

بررسی تولید و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی سرکه خرمای استعمران

لیلا بهبهانی*^۱، مریم رواقی^۲

۱ و ۲- به ترتیب محقق غیر هیئت علمی و استادیار پژوهشی بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

چکیده

سرکه یک چاشنی فراسودمند و پرمصرف در سراسر جهان است که از مواد اولیه مختلفی تهیه می‌شود. گزارش‌های زیادی در تأیید قدرت ضدآکسایشی سرکه و استفاده از آن به عنوان کاهنده چربی خون و کاهش وزن وجود دارد. این ماده همچنین به دلیل وجود مواد مغذی مانند کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و پپتیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی یک افزودنی غذایی برتر است. برای اینکه سرکه‌ای با بالاترین بازده تولید شود، ابتدا فرآورده‌ای که به کار گرفته می‌شود باید درصد قند مناسبی داشته باشد که در شرایط بهینه به اتانول تبدیل و پس از آن از الکل با شرایطی مانند هوا دهی مناسب و.. سرکه تولید شود. در این طرح، از خرمای استعمران با توجه به درصد قند بالای آن استفاده شد. ابتدا تخمیر بی‌هوازی تبدیل قند خرما با غلظت‌های (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) به اتانول، با استفاده از ساکارومایسس سرویزیه (با غلظت ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر)، به مدت (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) صورت گرفت و در مرحله دوم، در معرض استوباکترها در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۱، تخمیر هوازی تبدیل اتانول به اسید استیک روز عملی گردید. در این مدت، میزان بهره‌وری الکل و اسیداستیک و راندمان تخمیر اندازه‌گیری و داده‌ها تجزیه و تحلیل داده‌ها شدند و برای مقایسه میانگین‌ها و رسم نمودار به ترتیب از نرم‌افزار SPSS و Excel استفاده شد. نتایج تحقیق نشان داد که از ۱ کیلوگرم خرمای استعمران ۴/۳۰ لیتر اتانول با خلوص حدود ۴۸ درصد (حجمی/وزنی) در مدت زمان ۹۶ ساعت تولید شده است. در مرحله تخمیر استیکی، پس از گذشت ۱۲ تا ۱۴ روز این میزان الکل حدود ۴ لیتر سرکه طبیعی با ۶/۶۲ درصد اسیداستیک (حجمی/وزنی) با راندمان تخمیر ۹۰/۵ درصد تولید کرده است.

واژه‌های کلیدی: خرما، سرکه، الکل، تخمیر

مقدمه

برنج پخته ۱۸۰۰، نان گندم ۲۲۹۵ و گوشت (بدون چربی) به ترتیب ۲۲۴۵ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی تولید می‌کنند، خرما بیش از ۳۰۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی تولید می‌کند (Zaid & Wet, 2002). در نتیجه ۱۰۰ گرم خرما تقریباً ۱۲ تا ۱۵ درصد از کل انرژی مورد نیاز روزانه هر بزرگسال را تأمین می‌کند (Al-Farsi & Lee, 2008). خرما، در مقایسه با دیگر میوه‌ها، همچنین منبع غنی از

میوه درخت خرما (*Phoenix dactylifera*) محصول تجاری مهمی در کشورهای خاورمیانه است. هفتاد درصد میوه خرما کربوهیدرات و سرشار از فیبر (۲ تا ۶ درصد)، ویتامین‌ها و مواد معدنی مختلف است که آن را به یکی از مغذی‌ترین غذاهای طبیعی در دسترس انسان تبدیل می‌کند. درحالی که زردآلو ۵۲۰، موز ۹۷۰، پرتقال ۴۸۰،

مرحله دوم، استوباکترها در فرآیندی هوازی اتانول را به اسید استیک اکسید می‌کنند. استوباکترها به دلیل توانایی خود در فاسد کردن شراب‌ها موجوداتی شناخته شده هستند زیرا می‌توانند مقادیر زیادی اسید استیک را از اتانول و دیگر ترکیبات موجود در شراب‌ها تولید کنند (Joyeux *et al.*, 1984).

هدف از این مطالعه، بررسی استفاده از زائدات خرماي استعمران برای تولید سرکه به عنوان محصولی با ارزش افزوده بالاتر به تولیدکنندگان خرما و تنوع بخشیدن به تولید آنهاست. در آزمایش‌ها، درصد‌های مختلف مخمر و میزان اتانول و اسیداستیک تولید شده بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

خرمای استعمران: خرمای زائداتی در زمان برداشت از کارگاه‌های بسته‌بندی خرما تهیه و تا زمان استفاده برای آزمایش در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد. وزن هر خرما حدود ۸/۵ گرم و وزن هسته ۰/۹ گرم در مرحله تمار (رسیدگی کامل) بود.

