

Journal Pre-proofs

Authenticity of vinegar based on the determination of phenolic compounds, antioxidant capacity, and FTIR spectroscopy: comparison of fermented, distilled vinegar, and industrial acetic acid

Farnaz Vaziri Nasrin, Fatemeh Ghamari, Maryam Moslehishad, Fataneh Hashempour-baltork

DOI: <https://doi.org/10.22104/ift.2026.8003.2253>

To appear in: Innovative Food Technologies (IFT)

Received Date: 22 November 2025

Revised Date: 27 December 2025

Accepted Date: 4 January 2026



Please cite this article as: Farnaz Vaziri Nasrin, Fatemeh Ghamari, Maryam Moslehishad, Fataneh Hashempour-baltork, Authenticity of vinegar based on the determination of phenolic compounds, antioxidant capacity, and FTIR spectroscopy: comparison of fermented, distilled vinegar, and industrial acetic acid, *Innovative Food Technologies* (2025), doi: <https://doi.org/10.22104/ift.2026.8003.2253>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2023 The Author(s). Published by irost.org.

اصالت سنجی سرکه با اتکا بر شاخص‌های فنولی، آنتی‌اکسیدانی و طیف‌سنجی FTIR: مقایسه سرکه تخمیری، تقطیری و استیک اسید صنعتی

فرناز وزیری نسرین^۱، فاطمه قمری^{۲*}، مریم مصلحی شاد^۳، فتانه هاشم پور بلترک^۱

۱- مرکز تحقیقات حلال جمهوری اسلامی ایران، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت درمان، آموزش پزشکی تهران، ایران

۲- گروه علوم پایه، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرقدس، ایران

* نویسنده مسئول: Fatemehghamari@pnu.ac.ir

چکیده

سرکه به‌عنوان یک چاشنی عملکردی با خواص تغذیه‌ای و درمانی، امروزه با چالش افزایش تقلب به‌ویژه استفاده از اسید استیک صنعتی مواجه است. هدف از این پژوهش، ارزیابی اصالت سرکه و مقایسه ویژگی‌های تغذیه‌ای، زیستی و ایمنی سرکه‌های تخمیری و تقطیری در مقایسه با سرکه پایه مصنوعی است. در این مطالعه ۱۵ نمونه تجاری مورد ارزیابی قرار گرفتند و شاخص‌هایی شامل اسیدیته کل، ارزش اکسیداسیون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش ABTS)، میزان ترکیبات فنولی، اسیدهای آلی (توسط HPLC)، عناصر کم‌مقدار (با جذب اتمی) و گروه‌های عاملی (با استفاده از FTIR) اندازه‌گیری و نتایج با آزمون واریانس و دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شد. نتایج نشان داد سرکه‌های تخمیری دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۷۳/۹۶ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید)، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۵/۰۵۱ درصد مهار ABTS) و بیشترین ارزش اکسیداسیون بودند ($p < 0/05$). طیف‌سنجی FT-IR حضور ترکیبات زیست‌فعال و گروه‌های عاملی مرتبط با تخمیر طبیعی را تأیید کرد. همچنین، تنها در سرکه‌های تخمیری اسیدهای آلی طبیعی مانند مالیک، سیتریک و فوماریک اسید شناسایی شد، در حالی‌که سرکه‌های تقطیری و اسید استیک صنعتی تنها حاوی استیک اسید بودند. ارزیابی عناصر نشان داد که سرکه‌های تخمیری از نظر فلزات سنگین ایمن‌تر بوده و دارای منیزیم بالاتر به‌عنوان یک ماده معدنی ضروری بودند. استیک اسید صنعتی دارای بیشترین غلظت سرب و نیکل بود ($p < 0/05$) که ممکن است ناشی از استفاده از کاتالیست‌های صنعتی باشد. به‌طور کلی، یافته‌ها بر برتری سرکه‌های تخمیری از نظر ارزش تغذیه‌ای، خواص عملکردی و ایمنی غذایی تأکید دارند و نشان می‌دهند ترکیب چند شاخص شیمیایی و طیفی رویکردی مؤثر برای تشخیص اصالت و شناسایی تقلب در سرکه است. این نتایج اهمیت توسعه سرکه‌های تخمیری طبیعی را به‌عنوان یک غذای عملکردی با نقش بالقوه در ارتقای سلامت انسان برجسته می‌کند.

واژگان کلیدی: سرکه تخمیری، اصالت‌سنجی، ترکیبات فنولی، FT-IR، اسیدهای آلی، تقلب غذایی

۱- مقدمه

سرکه یک چاشنی غذایی است؛ به دلیل خواص سودمند آن از دیرباز به طور گسترده توسط بشر به عنوان نگهدارنده، طعم‌دهنده و بخشی از رژیم غذایی استفاده می‌شود (۱). تولید سرکه یک فرآیند زیستی دو مرحله‌ای شامل تخمیر الکلی و سپس استریفیکاسیون است. در مرحله نخست، قندهای موجود در منابع غنی از کربوهیدرات مانند میوه‌ها، ملاس و عسل توسط مخمرها به اتانول تبدیل می‌شوند. در مرحله دوم، اتانول تحت شرایط هوازی توسط باکتری‌های جنس *Acetobacter* و *Gluconobacter* به‌طور ناقص و از طریق فعالیت آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و آلدئید دهیدروژناز به استیک اسید اکسید می‌شود که در نهایت منجر به تولید سرکه می‌گردد. این فرآیند در محیط‌های کشت هوازی انجام شده و پایه تولید صنعتی انواع سرکه‌های غذایی است (۲). اگرچه روش‌های متعددی برای تولید سرکه وجود دارد، اما از نظر تجاری عمدتاً دو شیوه اصلی مورد استفاده قرار می‌گیرند که

