده توسط میتسچکا (۱۹۸۲) به دست آمد [۲۵].

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- شناسایی باکتری‌ها

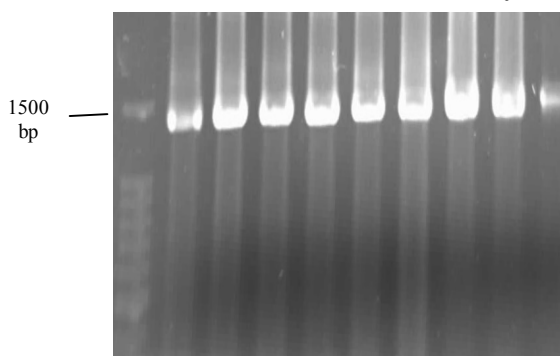
**Table 2** Number and coding of isolates obtained from different samples of date vinegar.

Code	A1-A4	D1-D9	E1-E9	F1-F2	G1-G7
Number	4	9	9	2	7



**Fig 2** ARDRA profiles of isolates with *HinfI* as restriction enzyme. (L) Molecular ladder.

ژن 16S rRNA جدایه‌های باکتریایی با اندازه تقریبی ۱۵۰۰ جفت باز (bp) به کمک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تکثیر شد و موفقیت واکنش توسط الکتروفورز ژل آگارز (شکل ۱) تایید گردید.



**Fig 1** Amplified 16S rRNA genes and 100 bp DNA ladder on 1% agarose gel.

الگوی هضم جدایه‌های باکتریایی با آنزیم‌های برشی *HinfI* و *TaqI* به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ به نمایش درآمده است. نتیجه گروه‌بندی الگوهای مشابه برشی در جدول ۳ ارائه شده است.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد، کلیه جدایه‌ها بر اساس برش ژن تکثیر یافته 16S rRNA با آنزیم *TaqI* به ۹ گروه مختلف تقسیم شدند. در حالی که همان جدایه‌ها بر اساس برش با آنزیم *HinfI* در ۱۱ گروه مختلف قرار گرفتند.

۲، ۵، ۶، ۷ و ۸ مشاهده می‌گردد. با این حال موقعیت برخی جدایه‌ها هنگام هضم با یک آنزیم در مقایسه با هضم با آنزیم دیگر، از یک گروه به گروه دیگر تغییر کرده است. از جمله این جدایه‌ها می‌توان به جدایه‌های D3، D4، D6، G3 و G7 اشاره کرد. این موضوع می‌تواند به دلیل تفاوت جنس و گونه جدایه مورد بررسی باشد. در نهایت ۱۲ جدایه (A1، A3، D1، D3، A1، A3، D1، D3، D6، F1، E1، E2، E6، G1، G3، G7) برای توالی‌یابی انتخاب شدند. جدایه A1 ابتدا به روی ژل آگارز برده شد و پس از برش قطعه حاوی DNA روی ژل و خالص سازی با کیت استخراج DNA از ژل (بیورون<sup>۲</sup>، آلمان) برای توالی‌یابی ارسال شد. سایر جدایه‌های منتخب نیز با حجم ۳۰ میکرولیتر و در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری، برای خالص سازی و توالی‌یابی به شرکت بایونیر فرستاده شدند.

کنترل کیفیت نمونه‌های DNA توسط شرکت بایونیر، بر نبود باند DNA مربوط به جدایه A1 دلالت داشت، به همین دلیل نمونه جدایه مذکور توالی‌یابی نشد. کیفیت توالی به دست آمده از دو جدایه E2 و G1 نیز پایین بود<sup>۳</sup> و شناسایی دو جدایه میسر نشد. مقایسه توالی جدایه‌های توالی‌یابی شده با توالی‌های ثبت شده در بانک ژن و نتیجه شناسایی در جدول ۴ ارائه شده است.