تهیه عصاره خرمای استعمران: میوه‌های خرما تمیز، هسته گیری و به قطعات کوچک بریده و با آب مقطر (۲:۱) در دمای ۷۰ درجه سلسیوس عصاره‌گیری شد. عصاره صاف شد و با استفاده از اواپراتور چرخشی در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به غلظت‌های مورد نظر (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) تغلیظ گردید.

سرکه استعمران در فرآیند تخمیر دو مرحله‌ای تولید شد: (۱) تبدیل قندهای قابل تخمیر به اتانول توسط مخمر نانوبی تجاری (به میزان ۱ گرم به ازای هر لیتر) و (۲) اکسیداسیون اتانول توسط استوباکترها (Tesfaye *et al.*, 2002; Solieri & Giudici, 2009).

فرآیند تخمیر: دو لیتر از عصاره صاف شده در ظرف‌های پلاستیکی ۳ لیتری قرار داده شد و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس با افزودن مخمر نانوبی ساکارومایسس سرویزیه

ویتامین‌ها، کلسیم، فسفر، منیزیم و پتاسیم و ریزمعدی‌هایی مانند آهن، روی، مس، منگنز است (Vayalil, 2012; Al-Gboori & Krepl, 2010; Al-Shahib & Marshall, 2003; Mrabet *et al.*, 2008).

سرکه‌های به‌دست آمده از منابع مختلف ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی دارند. عوامل مختلفی از جمله دمای تخمیر، سویه‌های مخمر، غلظت قند و اکسیژن و روش تخمیر بر سرعت تولید و کیفیت نهایی سرکه اثر می‌گذارند (Ozturk *et al.*, 2015).

بررسی ویژگی‌های شیمیایی و حسی سرکه عناب، در مقایسه با سرکه سیب، نشان می‌دهد که سرکه عناب با داشتن ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و اسید آسکوربیک بالاتر و عطر، طعم و رنگ بهتر امتیاز بیشتری را کسب کرده است و به دلیل داشتن ترکیبات بیوفعال می‌تواند در پیشگیری و درمان انواع بیماری‌ها کاربرد داشته باشد (Basiri, 2022).

سرکه طبیعی افزودنی غذایی برتری است زیرا حاوی مواد مغذی مانند کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و پپتیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی و مواد غیرمغذی مانند کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی و برخی رنگدانه‌های دیگر است (Guerrero *et al.*, 2007). از ابتدا تا به امروز، بشر در تمامی فرهنگ‌های جهان از سرکه به عنوان چاشنی، ترشی یا نگهدارنده، ضدعفونی‌کننده، پاک‌کننده و نوشیدنی استفاده می‌کرده است. این فواید باعث گردید تا در خصوص تخمیر دیگر میوه‌ها مانند: گواوا، موز، پیاز، کیوی، پرتقال، کاجا، بادام هندی (Silva *et al.*, 2007)، توت فرنگی و خرمالو (Ubeda *et al.*, 2010)، انبه (Ameyapoh *et al.*, 2010)، آناناس (Sossou *et al.*, 2009) و نیشکر (Kocher *et al.*, 2006) آزمایش‌هایی اجرا شود.

سرکه محلولی از اسید استیک است که در فرآیند زیستی دو مرحله‌ای تولید می‌شود. در مرحله اول، قندهای قابل تخمیر با عمل مخمر به اتانول تبدیل می‌شوند. در

یا اسیداستیک تولید شده در کل زمان تخمیر محاسبه شد. بازده اتانول و اسید استیک (بازده تخمیر) به عنوان نسبت کل الکل یا اسیداستیک تولید شده به تولید نظری اتانول یا اسیداستیک تعریف شد که به صورت استوکیومتری از قندها یا اتانول مصرفی محاسبه شد. از نرم‌افزار SPSS و Excel برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، مقایسه میانگین‌ها و رسم نمودار استفاده شد.