شامل روش سطحی (سنتی) و غوطه وری است. در روش سطحی، میکروارگانیزم‌ها در تماس مستقیم با اکسیژن سطحی قرار دارند و فرآیند تخمیر به صورت کندتر اما طبیعی‌تر انجام می‌شود. در روش غوطه‌وری با تأمین اکسیژن کافی در محیط مایع، سرعت تبدیل الکل به استیک اسید افزایش می‌یابد و تولید سرکه با راندمان بالاتری صورت می‌گیرد. سرکه می‌تواند از الکل صنعتی نیز تهیه شود، اما در اغلب موارد حاصل تخمیر طبیعی آب‌میوه یا میوه‌هاست و محتوای ۵ تا ۱۰ درصد استیک اسید است. نوعی دیگر از سرکه، موسوم به سرکه تقطیری، از تخمیر کنترل‌شده الکل در حضور آغازگرهای خاص و تحت شرایط تنظیم‌شده مانند دمای مناسب تولید می‌شود. این نوع سرکه به دو صورت بدون کارامل و حاوی کارامل عرضه می‌گردد (۳).

سرکه تخمیری به دلیل دارا بودن مواد شیمیایی گیاهی مانند اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، مواد معدنی و ترکیبات فنلی دارای خواص تغذیه‌ای مؤثری است که می‌تواند عملکرد کبد و دستگاه گوارش را بهبود بخشد (۴). مطالعات نشان می‌دهند که مصرف آن ممکن است با افزایش اشتها، کاهش خستگی، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، تنظیم چربی خون و فشار خون همراه باشد و در نتیجه بر نشانگرهای زیستی مرتبط با بیماری‌هایی مانند چاقی، دیابت، سرطان و فشار خون بالا تأثیر بگذارد (۱، ۵، ۶). از سوی دیگر، اسیدهای آلی اصلی موجود در انواع مختلف سرکه مانند تارتاریک اسید، فرمیک اسید، لاکتیک اسید، سیتریک اسید، مالیک اسید، سوکسینیک اسید و استیک اسید هستند که مورد آخر ماده اصلی موجود در سرکه است و غلظت آن اغلب به عنوان شاخص محتوای کلی اسید، مورد استفاده قرار می‌گیرد و بنابراین یک معیار کیفی بسیار مهم برای ارزیابی ویژگی‌های محصول نهایی است (۷). مقررات بین‌المللی برای انواع سرکه بر پایه کنترل غلظت ترکیبات اصلی آن، به‌ویژه استیک اسید و اتانول، بنا شده‌اند. استانداردهای معتبر مانند FDA، کدکس و اتحادیه اروپا به‌طور معمول حداقل اسیدیته را بین ۴ تا ۵ درصد و حداکثر اتانول را ۵/۵ درصد حجمی تعیین می‌کنند (۸). کیفیت سرکه نه تنها به میزان ترکیبات زیست‌فعال آن، بلکه به اصالت محصول نیز وابسته است. با افزایش مطالعات علمی درباره‌ی فواید سلامت‌بخش سرکه، تقاضای مصرف‌کنندگان برای انواع سنتی آن رشد یافته و این امر احتمال تقلب را افزایش داده است (۹). افزودن استیک اسید صنعتی یا ترکیبات غیرمجاز به سرکه‌های طبیعی از رایج‌ترین تقلب‌های مورد استفاده در تولید سرکه است که تشخیص آن‌ها را به یک چالش جدی در کنترل کیفیت تبدیل کرده است (۱۰). اگرچه افزودن کارامل انگور حتی به انواع خاص سرکه‌های گران‌تر قانونی است، اما می‌توان از آن در سرکه‌ها با هدف تقلید از زمان نگهداری طولانی‌تر یا پوشاندن ویژگی‌های نامطلوب نیز استفاده کرد (۹). علاوه بر اثرات اقتصادی مخلوط کردن، افزودن استیک اسید صنعتی می‌تواند عواقب منفی ویژه‌ای مانند افزایش فلزات سنگین را داشته باشد (۸). بنابراین این احتمال وجود دارد که محصولاتی که الزامات ایمنی و استانداردهای کیفیت را برآورده نمی‌کنند، خطری برای سلامت مصرف‌کنندگان ایجاد کنند یا به طور ناعادلانه با سایر محصولات موجود در بازار رقابت کنند. بنابراین، بدیهی است که نیاز مبرمی به توسعه روش‌های ساده، قوی، سریع و دقیق برای انجام نظارت کارآمد که ایمنی و کیفیت این محصولات غذایی را تضمین کند، وجود دارد (۷). با توجه به پیچیده بودن ماهیت سرکه، تشخیص تقلب با افزایش تعداد تقلب‌هایی که با محصول خالص مخلوط می‌شوند، به کاری دشوارتر تبدیل شده است (۹).