دو باکتری استوباکتر و کوماگاتئیباکتر جزو باکتری‌های اسید استیک می‌باشند. توالی مربوط به جدایه A3 شباهتی ۱۰۰ درصدی به استوباکتر قانسسیس<sup>۴</sup> و استوباکتر سیزیگی<sup>۵</sup> دارد. استوباکتر قانسسیس در تخمیر دانه کاکائو نقش دارد [۲۶]. کوماگاتئیباکتر شناسایی شده با درصد مشابهت ۱۰۰ درصد و حداکثر امتیاز<sup>۶</sup> ۱۰۳۵، به عنوان کوماگاتئیباکتر اروپائوس<sup>۷</sup> معرفی گردید. پس از این باکتری، گونه‌های دیگر کوماگاتئیباکتر شامل گونه‌های ساکارایورانس<sup>۸</sup>، زایلینوس<sup>۹</sup>، ابوادینس<sup>۱۰</sup>، سوکروفرمیتانس<sup>۱۱</sup>، اینترمدیوس<sup>۱۲</sup> و ناتائیکولا<sup>۱۳</sup> با شباهت ۹۹ درصد و حداکثر امتیاز ۱۰۰۷ قرار می‌گیرند.

2. Bioron
3. Multiple signal
4. *Acetobacter ghanensis*
5. *Acetobacter syzygii*
6. Max score
7. *Komagataeibacter europaeus*
8. *Komagataeibacter saccharivorans*
9. *Komagataeibacter xylinus*
10. *Komagataeibacter oboediens*
11. *Komagataeibacter sucrofermentans*
12. *Komagataeibacter intermedius*
13. *Komagataeibacter nataicola*

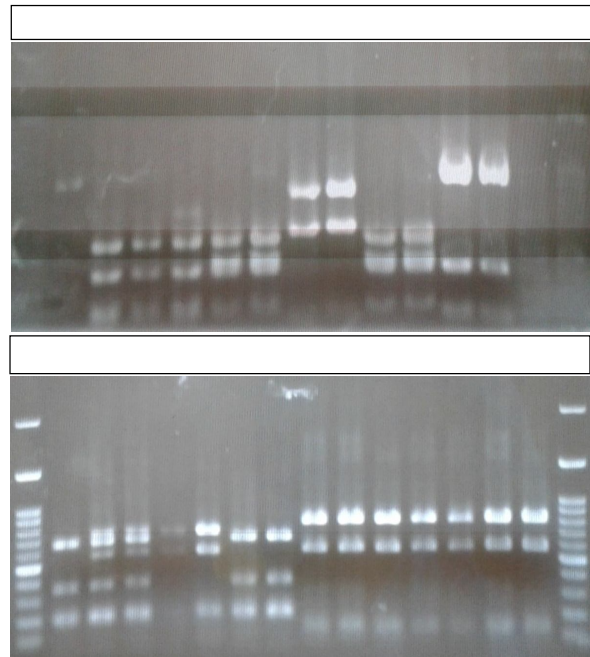


Fig 3 ARDRA profiles of isolates with TaqI as restriction enzyme. (L) Molecular ladder.

Table 3 Grouping of isolates according to restriction profile similarity

Group No.	Hinfl	TaqI
1	A1	A1
2	A2, A3, A4	A2, A3, A4
3	D1, D2, D3, D4, D7	D1, D2, D6, D7
4	D6	D3, D4
5	F1, F2	F1, F2
6	E1, E8, E9	E1, E8, E9
7	E2, E3	E2, E3
8	E6, E7	E6, E7
9	G1, G2, G4, G5, G6	G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7
10	G3	----
11	G7	----

موضوع دیگر به نحوه قرارگیری جدایه‌ها در گروه‌های مختلف مربوط می‌شود. به گونه‌ای که اعضای هر گروه تنها به نمونه سرکه خاصی تعلق دارد و هیچ گروهی از اعضای حداقل دو نمونه سرکه مختلف تشکیل نشده است. مقایسه توانایی گروه-بندی دو آنزیم Hinfl و TaqI نیز نشان می‌دهد که در اغلب موارد، جدایه‌های مختلفی که الگوی مشابهی در هضم آنزیمی با یک آنزیم داشته‌اند و در یک گروه قرار گرفته‌اند، در هضم با آنزیم دیگر نیز همچنان در یک گروه قرار دارند و بنابراین احتمالاً به جنس و گونه مشابهی تعلق دارند. این موضوع در گروه‌های ۱،

**Table 4** Identified isolates based on sequencing of amplified 16S rRNA gene

Code	Name	Similarities (%)	FCC No.*
A3	<i>Acetobacter ghanensis</i> or <i>A. syzygii</i>	100%	FCC-10972
D1	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	100%	FCC-10971
D6	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	100%	-----
E1	<i>Komagataeibacter europaeus</i>	100%	FCC-10973
E6	<i>Lactobacillus</i> sp.	100%	FCC-10974
F1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100%	FCC-10975
G3	<i>Paenibacillus</i> sp.	100%	FCC-10976
G7	<i>Paenibacillus</i> sp.	100%	-----

\* FCC stand for Food Culture Collection of Shahid Bahonar University of Kerman.