نتایج و بحث

تخمیر الکلی: تقریباً ۴/۳۰ لیتر عصاره حاوی ۱۵/۳ درصد (وزنی) مواد جامد انحلال‌پذیر از ۱ کیلوگرم خرمای استعمران به دست آمد.

pH اولیه آب میوه ۵/۵۳ و اسیدیته قابل تیتراسیون به عنوان اسید استیک از ۰/۴۶-۰/۳۱ درصد (وزنی/حجمی) بود. نیازی به اصلاح pH عصاره نبود زیرا تفاوت معنی‌داری بین pH اولیه آزمایش شده (۴/۵، ۵ و ۵/۵)، برای تولید اتانول مشاهده نشد. از آنجایی که شرایط غیربهبینه می‌تواند مخمر را تحت‌تاثیر قرار دهد و بهره‌وری را کاهش دهد (Bai *et al.*, 2008)، اثر هر دو غلظت اولیه قند و مخمر بررسی شد. اثر غلظت قند با تغییر غلظت بستر از ۸ تا ۴۵ درصد بررسی شد. نمونه‌ها فیلتر شدند و مخمر نانویابی با ۰/۵ درصد (وزنی/حجمی) در دمای ۳۰ درجه سلسیوس (بدون افزودن مواد مغذی) تلقیح شد. عصاره‌های تخمیر شده طی ۲ ساعت ظرفیت تخمیر شدیدی را نشان دادند و در ۴۸ تا ۹۶ ساعت به حداکثر غلظت اتانول ۱۰/۳-۳۰/۲۹ درصد وزنی در حجم رسیدند. بالاترین بازده (۸۵/۰۱ تا ۸۶/۳۰ درصد) در محدوده غلظت قند ۸ تا ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) به دست آمد (شکل ۱).

اثر نامطلوب غلظت بیش از ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) به دلیل فشار اسمزی است (Ndip *et al.*, 2001). این یافته که

تلقیح گردید تا امکان تخمیر سریع و قابل اعتماد فراهم شود (Converti *et al.*, 2003; Aranda *et al.*, 2011; Kumoro *et al.*, 2012). عصاره تخمیر شده در ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و با سرکه طبیعی به نسبت ۱۰ به ۱ با روش کشت سطحی یا روش اورلئان تلقیح شد (Hutkins, 2006). ظرف‌های به‌کارگرفته شده بزرگ و دهانه‌گشاد بودند به طوری که اکسیژن کافی برای تخمیر در دسترس باکتری‌ها قرار داشت. به عنوان یک معیار کلی، پایان تخمیر الکلی و استیکی به ترتیب وقتی در نظر گرفته شد که میزبان قند باقیمانده به کمتر از ۰/۵ درصد وزنی/حجمی و باقیمانده الکل به کمتر از ۰/۵ درصد وزنی/حجمی رسیده بود.

تجزیه فیزیکی شیمیایی:

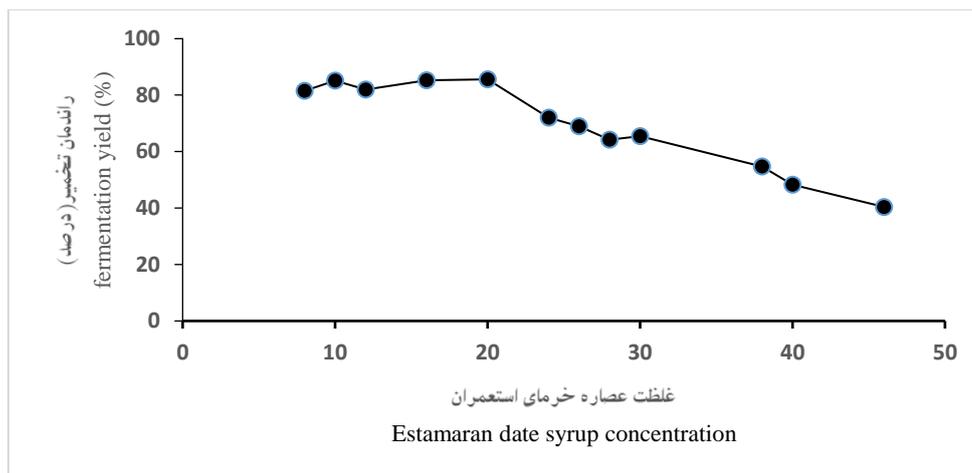
در فاصله‌های زمانی مشخص، مایع رویی نمونه‌های تخمیر شده سانتریفیوژ شد. سانتریفیوژ، یونیورسال پارس‌آزما و ساخت ایران بود و سرعت آن ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد. از نمونه‌ها برای تعیین اسیدیته کل، pH، کل مواد جامد انحلال‌پذیر، قند کل و اتانول استفاده شد. اسیدیته کل از طریق تیتراسیون با محلول استاندارد شده ۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم با استفاده از معرف فنل فتالئین ارزیابی و نتایج به صورت مقدار اسید استیک بیان شد. pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر (Metrohm مدل ۶۹۱ ساخت سوییس) اندازه‌گیری شد. درصد مواد جامد انحلال‌پذیر با رفرکتومتر (Atago ساخت چین) و قندکل با روش فنل-سولفوریک اسید اندازه‌گیری شد (Dubois *et al.*, 1956).