هدف این پژوهش، بررسی جامع اصالت و کیفیت نمونه‌های سرکه از طریق تلفیق سنجش‌های ترکیبی، شامل ارزیابی ساختار شیمیایی، ویژگی‌های زیستی، شاخص‌های اکسیداسیون و عناصر معدنی است. این رویکرد چندبُعدی امکان شناسایی ویژگی‌های متمایز نمونه‌های سرکه تخمیری، تقطیری و بررسی احتمال وجود ناخالصی یا تقلب را مورد بررسی قرار داد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نوع پژوهش، تعداد نمونه و روش نمونه‌گیری

ابتدا، نمونه‌هایی از سرکه طبیعی (سرکه سیب تهیه‌شده به روش تخمیری) و استیک اسید صنعتی به‌عنوان شاهد مورد آنالیز قرار گرفتند. در فاز دوم نمونه‌های سرکه تخمیری و سرکه تقطیری از کارخانه‌های معتبر و دارای مجوزهای سازمان نظارتی و تحت شرایط تایید شده نمونه برداری شد. نام‌های تجاری معتبر بازار جهت آنالیز ملاک ارزیابی قرار گرفت ۱۴ نام تجاری شامل ۵ نمونه

تقطیری و ۹ نمونه تخمیری (با توجه به تنوع بیشتر نمونه های بازار) ارزیابی شد. نمونه های تجاری خریداری شده از بازار با نمونه های شاهد مقایسه شدند و بر اساس میزان تطابق با شاخص های تعریف شده، در گروه سرکه تخمیری، تقطیری یا پایه اسید استیک صنعتی طبقه بندی شدند. تعیین اصالت نمونه های سرکه بر اساس تحلیل ترکیبات شیمیایی آن صورت گرفت. شاخص های مورد بررسی شامل محتوای ترکیبات فنولی، ظرفیت آنتی اکسیدانی، گروه های عاملی، اسیدهای آلی و عناصر کم مقدار بودند که با نمونه های تقلبی مبتنی بر استیک اسید صنعتی مقایسه شدند. کلیه آزمون های فیزیکی، شیمیایی و میکروبی مطابق با روش های استاندارد ملی ایران انجام شد و آزمون ها روی هر نمونه نیز در دو تکرار انجام شد.

۲-۲-اسیدیته کل

تعیین اسیدیته کل نمونه ها مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۳۹۴ انجام شد (۱۱). در این روش، ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر تازه جوشیده و سرد شده به ۱۰ میلی لیتر نمونه سرکه اضافه شد. سپس ۳ قطره فنل فنالتین به آن اضافه کرده و در مرحله بعد با محلول سدیم هیدروکسید ($N=0/5$) تا پیدایش رنگ صورتی کم رنگ تیترو شد. در نهایت، اسیدیته کل طبق فرمول زیر محاسبه می شود:

$$A_v = \frac{V \times 0.03 \times 100}{V_0}$$

معادله ۱-۲-محاسبه اسیدیته کل: A_v : اسیدیته کل، V_0 : حجم نمونه مصرفی بر حسب میلی لیتر، V : میلی لیتر سدیم هیدروکسید مصرفی

۲-۳-آزمون ارزش اکسیداسیون

آزمون ارزش اکسیداسیون مطابق استاندارد ۱۳۹۴ انجام گرفت (۱۱). ابتدا ۵ میلی لیتر از آزمون (سرکه) در یک بالن ۲۵۰ میلی لیتر در سمباده ای ریخته و ۱۰ میلی لیتر سولفوریک اسید (نسبت حجمی ۱:۳) و ۱۵ میلی لیتر محلول پتاسیم پرمنگنات ($N=0/1$) افزوده شد. سپس ظرف محلول با درب بسته به مدت ۳۰ دقیقه در مکانی تاریک در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. در ادامه، ۵ میلی لیتر محلول یدرو پتاسیم به آن افزوده و ید آزاد شده، با سدیم تیوسولفات ($N=0/02$) عیار سنجی شد. در نزدیکی نقطه پایانی تیتراسیون، مقدار ۰/۵ میلی لیتر معرف نشاسته به آن اضافه کرده و تیتراسیون تا بی رنگ شدن کامل محیط ادامه یافت. به منظور کنترل صحت آزمون همزمان یک آزمون شاهد بدون نمونه با آب مقطر تحت همین شرایط انجام داده شد. در نهایت شاخص اکسیداسیون با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۱۲):

$$Q_v = 40 \times (B - A)$$

معادله ۲-۲-محاسبه ارزش اکسیداسیون: Q_v : ارزش اکسیداسیون بر حسب میلی لیتر، B : میلی لیتر سدیم تیوسولفات مصرفی برای آزمون شاهد، A : میلی لیتر سدیم تیوسولفات مصرفی برای آزمون نمونه

۲-۴-تعیین محتوای فنلی کل

برای سنجش محتوای فنلی کل نمونه ها، از معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد. ابتدا نمونه ها به صورت رقیق شده تهیه گردیدند و به هر لوله آزمایش، حجم مشخصی از معرف فولین سیوکالتیو افزوده شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق، محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد به لوله ها اضافه گردید و مخلوط به خوبی هم زده شد. سپس لوله ها به مدت ۲ ساعت در محیط تاریک نگهداری شدند. در پایان، جذب نوری نمونه ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد و نتایج به صورت غلظت معادل میلی گرم گالیک اسید در لیتر نمونه گزارش گردید (۱۳).

۲-۵-تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

روش مهار رادیکال آزاد^۱ ABTS جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های سرکه استفاده شد که بر اساس کاهش رنگ رادیکال ABTS انجام می شود (۱۴). رادیکال آزاد ABTS با حل کردن در آب و در معرض پرسولفات پتاسیم طی مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت حاصل شد. سپس جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر با حضور نمونه طی مدت ۵ دقیقه به وسیله دستگاه الیزا ریدر^۲ تعیین گردید.