از درخت برداشت می‌شود و در ادامه تفکیک، درجه‌بندی، چیدن و بسته‌بندی خرما توسط کارگران و به صورت دستی انجام می‌شود، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس که بومی پوست دست است، به خرما منتقل می‌شود.

### ۳-۲- ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی

ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی نمونه‌های سرکه مورد مطالعه در این پژوهش در جدول ۵ ارائه شده است. اندازه‌گیری pH نمونه‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار pH به ترتیب مربوط به سرکه‌های با کد D و C بود. در مورد اسیدیته نمونه‌ها، بیشترین و کمترین مقدار اسیدیته به ترتیب در سرکه‌های D و F با اسیدیته ۱۲/۶۶ و ۲/۵۷ گرم اسید استیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر سرکه مشاهده شد. تفاوت قابل ملاحظه در میزان اسیدیته سرکه‌ها علیرغم تفاوت جزئی در pH آن‌ها می‌تواند به علت وجود یون‌ها و ترکیبات با خاصیت بافری موجود در سرکه خرما باشد. با توجه به این‌که مطابق با استاندارد ملی ایران حداقل میزان اسید در سرکه باید بیش از ۵ درصد باشد، بنابراین میزان اسیدیته سرکه‌های با کد A، E و F کمتر از حد استاندارد و غیر قابل قبول است [۱۸]. مطلوب (2014) در پژوهشی، روند تولید و ویژگی‌های سرکه خرما را مطالعه کرد. بر اساس نتایج این تحقیق، سرکه با اسیدیته ۶/۶ درصد به دست آمد [۳۰].

بررسی ترکیبات جامد محلول موجود در نمونه‌های سرکه نشان می‌دهد که سرکه‌های موجود در بازار از نظر میزان ترکیبات محلول به شدت با یکدیگر تفاوت دارند و لذا از این حیث به روزرسانی استانداردهای سرکه تخمیری ضروری می‌باشد. بیشترین مقدار مواد جامد محلول مربوط به سرکه کد B و کمترین آن مربوط به کد E می‌باشد. بالا بودن مواد جامد محلول

گونه کوماگاتئیباکتر اروپائوس در منابع قدیمی با نام استوباکتر اروپائوس ذکر شده است که نام آن در سال ۱۹۹۸ میلادی به گلوکونواستوباکتر اروپائوس و سپس در سال ۲۰۱۳ میلادی به کوماگاتئیباکتر اروپائوس تغییر یافت [۲۷]. دو باکتری استوباکتر پاستوریانوس و کوماگاتئیباکتر اروپائوس جزو باکتری‌هایی هستند که حضورشان در سرکه‌های بالزامیک، توت فرنگی و خرمالو گزارش شده است [۶، ۹، ۱۰ و ۱۲]. توالی جدایه E6 شباهتی ۱۰۰ درصدی با سه گونه لاکتوباسیلوس به نام‌های لاکتوباسیلوس زئی<sup>۱۴</sup>، لاکتوباسیلوس کیسی<sup>۱۵</sup> و لاکتوباسیلوس رامنوسوس<sup>۱۶</sup> دارد. علاوه بر این شباهت توالی این جدایه به سه گونه لاکتوباسیلوس پاراکسیسی<sup>۱۷</sup>، لاکتوباسیلوس برویس<sup>۱۸</sup> و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۱۹</sup> برابر ۹۹ درصد می‌باشد. به نظر می‌رسد علاوه بر توالی‌یابی با آغازگر 1492R، باید از روش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برای تشخیص دقیق گونه استفاده کرد. لاکتوباسیلوس از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک است که در سرکه انگور و سرکه سیب نیز مشاهده شده است [۸ و ۱۷]. جدایه‌های G3 و G7 به عنوان پانیاسیلوس<sup>۲۰</sup> شناسایی شدند. در بین گونه‌های مختلف این جنس، گونه پانیاسیلوس استی<sup>۲۱</sup> در تخمیر سرکه غلات چینی گزارش شده است [۲۸]. جدایه F1 با شباهت ۱۰۰ درصد، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌باشد. در پژوهشی که پیش از این انجام شده، مشخص شده که این باکتری در خرما حضور دارد [۲۹]. از آنجایی که خرما به صورت دستی