تعیین میزان اتانول با الکل‌سنج دستی

به منظور اندازه‌گیری اتانول، محلول در استوانه مدرج ریخته و الکل‌سنج درون آن قرار داده شد. عدد نشان داده شده توسط الکل‌سنج یادداشت برداری شد. بهره‌وری اتانول و اسید استیک (گرم/لیتر در ساعت) بر اساس مقدار اتانول

¹ *Sacharomyces cerevisiea*

در نتیجه افزایش غلظت عصاره منجر به کاهش راندمان تخمیر می‌شود با نتایج پژوهش‌های محققان دیگر (Bai *et al.*, 2008; Arroyo-Lopez *et al.*, 2009;) (Attri, 2009; Kumoro *et al.*, 2012) مطابقت دارد. نتایج همچنین نشان داد که غلظت بیشتر عصاره زمان تخمیر را اندکی طولانی می‌کند. روندی مشابه گزارش شده است که رابطه‌ای نمایی بین زمان لازم برای راندمان تخمیر (ملاس نیشکر) و غلظت اولیه عصاره و سلول‌های مخمر وجود دارد (Borzani *et al.*, 1993).



شکل ۱- اثر غلظت عصاره خرما بر میزان تولید اتانول در ۳۰ درجه سلسیوس.

Figure 1- Effect of date syrup concentration on ethanol production in 30 °C.

جدول ۱- تولید اتانول از عصاره ۱۵ درصد (وزنی) خرماي استعمران به عنوان تابعی از غلظت مخمر و زمان تخمیر در دمای ۳۰ درجه سلسیوس.

Table 1- Ethanol production using Estamaran date syrup 15% (W) as a function of yeast concentration and fermentation time in 30 °C.

غلظت مخمر نانویی (گرم/ لیتر) Yeast concentration (g/L)	غلظت اتانول (درصد)(وزنی/حجمی) Ethanol concentration (%) (W/V)			
	زمان تخمیر (ساعت) Fermentation time (h)			
	24	48	72	96
5	4.26	5.56	5.82	6.47
10	5.26	5.61	6.13	6.75
15	5.98	6.18	6.50	6.78
20	6.19	6.48	6.36	6.44
30	5.38	6.22	6.16	6.25

محدوده کارایی تخمیر عصاره استعمران در مطالعه حاضر نزدیک است به آنچه نوفمل و همکاران (Nofemele *et al.* 2012) برای ملاس نیشکر (۸۵/۱۲ درصد) و ایلها و همکاران (Ilha *et al.*, 2000) برای عسل (۸۱/۳۴ درصد) گزارش داده‌اند و بیشتر است از آنچه سیلوا و همکاران (Silva *et al.*, 2007) برای شراب بادام هندی و کیوی

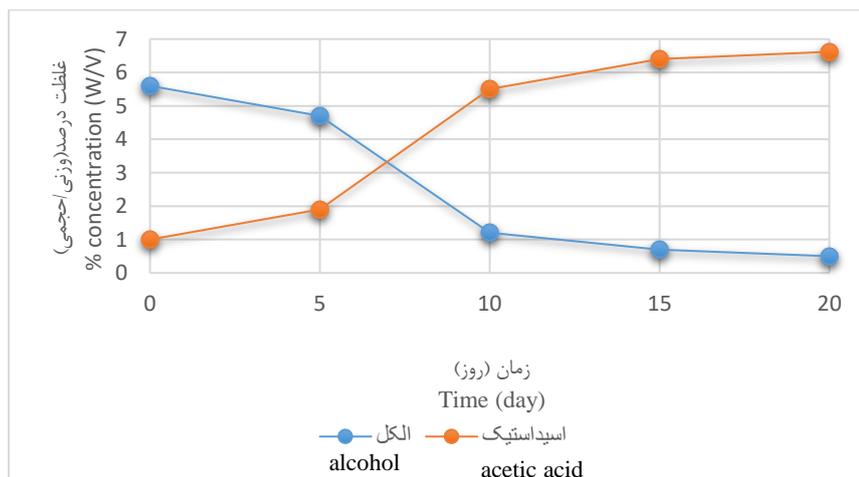
در این تحقیق، ۱ کیلوگرم خرمای استعمران ارزان قیمت حدود ۴/۳ لیتر اتانول ۶/۴۸ درصد (وزنی/حجمی) در کمتر از ۴۸ ساعت با استفاده از ۲۰ گرم در لیتر مخمر نانوبی و تقریباً همان عملکرد را پس از ۹۶ ساعت با استفاده از ۵ گرم در لیتر مخمر تولید کرد.