درصد مهار رادیکال آزاد مطابق با معادله زیر محاسبه شد:

$$\%Inhibitory Activity = \frac{(A_{Control} - A_{Sample})}{A_{Control}} * 100$$

معادله ۲-۳- تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS: A Control جذب نوری نمونه کنترل، A Sample: جذب نوری نمونه حاوی ماده مورد آزمون.

۲-۶- بررسی نمونه ها با روش مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)^۳

از این آزمون که برای شناسایی گروه های عاملی از آن استفاده شد که می تواند میزان شدت طیف مادون قرمز را بر اساس طول موج جذبی رسم نماید. برای آنالیز نمونه های سرکه از روش ساختن قرص استفاده شد بدین صورت که ابتدا میزان ۰/۱۴۴۵ گرم از پتاسیم برماید در جایگاه مخصوص گذاشته شد تا با اعمال فشار قرص شفاف ساخته شود. پس از آن مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه را روی قرص ریخته و داخل دستگاه قرار گرفت. سپس، نمونه ها تا رسیدن به دمای ثابت در حمام آب قرار گرفتند و توسط دستگاه آنالیز شد. در نهایت، طیف بدست آمده از دستگاه در عدد موجی ۴۰۰۰ و ۴۰۰ (یک بر سانتیمتر) با تعداد میانگین ۵ اسکن برای هر طیف انجام شد (۱۵).

۲-۷- بررسی وجود اسیدهای آلی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۴ (HPLC)

از آزمون HPLC برای جداسازی، شناسایی و اندازه گیری مقادیر کم از ترکیبات موجود در نمونه استفاده می شود که اساس جداسازی تمایل نسبی هر جز به فاز ساکن به هنگام عبور فاز متحرک روی فاز ساکن است (۱۶). به این صورت که ترکیبی که تمایل بیشتری به فاز ساکن دارد با سرعت کمتری در طول ستون حرکت می کند و ترکیبی که تمایل بیشتری به فاز متحرک دارد با سرعت بیشتری از ستون عبور می کند. از آنجایی که سرکه طبیعی حاوی مقدار کمی تارتاریک اسید، سیتریک اسید و دیگر اسیدهای گیاهی است، عدم وجود این ترکیبات در سرکه صنعتی می تواند شاخص تشخیص تقلب در نظر گرفته شود. مشخصات دستگاه به شرح ۱ بود.

جدول (۱) مشخصات دستگاه HPLC استفاده شده برای ارزیابی نمونه های سرکه
Table 1- Specifications of the HPLC System Used for Vinegar Sample Analysis

در ابتدا استانداردهای مورد نظر را به صورت مخلوط تزریق کرده تا منحنی کالیبراسیون را بدست آید. سپس هر یک از سرکه ها را بطور مجزا تزریق شد و با مقایسه با منحنی کالیبراسیون جایگاه هر کدام از اسیدهای آلی تشخیص داده شد. جهت ساخت استاندارد، میزان ۱ گرم از استیک اسید، مالیک اسید، سیتریک اسید، ۰/۸ گرم از فوماریک اسید با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. سپس از هر کدام از اسیدهای آلی نامبرده، ۱ میلی لیتر برداشته و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد تا محلول کالیبراسیون (۴ میلی گرم/میلی لیتر) به دست آید. در مرحله بعد، میزان ۰/۸ میلی لیتر از نمونه های سرکه با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد تا محلول ۴ میلی گرم/ میلی لیتر بدست آید. جهت ساخت فاز متحرک نیز

1 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid

2 Eliza reader

3 Fourier Transform Infrared Spectrometer

4.High Performance Liquid Chromatography

میزان ۱۰ میلی‌مولار/لیتر از دی هیدروژن پتاسیم فسفات را همراه با آب دیونیزه به حجم رسانده و در نهایت pH آن به ۲/۴ رسانده شد.

۸-۲- اندازه‌گیری مقدار عناصر کم مقدار با روش طیف سنجی جذب اتمی

برای اندازه‌گیری مقادیر کمیاب از فلزات از روش طیف سنجی جذب اتمی استفاده شد (۱۷). در ابتدا به ۰/۵ گرم نمونه سرکه ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید (نسبت حجمی ۱:۱) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. پس از سرد شدن، مجدداً ۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. سپس، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد اضافه و مجدداً حرارت داده شد. در نهایت ۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و بعد از حرارت دادن به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به کمک کاغذ صافی محلول صاف و مقدر منیزیم، کبالت، نیکل، سرب توسط دستگاه طیف سنجی جذب اتمی سنجیده شد و در مقایسه با نمونه شاهد (سرکه طبیعی) ارزیابی گردید.

۹-۲- روش تحلیل داده‌ها

پس از بررسی توزیع نرمال داده‌ها و در سطح سنجش پارامتریک، برای مقایسه بین تیمارها از جداول تجزیه و تحلیل واریانس و آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد و سپس برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون افزار SPSS (نسخه ۲۱) استفاده شد.