14. *Lactobacillus zeae*
15. *Lactobacillus casei*
16. *Lactobacillus rhamnosus*
17. *Lactobacillus paracasei*
18. *Lactobacillus brevis*
19. *Lactobacillus acidophilus*
20. *Paenibacillus*
21. *Paenibacillus aceti*

F که پایین ترین قدرت مهار کنندگی رادیکال های آزاد را دارد مشاهده می گردد. در پژوهشی رابطه بین خواص شیمیایی، فیزیکی و کیفی ۱۹ نمونه سرکه بالزامیک مورد مطالعه قرار گرفت و همان گونه که انتظار می رفت، نشان داده شد قدرت مهار کنندگی رادیکال های آزاد در سرکه نه تنها با ترکیبات فنولی موجود در آن وابسته است بلکه این ویژگی به دیگر خصوصیات کیفی نمونه ها نیز بستگی دارد [۳۱]. کیم و همکاران (۲۰۱۲) نیز ویژگی های فیزیکوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی چند نمونه نوشیدنی سرکه ای موجود در بازار کره جنوبی را بررسی کردند و نشان دادند نمونه با بالاترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی بیشترین مقدار ترکیبات فنولی را نیز دارا می باشد [۳۲].

در برخی نمونه ها نشان دهنده میزان قابل توجهی ترکیبات قندی تخمیر نشده در سرکه می باشد. از این جهت نیز بررسی و بهینه سازی مقدار مواد جامد محلول قبل از تخمیر حائز اهمیت می باشد.

ارزیابی خاصیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH توسط سرکه خرما نشان داد نمونه های کد B و F با ۷۳/۰۳ و ۱۱/۱۴٪ بازدارندگی به ترتیب بیشترین و کمترین میزان مهار کنندگی را دارا بودند. با توجه به بالا بودن مقدار ترکیبات فنولی در سرکه کد B (۲۰۵/۴۱ میلی گرم گالیک اسید در صد گرم) می توان نتیجه گرفت که بخش قابل توجهی از خاصیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد مربوط به ترکیبات فنولی موجود در نمونه ها می باشد. از طرفی کمترین میزان ترکیبات فنولی نیز در نمونه کد

**Table 5** Physiochemical characteristics of traditional date vinegar samples.

Samples code	pH	Total acidity (g/100ml)	TSS (° Brix)	AA (%)	TPC (mg GAE/100 g)
A	3.75±0.01 <sup>e</sup>	4.37±0.19 <sup>d</sup>	7.73±0.05 <sup>e</sup>	67.09±5.07 <sup>ab</sup>	143.63±7.64 <sup>c</sup>
B	3.83±0.01 <sup>c</sup>	5.85±0.08 <sup>c</sup>	28.21±0.04 <sup>a</sup>	73.03±3.05 <sup>a</sup>	205.41±10.70 <sup>a</sup>
C	3.71±0.01 <sup>f</sup>	9.45±0.13 <sup>b</sup>	11.13±0.03 <sup>d</sup>	56.37±4.04 <sup>c</sup>	207.50±3.53 <sup>a</sup>
D	4.08±0.02 <sup>a</sup>	12.66±0.32 <sup>a</sup>	19.24±0.03 <sup>b</sup>	68.31±3.76 <sup>ab</sup>	125.51±6.19 <sup>d</sup>
E	3.79±0.01 <sup>d</sup>	4.56±0.17 <sup>d</sup>	6.60±0.06 <sup>f</sup>	45.46±4.68 <sup>d</sup>	105.61±3.57 <sup>e</sup>
F	3.90±0.02 <sup>b</sup>	2.57±0.07 <sup>e</sup>	15.25±0.05 <sup>c</sup>	11.14±2.12 <sup>e</sup>	82.76±6.77 <sup>f</sup>
G	3.76±0.01 <sup>e</sup>	5.85±0.20 <sup>c</sup>	6.27±0.01 <sup>g</sup>	65.87±0.99 <sup>b</sup>	156.15±4.08 <sup>b</sup>