تخمیر استیکی: تخمیر استیکی مرحله بعدی در تولید سرکه است که در آن مولکول‌های الکل با استوباکتر به مولکول‌های اسید استیک اکسید می‌شوند (شکل ۲) و طعم مشخص سرکه را به آن می‌دهند. الکل خرما (۴/۳۰ لیتر) که از تخمیر ۱ کیلوگرم عصاره به دست آمد، با سرکه طبیعی تا ۵/۵۸ درصد (وزنی/حجمی) به عنوان ماده اولیه برای تولید سرکه رقیق و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. پس از ۱۴-۱۲ روز تخمیر استیکی، حدود ۴/۰۵ لیتر سرکه طبیعی از پنج تکرار آزمایش تولید شد که حاوی ۶/۶۲ درصد (وزنی/حجمی) اسید استیک و کمتر از ۰/۵ درصد (وزنی/حجمی) الکل تولیدی بود.

(Arumugam & Manikandan, 2011) و آروموگام و مانیکاندان (Manikandan, 2011) برای عصاره ضایعات میوه موز و انبه (۵۰ تا ۷۰/۳ درصد) و سیکرا و همکاران (Siqueira et al., 2008) برای ملاس سویا (۴۵/۴ درصد) اعلام کرده‌اند.

اثر غلظت مخمر نانوبی بر رشد و عملکرد تخمیر اتانول از عصاره خرما در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که غلظت ۵ گرم در لیتر مخمر برای تولید ۶/۴۷ درصد (حجمی/وزنی) اتانول از عصاره استعمران ۱۵ درصد (وزنی) پس از ۹۶ ساعت کافی است. نتایج این مطالعه با مشاهدات کومورو و همکاران (Kumoro et al. 2012) مطابقت دارد.

افزایش غلظت مخمر از ۵ تا ۲۰ گرم در لیتر منجر به تولید بیشتر اتانول (۲/۵۷۹ گرم در لیتر در ساعت) در ۲۴ ساعت اول شده است. افزایش غلظت مخمر به ۳۰ گرم در لیتر منجر به کاهش تولید اتانول گردید. چنین واکنشی معمولاً زمانی رخ می‌دهد که غلظت مخمر زیاد و رقابت بین سلول‌های مخمر برای مصرف مواد مغذی بالا می‌رود (Ndip et al., 2001).



شکل ۲- تولید اسیداستیک و مصرف اتانول طی ۲۰ روز تخمیر استیکی.

Figure 2- Acetic acid production and ethanol consumption during 20 days of acetic acid fermentation.

اسیداستیک تولید می‌کند، ۵/۵۸ درصد (وزنی/حجمی) اتانول مصرف شده در محیط باید ۷/۲۸ درصد (وزنی/

با توجه با مقادیر نسبی واکنش دهنده‌ها و تبدیل اتانول به اسیداستیک، که در آن ۱ گرم اتانول ۱/۳ گرم

مانند انولاز و گلیکولیز تأثیر می‌گذارد (Valli *et al.*, 2005; Graves *et al.*, 2007).

محصول فرآیند اورلثان، سرکه با کیفیت بالاست زیرا روند تولید کند است و باعث افزایش طعم و عطر سرکه می‌شود (Raspor & Goranovic, 2008). علاوه بر این، تولید به روش اورلثان را می‌توان فرآیندی نیمه پیوسته نامید، زیرا هنگامی که سرکه به کیفیت مطلوب رسید، می‌توان حدود نیم تا سه چهارم حجم سرکه کامل شده را از پایین خارج کرد در حالی که همان حجم عصاره تخمیر شده الکلی را به طور همزمان از بالا اضافه کرد

(Mazza & Murooka, 2009). باکتری‌های موجود در سرکه که در تخمیر استیکی باقی مانده است، می‌تواند به عنوان تلقیح برای حجم تولید بعدی استفاده شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که:

- یک سیستم تخمیر دو مرحله‌ای شامل تبدیل بی‌هوازی قندها به اتانول با استفاده از ساکارومایسس سرویزیه و اکسیداسیون هوازی اتانول به اسیداستیک در دمای ۳۰ درجه سلسیوس با استفاده از استوباکتر بسیار کارآمدتر از تخمیر خود به خود و همزمان در یک سیکل است.

- از یک کیلوگرم خرما استعمران با کیفیت درجه دو و سه حدود ۴/۳۰ لیتر محلول الکلی حاوی ۶/۴۷ درصد (وزنی/حجمی) اتانول با راندمان تخمیر الکلی ۸۰ تا ۸۵ درصد حاصل گردید. تخمیر استیکی این محلول منجر به تولید ۴ لیتر سرکه طبیعی حاوی ۶/۶۲ درصد (وزنی/حجمی) اسیداستیک و کمتر از ۰/۵ درصد (وزنی/حجمی) الکل شد که نشان دهنده راندمان تخمیر استیکی ۹۱ درصد است و با صرفه بودن این روش را نشان می‌دهد.