۳- یافته‌ها و بحث

۱-۳- اسیدیته

اسیدیته به‌عنوان شاخصی برای تعیین میزان استیک اسید در نمونه‌های سرکه می‌باشد. افزایش اسیدیته معمولاً ناشی از تخمیر قندها توسط مخمرهاست. در این فرآیند، گلوکز و سایر کربوهیدرات‌ها ابتدا به دی‌اکسید کربن و اتانول تبدیل می‌شوند و سپس اتانول در حضور اکسیژن به استیک اسید تبدیل می‌شود. تولید بیشتر اتانول در مرحله تخمیر می‌تواند منجر به افزایش اسیدیته نهایی شود. به همین دلیل، سرکه‌های تقطیری صنعتی که از اتانول خالص تهیه می‌شوند، معمولاً اسیدیته بالاتری دارند (۱۸). مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۳۹۴ میزان اسیدیته کل کمینه ۵ گرم در صد میلی‌لیتر می‌باشد که مطابق با داده‌های جدول ۲، اختلاف معناداری بین اسیدیته نمونه‌های سرکه تقطیری و تخمیری مشاهده نشد ($p \geq 0.05$).

نتایج پژوهش طیفه شاهی و همکاران نشان داد که سرکه سیب تجاری دارای بالاترین مقدار اسیدیته (۵/۳۱) بوده و این تفاوت با سایر نمونه‌ها به‌جز سرکه سیب سنتی از نظر آماری معنادار بود. در مقابل، سرکه عناب سنتی کمترین اسیدیته (۳/۲۰) را داشت که اختلاف آن با سرکه انگور سنتی در سطح ۵ درصد معنادار نبود (۳). مطالعه دیگری نیز در راستای نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر بود که نشان داد سرکه‌های خانگی سنتی مقادیری بین ۰/۳۲ تا ۵/۰۹ گرم استیک اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر داشتند، در مقایسه با سرکه‌های تجاری که مقادیر بالاتری بین ۴/۱۴ تا ۹/۶۳ گرم استیک اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر داشتند (۱۹).

جدول (۲) ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های سرکه

Table 2. Physicochemical Properties of Vinegar Samples

۳-۲- ارزش اکسیداسیون

نتایج حاصل از سنجش ارزش اکسیداسیون نشان می‌دهد که سرکه تخمیری دارای بالاترین میزان ترکیبات قابل اکسیداسیون است. مطابق با جدول ۲ نمونه سرکه تخمیری دارای بالاترین ظرفیت اکسیداسیون با اختلاف معنی دار با سایر نمونه‌ها بود ($p < 0.05$)، در حالی که این مقدار در نمونه تقطیری به‌طور قابل توجهی نسبت به نمونه تخمیری کمتر بود و در استیک اسید صنعتی هیچ‌گونه ظرفیت اکسیداسیونی مشاهده نشد. با این حال تفاوت بین گروه‌های تقطیری و استیک اسید صنعتی نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

نتایج حاصل از سنجش ارزش اکسیداسیون نشان داد که نمونه‌های سرکه تخمیری دارای بالاترین میزان ترکیبات قابل اکسیدشدن بودند ($p < 0.05$). این موضوع بیانگر آن است که فرآیند تخمیر طبیعی منجر به تولید مولکول‌های زیست‌فعال مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، اسیدهای آلی (نظیر مالیک اسید و سیتریک اسید) و ترکیبات فرار آروماتیک می‌شود که هر یک نقش اساسی در ظرفیت اکسیداسیون دارند. در مقابل، سرکه‌های تقطیری به دلیل عبور از مراحل تقطیر و حذف ترکیبات فرار، از نظر ترکیبات آلی ثانویه در سطح پایین‌تری قرار گرفتند و سرکه پایه صنعتی (اسید استیک سنتتیک) فاقد هرگونه ترکیب زیست‌فعال اکسیدپذیر بود. بنابراین، نوع فرآیند تولید تأثیر مستقیمی بر غنای شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی سرکه دارد. زمانی که اندیس اکسیداسیون به حداکثر مقدار خود می‌رسد می‌تواند به دلیل غنی شدن محیط از مواد مغذی مورد نیاز برای رشد و فعالیت مخمر و باکتری استوباکتر باشد که این منجر به افزایش شدید فعالیت مخمر و استوباکتر و در نتیجه استیک اسید حاصل از آن می‌شود (۱۲). در پژوهش Zhengliang Qi و همکاران در سال ۲۰۱۴، آزمون ارزش اکسیداسیون به‌عنوان ابزار تشخیصی برای شناسایی ناخالصی‌ها و تقلب در نمونه‌های سرکه به‌کار گرفته شد. نتایج نشان داد که سرکه‌های تخمیری به‌دلیل دارا بودن ترکیبات آلی قابل اکسید شدن (مانند فنول‌ها و اسیدهای آلی)، شاخص اکسیداسیون بالاتری نسبت به سرکه‌های تقطیری دارند. همچنین، با بهینه‌سازی تخمیر نیمه‌پیوسته و استفاده از پروتکل دو مرحله‌ای، انطباق‌پذیری فرآیند تولید سرکه افزایش یافت و نرخ تولید استیک اسید بهبود پیدا کرد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که ارزش اکسیداسیون می‌تواند شاخصی مؤثر برای ارزیابی کیفیت و اصالت سرکه باشد (۲۰).