TSS: Total soluble solid, AA: Antioxidant activity, TPC: Total phenolic compounds.  
Each value in the table represents the mean ±standard deviation of triplicate analysis.  
Means in the same column followed by the same letters are not significantly different

همان گونه که در جدول ۵ مشاهده می شود نمونه کد F دارای کمترین میزان اسیدیته می باشد. پایین بودن اسیدیته احتمالاً نشان دهنده میزان کمتر تخمیر در نمونه و در نتیجه تغییر کمتر ترکیبات طبیعی موجود در خرما می باشد. بررسی شاخص قوام در نمونه های مختلف نشان می دهد که بیشترین و کمترین میزان شاخص قوام به ترتیب به نمونه های کد F و E مربوط است. با مقایسه نتایج جدول ۵ و ۶ مشاهده می شود که نمونه با بیشترین شاخص قوام دارای بیشترین مقدار مواد جامد محلول در بین نمونه های مورد مطالعه است. همچنین نمونه با کمترین شاخص قوام نیز دارای محتوی مواد جامد محلول کمی می باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که بین میزان مواد جامد محلول و شاخص قوام نمونه های سرکه رابطه مستقیمی وجود دارد. فالکن و همکاران (۲۰۰۷) رفتار رئولوژیکی سرکه سنتی بالزامیک را مورد ارزیابی قرار داده و بیان کردند که ویژگی های رئولوژیکی سرکه

### ۳-۳- خواص رئولوژیکی

مطالعه رفتار جریانی نمونه های سرکه با هدف بررسی اثر خصوصیات فیزیکوشیمیایی سرکه بر خواص رئولوژیکی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تغییرات تنش برشی در برابر سرعت برش در نمونه های مختلف سرکه در شکل ۴ نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود سرکه های مورد مطالعه رفتار غلیظ شونده با برش از خود نشان می دهند و با افزایش سرعت برش ویسکوزیته ظاهری آن ها افزایش می یابد. شاخص قوام (K) و اندیس جریان (n) سرکه های مورد ارزیابی در جدول ۶ ارائه شده است. اندیس جریان در تمام نمونه ها به جز نمونه کد F بزرگ تر از ۱ است که نشان دهنده رفتار غلیظ شونده با برش می باشد. کمتر بودن اندیس جریان در نمونه کد F می تواند به علت تفاوت در ترکیب شیمیایی این نمونه با دیگر نمونه ها باشد.



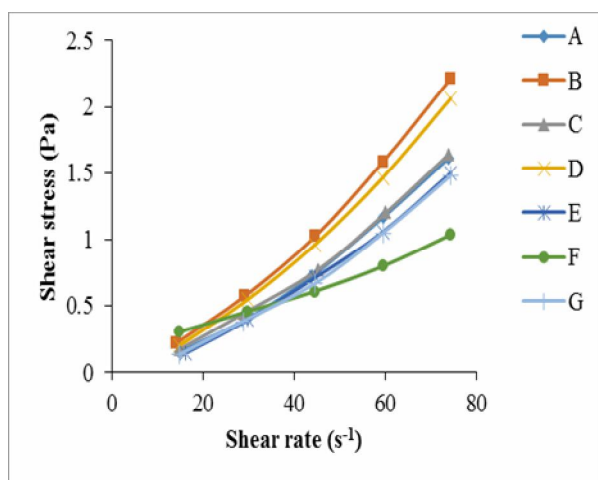


Fig 4 The relationship between shear rate and shear stress of traditional date vinegar samples

بالزامیک تحت تاثیر ترکیب شیمیایی آن قرار دارد. در پژوهش این محققان نشان داده شد که ویسکوزیته نمونه‌های سرکه با افزایش میزان قند گلوکز موجود در نمونه‌ها افزایش می‌یابد [۳۳]. در مطالعه دیگری رفتار رئولوژیکی یک نمونه سرکه مورد بررسی قرار گرفت و بیان شد که این سرکه تخمیری رفتار غلیظ شونده با برش دارد و با گذشت زمان رفتار آن به سمت نیوتونی تغییر می‌کند. همچنین این محققان نشان دادند که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی سرکه از قبیل مواد جامد محلول، اسیدیته، ترکیبات قندی و مواد کلوئیدی رفتار رئولوژیکی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۳۴].

Table 6 Consistency coefficient (K) and flow behavior index (n) of the traditional date vinegar samples.