اسیداستیک تولید کند. اما عملاً غلظت به دست آمده در مطالعه حاضر ۶/۶۲ درصد (وزنی/حجمی) اسیداستیک با راندمان تخمیر ۹۰/۵ درصد بود که این راندمان مشابه استفاده از عصاره عسل و انبه گزارش شده آمیاپو و همکاران و ایلها و همکاران (Ameyapoh *et al.*, 2010; Ilha *et al.*, 2000) الکل تولید شده تا حدودی به سرکه و مقادیری در دوره انبارداری به استرها تبدیل می‌شود که عطر و طعم خاص (بسته به نوع مواد اولیه به کاررفته) به سرکه می‌دهد.

در روش سنتی تولید سرکه در ایران، عراق و بسیاری از کشورهای مدیترانه‌ای حدود ۵ درصد (وزنی/حجمی) سرکه سنتی و غیر پاستوریزه به طور مستقیم به عصاره خرما در ابتدای تخمیر اضافه می‌شود. میکروارگانیسم‌های مربوط معمولاً در بالای بستر رشد می‌کنند و توده‌ای ژله‌ای تشکیل می‌دهند که ترکیبی از استوباکتر و مخمرهاست. در این فرآیند تخمیر (خود به خودی)، تفاوت‌های قابل توجهی مشاهده گردید؛ اولاً در ازای ۱ کیلوگرم خرما ۳/۲۵ لیتر سرکه با ۴/۰۲ درصد (وزنی/حجمی) اسیداستیک پس از ۳۳ روز تولید شد و ثانیاً مقدار قابل توجهی قند (۵/۳۴ درصد) در انتهای فرآیند مشاهده گردید. مشاهدات مشابهی با استفاده از مواد قندی مختلف گزارش شده است (Sossou *et al.*, 2009). این بازده کم به دلیل استفاده از میکروارگانیسم‌های کنترل نشده، در سیستم تخمیر یک مرحله‌ای بود، که کنترل کامل و کیفیت محصول را تضمین نمی‌کند (Hidalgo *et al.*, 2010; Krusong & Vichitraka, 2010). اسیدهای چربی دوست ضعیف موجود در خرما و pH پایین اثر هم‌افزایی دارند و در نتیجه pH داخل سلولی را از مقادیر طبیعی فیزیولوژیکی کمتر خواهند کرد و از رشد مخمر جلوگیری می‌کنند. علاوه بر این، به نظر می‌رسد اسید استیک مستقیماً بر فعالیت‌های آنزیمی

تعارض منافع

نویسندگان در خصوص مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافع تجاری در این راستا وجود ندارد.

منابع

- Aguiar, A., Nascimento, R. A., Ferretti, L. P., & Gonçalves, A. R. (2005). Determination of organic acids and ethanol in commercial vinegars. *Brazilian Journal of Food Technology*, 5(1), 51-56.
- Al-Gboori, B., & Krepl, V. (2010). Importance of date palms as a source of nutrition. *Agricultura Tropica et Subtropica*, 43(4), 341-347.
- Al-Shahib, W., & Marshall, R. J. (2003). The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54(4), 247-259.
- Ameypoh, Y., Leveau, J. Y., Karou, S. D., Bouix, M., Sossou, S. K., & De Souza, C. (2010). Vinegar production from Togolese local variety Mangovi of mango *Mangifera indica* Linn.(*Anacardiaceae*). *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 13(3), 132-137.
- Aranda, A., Matallana E. & Del Olma, M. (2011). *Saccharomyces* Yeasts I: Primary Fermentation. In: Molecular Wine Microbiology, Santiago, A.V.C., R. Munoz and R.G. Garcia (Eds.). Academic Press, USA
- Arroyo-López, F. N., Orlić, S., Querol, A., & Barrio, E. (2009). Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. *International Journal of Food Microbiology*, 131(2-3), 120-127.
- Arumugam, R. & Manikandan, M. (2011). Fermentation of pretreated hydrolyzates of banana and mango fruit wastes for ethanol production. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 2(2), 246-256.
- Attri, B.L., (2009). Effect of initial sugar concentration on the physico-chemical characteristics and sensory qualities of cashew apple wine. *Natural Product Radiance*, 8, 374-379.
- Bai, F.W., Anderson W.A. and Moo-Young, M. (2008). Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*, 26, 89-105.
- Barreveld, W.H., (1993). Date Palm Products. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp: 142-148
- Basiri, S., (2022). Determination of Physicochemical and Sensory Properties of Produced Vinegar from Fermentation of Jujube Fruit. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 2, 49-62.
- Borzani, W., Gerab, A., De La Higuera, G.A., Pires, M.H. & Piplovic, R. (1993). Batch ethanol fermentation of molasses: A correlation between the time necessary to complete the fermentation and the initial concentrations of sugar and yeast cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 9, 265-268.
- CAC, (2000). Proposed draft revised regional standard for vinegar. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy.
- Converti, A., Arni, S., Sato, S., De Carvalho, J.C.M. & Aquarone, E. (2003). Simplified modeling of fed-batch alcoholic fermentation of sugarcane blackstrap molasses. *Biotechnology and Bioengineering*. 84, 88-95.
- DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers P.A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Graves, T., Narendranath, N.V., Dawson, K. and Power, R. (2007). Interaction effects of lactic acid and acetic acid at different temperatures on ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* in corn mash. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 75(3), 1190-1196.