۳-۳- محتوای فنولی

نتایج حاصل در جدول ۲ نشان داد که سرکه‌های تخمیری دارای محتوای فنلی به‌مراتب بالاتری نسبت به سرکه‌های تقطیری و استیک اسید صنعتی با اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$). با این حال تفاوت بین گروه‌های تقطیری و استیک اسید صنعتی نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). خواص سلامتی سرکه عمدتاً از ترکیبات زیست‌فعال آن از جمله کاروتنوئیدها و فیتواسترول‌ها و همچنین ترکیبات فنلی و ویتامین‌ها ناشی می‌شود. پلی‌فنول‌ها از جمله مهم‌ترین ترکیبات زیست‌فعال موجود در سرکه هستند که طی فرآیند تخمیر از مواد خام گیاهی تولید می‌شوند. ساختار آروماتیک حلقه فنولی و توانایی آن در تثبیت الکترون‌های آزاد، موجب عملکرد آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات می‌شود (۲۱). مقدار ترکیبات زیست‌فعال موجود در سرکه ارتباط نزدیکی با ماده خام مورد استفاده، تکنیک انتخاب شده و ماهیت میکروارگانیسم‌های دخیل در فرآیند تخمیر دارد. مولکول‌های فعال طبیعی موجود نه تنها خواص ارگانولپتیک مانند گسی، طعم و پارامترهای رنگ را ایجاد می‌کنند، بلکه نقش مهمی در پیشگیری و درمان بیماری‌های مختلف انسانی دارند (۲۲).

بررسی‌های این مطالعه نشان داد که میانگین ترکیبات فنلی موجود در سرکه‌های تخمیری به‌طور قابل توجهی نسبت به سرکه‌های تقطیری و استیک اسید صنعتی بالاتر بود که این شاخص به‌عنوان یک ملاک ارزیابی حائز اهمیت در تشخیص اصالت سرکه به‌شمار می‌رود. همسو با نتایج این مطالعه، پژوهش Kaya و همکاران، نشان داد که سرکه‌های تخمیری حاصل از میوه‌هایی مانند تمشک، انار و گل‌سرخ دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی مانند گالیک اسید، وانیلیک اسید، پروتوکاتچوئیک اسید و فرولیک اسید بودند که این ترکیبات در سرکه‌های صنعتی و تقطیری به‌مراتب کمتر یا غیرقابل شناسایی در نظر گرفته شد. این پژوهش نشان داد که فرآیند تخمیر طبیعی موجب آزادسازی ترکیبات زیست‌فعال از دیواره سلولی گیاهان شده و نقش مهمی در افزایش محتوای فنلی دارد (۲۳). علاوه بر این، مطالعه دیگری که بر روی سرکه‌های انگور خانگی انجام شد و نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در سرکه‌های تخمیری به‌طور قابل توجهی بیشتر از سرکه‌های تقطیری است؛ به‌طوری‌که این تفاوت در برخی موارد تا حدود ۹۰٪ گزارش شده است. بنابراین فرآیند تخمیر طبیعی نقش مؤثری در افزایش محتوای ترکیبات زیست‌فعال از جمله فنل‌ها دارد، در حالی‌که روش‌های صنعتی و تقطیری به‌دلیل حذف ترکیبات فرار و زیستی، منجر به کاهش چشمگیر این ترکیبات می‌شوند (۲۴).

۳-۴- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

استرس اکسیداتیو عامل مهمی در فساد مواد غذایی و همچنین بروز بیماری‌های مزمن مانند اختلالات کبدی، عصبی و قلبی-عروقی است. مصرف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی علاوه بر کنترل اکسیداسیون مواد غذایی می‌تواند در پیشگیری از چنین بیماری‌هایی موثر باشد. سرکه‌های میوه می‌توانند مقادیری از آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آب‌میوه یا میوه‌ها را حفظ کنند. علاوه بر این، سرکه‌های میوه می‌توانند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رژیم‌های غذایی را افزایش دهند، زیرا فرآیند تخمیر می‌تواند اجزای عملکردی مانند اسیدهای آلی را تولید کند که در مواد خام میوه وجود ندارند یا به ندرت وجود دارند. از این رو، تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرکه‌های مختلف ارزشمند است (۴). مطابق با جدول ۲، تنها نمونه سرکه تخمیری دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بود و اختلاف معناداری با سایر نمونه‌ها داشت ($p < 0.05$). در حالی که در نمونه‌های سرکه تقطیری و استیک اسید صنعتی هیچ‌گونه مهار رادیکال آزاد مشاهده نشد و اختلاف معناداری هم نداشتند. این نتایج به‌طور مستقیم با محتوای بالاتر ترکیبات فنولی آن مرتبط است. در حالی که سرکه‌های تقطیری و استیک اسید صنعتی هیچ‌گونه خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان ندادند. همگام با پژوهش حاضر، مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۹ نشان داد که در میان ۲۳ سرکه میوه، بالاترین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در سرکه بالزامیک و سرکه شراب قرمز یافت شد. علاوه بر این، همبستگی بالای محتوای فنولی با توان آنتی‌اکسیدانی احیای آهن (FRAP^۱) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس (TEAC^۲) نشان داد که توانایی سرکه‌های میوه در کاهش اکسیدان‌ها و حذف رادیکال‌های آزاد عمدتاً به پلی‌فنول‌ها و اسیدهای آلی نسبت داده می‌شود (۴). همچنین مطالعه دیگری نیز نشان داد که سرکه بالزامیک تخمیری بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی را داشت. همچنین سرکه‌های میوه‌ای تخمیری دیگر نیز مقادیر قابل توجهی نشان دادند. اما در مقابل، استیک اسید صنعتی فاقد ترکیبات فنولی بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در آزمون‌ها بسیار پایین یا غیرقابل اندازه‌گیری گزارش شد (۲۵).