Samples code	K (Pa s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
A	0.0029	1.4649	0.9994
B	0.0052	1.3994	0.9993
C	0.0037	1.4144	0.9991
D	0.0042	1.4350	0.9999
E	0.0021	1.5330	0.9986
F	0.0364	0.7587	0.9823
G	0.0024	1.4883	0.9986

نمونه‌ها مشاهده شد. قابلیت‌های فناوریانه شماری از باکتری‌های شناسایی شده در این پژوهش، به کارگیری آن‌ها به صورت آغازگر در تولید فرآورده‌های تخمیری همچون سرکه را امکان‌پذیر می‌کند. بررسی جمعیت باکتریایی سرکه‌های خرمای سستی نشان داد که نوع باکتری موجود در محصول از یک نمونه به نمونه دیگر متفاوت است. این تفاوت می‌تواند به علت تفاوت در ماده اولیه، فرآیند تولید و نیز سن سرکه باشد. تنوع زیستی مشاهده شده در نمونه‌های مورد بررسی، گویای تنوع زیستی بسیار وسیع در سرکه خرماسست و پژوهش‌های بیشتر را می‌طلبد. در این تحقیق، از رویکردی مبتنی بر کشت استفاده شد. امکان ذخیره‌سازی جدایه‌ها و مطالعه بعدی یا معرفی آن به صنایع تخمیری و نیز امکان مطالعه ویژگی‌های بیوشیمیایی/فیزیولوژیکی و کشف ویژگی‌های مفید فناوریانه از جمله مزایای این رویکرد است. به هر حال برخی باکتری‌ها ممکن است روی محیط کشت‌هایی که در حال حاضر در منابع علمی معرفی شده‌اند یا در بازار موجود است، رشد نکنند و قابل بازیابی نباشند؛ به همین

## ۴- نتیجه‌گیری

دلایل متعددی را می‌توان برای اقبال به جداسازی و به کارگیری سویه‌های میکروبی از منابع طبیعی برشمرد. سازگاری میکروب با یک زیست‌بوم مشخص و توانایی مصرف و برآورده کردن نیازها از طریق فعالیت در ماده غذایی معین بدون نیاز به افزودن ترکیبات شیمیایی خاص به عنوان کمک رشد، سابقه طولانی مصرف ماده غذایی تخمیری و تاکید ضمنی بر ایمن بودن فرآورده، عدم نیاز به دستکاری ژنتیکی و امکان انطباق‌پذیری محصول با الزامات تولید ارگانیک، از جمله این دلایل است. مقدار pH اغلب نمونه‌های مورد بررسی در محدوده ۳/۷ تا ۳/۹ بود. از هفت نمونه مورد بررسی، اسیدیته ۴ نمونه بالاتر از حد استاندارد ۵ درصد بود. اسیدیته دو نمونه نیز نزدیک به ۴/۵ بود. با این حال یک نمونه دارای اسیدیته بسیار پایین ۲/۵ درصد بود که این موضوع احتمالاً به دلیل مشکل در تخمیر یا تخمیر ناقص می‌باشد. از منظر رئولوژیکی، رفتار غلیظ شونده با برش در کلیه

- acid bacteria in "traditional balsamic vinegar". *International Journal of Food Microbiology* 106: 209-212.
- [7] Fernández-Pérez, R., Torres, C., Sanz, S., and Ruiz-Larrea, F. 2010. Strain typing of acetic acid bacteria responsible for vinegar production by the submerged elaboration method. *Food Microbiology*, 27: 973-978.
- [8] Trcek, J., Mahnic, A., and Rupnik, M. 2016. Diversity of the microbiota involved in wine and organic apple cider submerged vinegar production as revealed by DHPLC analysis and next-generation sequencing. *International Journal of Food Microbiology*, 223: 57-62.
- [9] Hidalgo, C., Mateo, E., Mas, A., and Torija, M.J. 2012. Identification of yeast and acetic acid bacteria isolated from the fermentation and acetification of persimmon (*Diospyros kaki*). *Food Microbiology*, 30: 98-104.
- [10] Valera, M.J., Toija, M.J., Mas, A., and Mateo, E. 2015. Acetic acid bacteria from biofilm of strawberry vinegar visualized by microscopy and detected by complementing culture-dependent and culture-independent techniques. *Food Microbiology*, 46: 452-462.
- [11] Haruta, S., Ueno, S., Egawa, I., Hashiguchi, K., Fujii, A., Nagano, M., Ishii, M., and Igarashi, Y. 2006. Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, 109: 79-87.
- [12] Wu, J.J., Gullo, M., Chen, F.S., and Giudici, P. 2010. Diversity of *Acetobacter pasteurianus* strains isolated from solid-state fermentation of cereal vinegars. *Current Microbiology*, 60: 280-286.
- [13] Wu, J.J., Ma, Y.K., Zhang, F.F., and Chen, F.S. 2012. Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of "Shanxi aged vinegars", a traditional Chinese vinegar. *Food Microbiology*. 30: 289-297.
- [14] Trcek, J. and Raspor, P. 1999. Molecular characterization of acetic acid bacteria isolated from spirit vinegar. *Food Technology and Biotechnology*. 37(2): 113-116.
- [15] Moghaddami F., Soudi M., Rezvanian zadeh M., and sepehr. S.H. 2004. Isolation of acetic acid bacteria from vinegar and evaluate