- Guerrero, E.D., Marin, R.N., Mejias R.C. & Barroso, C.G (2007). Stir bar sorptive extraction of volatile compounds in vinegar: Validation study and comparison with solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1167(1), 18-26.
- Hidalgo, C., Vegas, C., Mateo, E., Tesfaye, W. and Cerezo, A.B. (2010). Effect of barrel design and the inoculation of *Acetobacter pasteurianus* in wine vinegar production. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 56-62.
- Hutkins, R.W., (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. pp: 413-414
- Ilha, E.C., Sant'Anna, E.S., Torres, R.C.O., Porto, A.C.S. and Meinert, E.M. (2000). Utilization of bee (*Apis mellifera*) honey for vinegar production. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, (16), 39-50.
- Joyeux, A., Lafon-Lafourcade, S. and Ribereau-Gayon, P. (1984). Evolution of acetic acid bacteria during fermentation and storage of wine. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), 153-156.
- Kocher, G.S., Kalra, K.L. & Phutela, R.P. (2006). Comparative production of sugarcane vinegar by different immobilization techniques. *Journal of the Institute of Brewing*, 112(3), 264-266.
- Kristl, J., Veber M. & Slekovec, M. (2003). The contents of Cu, Mn, Zn, Cd, Cr and Pb at different stages of the winemaking process. *Acta Chimica Slovenica*, 50 (1), 123-136.
- Krusong, W. and Vichitraka, A. (2010). An investigation of simultaneous pineapple vinegar fermentation interaction between acetic acid bacteria and yeast. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(1), 192-203.
- Kumoro, A.C., D. Riana Sari, D., Pinandita, A.P.P., Retnowati, D.S. and Budiyati, C.S. (2012). Preparation of wine from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus lam*) juice using *Baker yeast*: Effect of yeast and initial sugar concentrations. *World Applied Sciences Journal*, 16(9), 1262-1268.
- Mazza, S. and Murooka, Y. (2009). Vinegars through the Ages. In: *Vinegars of the World*, Solieri, L. and P. Giudici (Eds.). Springer, New York, pp: 17-39
- Mrabet, A., Ferchichi, A., Chaira, N., Mohamed, B.S., Baaziz, M. and Penny, T.M. (2008). Physico-chemical characteristics and total quality of date palm varieties grown in the Southern of Tunisia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 1003-1008.
- Navarro-Alarcon, M., Velasco, C., Jodral, A., Terres, C., Olalla, M., Lopez, H. and Lopez, M.C. (2007). Copper, zinc, calcium and magnesium content of alcoholic beverages and by-products from Spain: nutritional supply. *Food Additives and Contaminants*, 24(7), 685-694.
- Ndung'u, K., Hibdon, S. and Flegal, A.R. (2004). Determination of lead in vinegar by ICP-MS and GFAAS: Evaluation of different sample preparation procedures. *Talanta*, 64(1), 258-263.
- Ndip, R.N., Akoachere, J.F., Droggima, L.L. & Ndip, L.M. (2001). Characterization of yeast strains for wine production: Effect of fermentation variables on quality of wine produced. *Applied biochemistry and biotechnology*, 95, 209-220.
- Nofemele, Z., Shukla, P., Trussler, A., Permaul, K. and Singh, S. (2012). Improvement of ethanol production from sugarcane molasses through enhanced nutrient supplementation using *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Brewing Distilling*, (3), 29-35.
- Ozturk I., Caliskan O., Tornuk F., Ozcan N., Yalcin H., Baslar M. and Sagdic O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home -made Turkish vinegars. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 144 -151.
- Raspor, P. and Goranovic, D. (2008). Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(2), 101-124.
- Rizzon, L.A. and Miele, A. (1998). [Analytical characteristics of commercial Brazilian wine vinegars]. *Brazilian Journal of Food Technology*, (1), 25-31, (In Portuguese).
- Silva, M.E., A.B.T. Neto, A.B.T., Silva, W.B., Silva F.L.H and Swarnakar, R. (2007). Cashew wine vinegar production: Alcoholic and acetic fermentation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 24, 163-169.