۳-۵- نتایج FTIR

بر اساس داده‌های FTIR، گروه‌های متیل (CH_3)، هیدروکسیل (OH) و کربونیل (C=O) در ساختار مولکولی استیک اسید صنعتی حضور دارند. عدد موجی مربوط به ارتعاشات هر گروه عاملی به شرح جدول ۳ است. همچنین شکل ۱ نتیجه طیف بدست آمده از استیک اسید را نشان داده است.

جدول (۳) گروه‌های عاملی استیک اسید
Table 3. Functional Group of acetic acid

شکل (۱): طیف FTIR استیک اسید.
Figure 1: FTIR Spectrum of Acetic Acid

بر اساس نتایج FTIR ارائه‌شده در جدول ۴، تحلیل طیفی نمونه‌های سرکه در ناحیه عدد موجی $3600-3300\text{ cm}^{-1}$ حضور باندهای کششی گروه هیدروکسیل (O-H) را نشان داد. این باندها در نمونه سرکه‌های تخمیری و تقطیری با شدت متفاوت مشاهده شدند، در حالی که در اسید استیک صنعتی و محلول ۵ درصد آن، به دلیل فقدان ترکیبات زیست‌فعال، این باند بسیار ضعیف یا فاقد پیک مشخص بود. حضور قوی باند O-H در سرکه‌های تخمیری بیانگر وجود فنول‌ها، اسیدهای آلی ثانویه، قندهای باقیمانده و اسیدهای آمینه حاصل از فرآیند تخمیر می‌باشد. این ترکیبات قادرند پیوندهای هیدروژنی گسترده ایجاد کنند و در نتیجه منجر به ظهور پیک‌های مشخص و پیچیده در این ناحیه شوند (۹).

1 Ferric Reducing Antioxidant Power
2 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

در ناحیه عدد موجی $1500-1800 \text{ cm}^{-1}$ ، باندهای مشخص مربوط به ارتعاش کششی گروه کربونیل (C=O) مشاهده شد که نشان‌دهنده حضور استیک اسید در تمامی نمونه‌ها است. شدت بیشتر این باند در سرکه‌های تخمیری نشان‌دهنده غلظت بالاتر اسیدهای آلی زیست‌مشتق همچون مالیک، لاکتیک و سیتریک اسید است که در فرآیند تخمیر الکلی و سپس استیکی تولید می‌شوند. به علاوه، با توجه به این که سرکه طبیعی صاف‌نشده و دارای ظاهر کدر است، می‌توان انتظار داشت که پراکندگی نور در آن بیشتر بوده و این امر موجب کاهش عبور نور در طیف مادون قرمز گردد. در مقابل، نمونه‌های صنعتی تنها حاوی استیک اسید خالص بوده و فاقد طیف پیچیده در این ناحیه هستند، که منجر به ساده‌شدن الگوی طیفی آنها می‌شود. این پدیده می‌تواند به‌عنوان شاخصی معتبر برای تمایز سرکه طبیعی از محصول سنتتیک مورد استفاده قرار گیرد (۲۶).

جدول (۴) بررسی طیف موجی برای نمونه‌های سرکه.
Table 4. Spectral Wave Analysis for Vinegar Samples

وجود پیک‌های اضافی در سایر نواحی طیفی در سرکه‌های تخمیری نشان‌دهنده حضور ترکیبات فرار آروماتیک، استرها و ترکیبات فنولی است که نقش کلیدی در خواص تغذیه‌ای و عملکردی سرکه دارند. این ترکیبات در سرکه‌های تقطیری به میزان کمتری مشاهده شدند و در اسید استیک صنعتی کاملاً غایب بودند. بر اساس جدیدترین مطالعات، تنوع و شدت پیک‌ها در طیف FT-IR به‌طور مستقیم با فرآیند تخمیر و اصالت محصول ارتباط دارد و می‌تواند به‌عنوان "اثر انگشت شیمیایی" برای تشخیص تقلب به کار برده شود (۲۷).

بنابراین، نتایج FTIR مطالعه حاضر تایید می‌کند که: (۱) وجود پیک‌های اضافی در نواحی مرتبط با O-H و C-O نشان‌دهنده منشأ طبیعی و تخمیری سرکه است، (۲) پروفایل ساده و فاقد تنوع طیفی در اسید استیک صنعتی، بیانگر تولید سنتتیک و عدم وجود متابولیت‌های زیستی است، (۳) FTIR روشی سریع، غیرمخرب، مقرون‌به‌صرفه و قابل استفاده در خطوط تولید برای پایش اصالت سرکه می‌باشد (۲۷).

این یافته‌ها همسو با مطالعات اخیر است که FTIR را به‌عنوان ابزار اصلی تشخیص سرکه طبیعی در برابر نمونه‌های تقطیری و تقلبی معرفی کرده‌اند (۲، ۷).

۳-۶ کروماتوگرافی مایع

اسیدهای آلی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های بیوشیمیایی در ارزیابی کیفیت و اصالت سرکه به شمار می‌روند. این ترکیبات نه‌تنها نقش حیاتی در ویژگی‌های حسی مانند طعم، اسیدیته و پایداری میکروبی ایفا می‌کنند، بلکه منعکس‌کننده منبع ماده خام، نوع میکروارگانیسم‌های درگیر در فرآیند تخمیر و مرحله بلوغ محصول هستند. برخی از این اسیدها نظیر مالیک اسید و سیتریک اسید به‌طور طبیعی در میوه‌هایی مانند انگور، سیب و انار وجود دارند و به‌عنوان ترکیبات اولیه در تخمیر الکلی شرکت می‌کنند (۲۶). در مقابل، اسیدهایی مانند لاکتیک، فوماریک و سوکسینیک در نتیجه فعالیت میکروارگانیسم‌های اسید لاکتیک و استیک اسید باکتری‌ها طی تخمیر ثانویه تولید می‌شوند که حضور آنها نشانگر تخمیر واقعی و اصالت زیستی سرکه است (۲۱).