دلیل امکان شناسایی آنها مقدور نباشد. علاوه بر این چون فرآیند تخمیر، امری پویاست، یک یا چند میکروب در طول زمان تخمیر جای خود را به میکروب (های) دیگر می دهند. بنابراین ممکن است بررسی جمعیت میکروبی ماده در حال تخمیر در زمان های مختلف به نتایج متفاوتی از حیث میکروب های شناسایی شده بیانجامد. موضوع دیگر عدم کشف و شناسایی میکروب هایی با درصد پایین از کل جمعیت است. به همین دلیل استفاده از رویکردهای مستقل از کشت و بررسی پویایی جمعیت در طول زمان تخمیر برای پژوهش های آتی پیشنهاد می شود. علاوه بر این بهتر است برای بررسی جمعیت (شمارش) و جداسازی باکتری ها به جای شمارش استاندارد صفحه ای از روش فیلتر غشایی برای محصولاتی همچون سرکه استفاده شود. از طرف دیگر در صورت استفاده از رویکرد مبتنی بر کشت بهتر است یک مرحله غنی سازی اولیه نیز در برنامه کاری در نظر گرفته شود.

## ۵- تشکر و سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان بابت تامین اعتبار این پژوهش در قالب طرح بدو استخدام (شماره ۷۷/۴۱/م پ و ۸۱/۴۱/م پ) تشکر می شود.

## ۶- منابع

- [1] Hutkins, R. 2019. *Microbiology and technology of fermented foods*. Wiley Blackwell.
- [2] Schisler, D. and Slininger, P. 1997. Microbial selection strategies that enhance the likelihood of developing commercial biological control products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19 (3): 172-179.
- [3] Conner, H.A. and Allgeier, R.J. 1976. *Vinegar: Its history and development*, *Advances in Applied Microbiology*, 20: 81-133.
- [4] Forbes, R.J. 1993. *Studies in Ancient Technology*. Page 78. Brill, Netherlands.
- [5] Solieri, L. and Giudici, P. 2009. *Vinegars of the World*. Springer, Italy.
- [6] Gullo, M., Caggia, C., De Vero, L., and Giudici, P. 2006. Characterization of acetic