- Siqueira, P.F., Karp, S.G., Carvalho, J.C., Sturm, W. and Rodriguez-Leon, J.A. (2008). Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. *Bioresource Technology*, 99(17), 8156-8163.
- Solieri, L. and Giudici, P. (2009). *Vinegars of the World*. Springer, New York, ISBN: 9788847008663, Pages: 320
- Sossou, S.K., Ameyapoh, Y., Karou S.D. and De Souza, C. (2009). Study of pineapple peelings processing into vinegar by biotechnology. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(11), 859-865.
- Tesfaye, W., Morales, M.L., Garcia-Parrilla, M.C. and Troncoso, A.M. (2002). Wine vinegar: Technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 13(1), 12-21.
- Ubeda, C., Callejon, R., Hidalgo, C., Mateo, E., Torija, M.J., Troncoso, A.M. and Morales, M. (2010). Persimmon and strawberry vinegars: determination of major aroma compounds by static headspace/gas chromatography/mass spectrometry during the production process. Proceedings of the International Conference on Food Innovation, October 25-29, 2010, Valencia, Spain
- USAID/Iraq/Inma Agribusiness Program, (2008). Pre-feasibility report: Date processing in Iraq. Prepared in Collaboration with Agland Investment Services, Inc., June 26, 2008. http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/Pnadv533.pdf.
- FDA, (2007). Inspections, compliance, enforcement and criminal investigations. (CPG Sec.525.825 Vinegar, Definitions - Adulteration with Vinegar Eels). Food and Drug Administration (FDA). <http://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074471.htm>.
- Valli, M., Sauer, M., Branduardi, P., Borth, N. Porrot, D. and Mattanovich, D. (2005). Intracellular pH distribution in *Saccharomyces cerevisiae* cell populations, analyzed by flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3), 1515-1521.
- Vayalil, P.K., (2012). Date fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): An emerging medicinal food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(3), 249-271.
- Wang, M.L., Choong, Y.M., Su, N.W. and Lee, M.H. (2003). A rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(2), 133-140.
- WHO, (1993). Evaluation of certain food additives and contaminants: Forty-first report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. Technical Report Series No. 837, World Health Organization Geneva, Switzerland. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_837.pdf.
- Zaid, A. and De Wet, P.F. (2002). Origin, Geographical Distribution and Nutritional Values of Date Palm. In: Date Palm Cultivation, Arias-Jimenez, E.J. (Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp: 45-46

Investigation of production and physicochemical properties of Estamaran date vinegar

Leila Behbahani*, Maryam Ravaghi

***Corresponding Author:** Agricultural Engineering Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran.

Email: leila_behbahani@yahoo.com

Received: 4 July 2022 **Accepted:** 31 December 2022

http://doi: 10.22092/FOODER.2024.359191.1338

Abstract

Vinegar has long been used worldwide as a basic seasoning that can be produced from different materials. Many reports have focused on the antioxidant activity of vinegar and its use to lose fat and weight. It is also one of the superior food additives as it contains different nutrients such as carbohydrates, amino acids, peptides, vitamins and minerals. To produce vinegar of higher yield, substrates with suitable amounts of sugar should be transformed to ethanol in optimum situation, then acetic acid should be produced from alcohol using suitable aerobic microorganisms. In this project, Estamaran dates due to their high amount of sugar were transformed into vinegar in two stages. During the first stage, anaerobic fermentation of different concentrations of date sugars (10, 20, 30, 40 and 50%) to ethanol was carried out using different concentrations of *Saccharomyces cerevisiae* (5, 10, 15, 20 and 30 g/L) and ethanol concentrations were measured in 24, 48, 72 and 96 h), then, the aerobic conversion of ethanol to acetic acid was accomplished by Acetobacters in 30°C for 21 days. Data analysis was carried out using SPSS and graphs were represented by Excel. The results showed that 4.3 liters of ethanol with a purity of nearly 48% (v/w) were produced during 96 h from one kilogram of date fruit. In the acetic acid fermentation stage, 4 liters of acetic acid with a purity of 6.62% (v/w) and fermentation yield of 90.5% after 12-14 days were collected.

Keywords: dates, vinegar, alcohol. fermentation