- beans. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 57(7), 1647-1652.
- [27] <https://lpsn.dsmz.de/species/acetobacter-europaeus>
- [۲۸] Li, P., Lin, W., Liu, X., Li, S., Luo, L., and Lin, W.T. 2016. *Paenibacillus aceti* sp. nov., isolated from the traditional solid-state acetic acid fermentation culture of Chinese cereal vinegar. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 66(9): 3426-3431.
- [۲۹] Nosratabadi, L., Kavousi, H.R., Hajimohammadi-Farimani, R., and Balvardi, M. 2019. Study of microbial population in date fruit cultivars of Estamaran, Zahedi, Shahani, Kabkab, Mordarsang, Mazafati and Halileh. Iranian Journal of Food Science and Technology, 89 (16): 275-285. (Persian)
- [30] Matloob, M.H. 2014. Zahdi Date Vinegar: Production and Characterization. American Journal of Food Technology, 9: 231-245.
- [31] Masino, F., Chinnici, F., Bendini, A., Montevecchi, G., and Antonelli, A. 2008. A study on relationships among chemical, physical, and qualitative assessment in traditional balsamic vinegar. Food chemistry, 106(1): 90-95.
- [32] Kim, S.H., Cho, H.K., and Shin, H.S. 2012. Physicochemical properties and antioxidant activities of commercial vinegar drinks in Korea. Food Science and Biotechnology, 21(6): 1729-1734.
- [33] Falcone, P.M., Chillo, S., Giudici, P., and Del Nobile, M.A. 2007. Measuring rheological properties for applications in quality assessment of traditional balsamic vinegar: description and preliminary evaluation of a model. Journal of food engineering, 80(1): 234-240.
- [34] Zhu, H., Qiu, J., and Li, Z. 2016. Determination of rheological property and its effect on key aroma release of Shanxi aged vinegar. Journal of food science and technology, 53(8): 3304-3311.
- them thermal stability. Journal of Science-University of Tehran. 30(3):549-541. (Persian)
- [16] Rasi, F., Khomeiri, M., Jafari, S.M., Kashani nejad, M., and Sadeghi, A. 2014. Application of A PCR Molecular Method to Identify the Acetic Acid Flora of Date Vinegar. 22<sup>nd</sup> Iranian National Congress of Food Science and Technology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (Persian)
- [17] Ebrahimi, Z., Esmaeili, A., Sadat Ahmadi, T., Emami, H., and Rabbani, M. 2016. Isolation and molecular identification of *Lactobacillus brevis* from traditional vinegar. Biological journal of Microorganisms, 5 (18): 95-106. (Persian)
- [18] Vinegar- Specifications. 2012. Iranian National Standard Organization, ISIRI No. 355. (Persian)
- [19] [www.alibaba.com](http://www.alibaba.com)
- [20] Harrigan, W.F. 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology, Academic Press. USA.
- [21] Brown, A. and Smith, H. 2015. Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology, McGraw-Hill Education, USA.
- [22] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- [23] Taga M.S., Miller E., and Pratt D. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. Journal of the American Oil Chemists' Society 61: 928-931.
- [24] Wong P,Y. and Kitts D.D., 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. Food Chemistry, 97(3): 505-515.
- [25] Mitschka, P. 1982. Simple conversion of Brookfield RVT readings into viscosity functions. Rheologica Acta, 21(2): 207-209.
- [26] Cleenwerck, I., Camu, N., Engelbeen, K., De Winter, T., Vandemeulebroecke, K., De Vos, P., and De Vuyst, L. 2007. *Acetobacter ghanensis* sp. nov., a novel acetic acid bacterium isolated from traditional heap fermentations of Ghanaian cocoa



## Investigation of physicochemical properties and identification of dominant bacteria in several samples of traditional date vinegar

Hajimohammadi Farimani, R.<sup>1\*</sup>, Balvardi, M.<sup>1</sup>

1. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 11 November 2019 Accepted 21 September 2020</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Dates, Fermentation, Vinegar, 16S rDNA, <i>Acetobacter</i>.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.29252/fsct.18.01.15</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: r-farimani@uk.ac.ir</p>	<p>Discovering new strains with useful industrial and pharmaceutical capabilities and avoiding the import of microbial strains from three economic perspectives, passive defense and conservation of the country's microbial genetic resources are of great importance. The presence and activity of appropriate microbes is an essential factor in the success of fermentation processes. Fermented foods and beverages are among the most important and best natural sources for discovering useful strains. In this study, samples of traditional date vinegar were obtained from Kerman market and their physicochemical (pH, acidity, total soluble solid, total phenolic compounds, and antioxidant activity) and rheological properties (consistency coefficient and flow behavior index) were investigated, also their microbial population were assessed by molecular methods (ARDRA and 16S rRNA gene sequencing) for the presence of acetic acid bacteria. The result of this study was to identify two species of acetic acid bacteria, namely <i>Acetobacter pasteurianus</i> and <i>Komagataeibacter europaeus</i>. In addition, <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Paenibacillus</i> sp. and <i>Staphylococcus epidermidis</i> were detected in vinegar samples. On the other hand, vinegar sample were different in terms of microbial load and the type of available microbes. Date cultivar, production method and vinegar age are the possible causes of this variations. Finally, the application of acetic acid bacteria identified in this study as starter culture for fruit vinegar production is suggested. These bacteria were stored with FCC-10971 and FCC-10973 codes in the Food Culture Collection of Shahid Bahonar University of Kerman and can be ordered by other researchers.</p>