بر اساس نتایج HPLC ارائه‌شده در جدول ۵، نمونه سرکه تخمیری دارای تنوع قابل توجهی از اسیدهای آلی شامل مالیک اسید، سیتریک اسید، فوماریک اسید و استیک اسید بود. این الگوی چندمؤلفه‌ای بیانگر آن است که فرآیند تخمیر در این نمونه‌ها به‌صورت طبیعی و از منبع گیاهی واقعی صورت گرفته است. در حالی که در سرکه‌های تقطیری و نمونه اسید استیک صنعتی، تنها پیک مربوط به استیک اسید مشاهده شد و سایر اسیدهای آلی قابل شناسایی نبودند. بر طبق مطالعه Yildiz در سال ۲۰۲۳، سرکه‌های تخمیری از میوه‌های قرمز مانند انار، انجیر، گل رز، شاه‌توت، تمشک و زغال‌اخته از نظر محتوای اسید آلی بویژه استیک اسید، سیتریک اسید و سوکسینیک اسید غنی هستند (۲۳). همچنین در پژوهش دیگری نیز تخمیر سرکه توت سیاه،

غلظت اسیدهای آلی مانند لاکتیک اسید، استیک اسید، سینامیک اسید و کلروژنیک اسید را به طور چشمگیری افزایش یافت که نشان دهنده غنی تر شدن ترکیب زیستی و بهبود خواص عملکردی سرکه تخمیری بود (۲۸). این وضعیت تأیید می کند که سرکه های تقطیری عمدتاً از اتانول خالص یا اسید استیک رقیق شده تولید شده اند و فاقد متابولیت های تخمیری ثانویه هستند؛ بنابراین می توان پروفایل اسیدهای آلی را به عنوان اثر انگشت بیوشیمیایی^۱ برای تشخیص اصالت و شناسایی تقلب در سرکه به کار برد.

جدول (۵) تعیین اسیدهای آلی و زمان بازداری در نمونه های سرکه با استفاده از HPLC
Table 5. HPLC Analysis Results of Organic Acids in Vinegar Samples

۷-۳-عناصر کم مقدار

وجود فلزات سنگین در سرکه یکی از نگرانی های اساسی در حوزه ایمنی مواد غذایی است، زیرا این عناصر در غلظت های بالا می توانند باعث سمیت عصبی، سرطان زایی و اختلالات کلیوی شوند. منابع بالقوه آلودگی فلزی در سرکه شامل: مواد اولیه کشاورزی (به ویژه میوه هایی که از خاک یا آب آلوده تغذیه شده اند)، تجهیزات فلزی در مراحل تخمیر و تقطیر، افزودنی های شیمیایی صنعتی و ظروف ذخیره سازی می باشد (۲۹). براساس استاندارد کدکس، سرکه های خوراکی باید از نظر فلزات سنگین مانند سرب، نیکل و کادمیوم در محدوده مجاز باقی بمانند و هرگونه افزایش غیرطبیعی در این عناصر می تواند نشان دهنده استفاده از اسید استیک صنعتی یا عدم کنترل کیفی در تولید باشد.

نتایج جدول ۶ نشان داد که استیک اسید صنعتی دارای بیشترین غلظت سرب (Pb) بود که به طور معنی داری بالاتر از دو گروه دیگر ($p < 0.05$) گزارش شد. این امر نشان دهنده منشأ سنتتیک و احتمال آلودگی از مسیرهای صنعتی است. در مقابل، سرکه های تخمیری به دلیل استفاده از مواد خام گیاهی و نقش میکروارگانیسم ها در رسوب گذاری یا جذب زیستی سرب، دارای غلظت به مراتب پایین تری بودند. با این حال، مشاهده مقدار سرب کمی بالاتر در سرکه تخمیری نسبت به سرکه تقطیری ممکن است ناشی از حضور طبیعی عناصر فلزی در مواد خام اولیه مانند انگور یا سیب باشد.

در خصوص نیکل (Ni)، استیک اسید صنعتی بیشترین غلظت را نشان داد که ممکن است ناشی از استفاده از کاتالیست های صنعتی بر پایه نیکل یا تماس با تجهیزات فلزی در فرآیند تولید شیمیایی باشد. در مقابل، هر دو نمونه طبیعی تخمیری و تقطیری دارای مقادیر بسیار کمتر نیکل بودند که بیانگر ایمنی بالاتر آن ها است. در تمامی نمونه ها، غلظت کبالت (Co) کمتر از حد تشخیص دستگاه بود که نشان دهنده حداقل خطر از این عنصر است.

برخلاف فلزات سمی، منیزیم (Mg) در دو گروه سرکه تخمیری و تقطیری در سطوح بالاتر از اسید استیک صنعتی گزارش شد. این عنصر به عنوان یک ریزمغذی ضروری در واکنش های بیوشیمیایی و تعادل الکترولیتی بدن نقش دارد و حضور آن نشان دهنده منشأ طبیعی و ارزش تغذیه ای بالاتر سرکه های تخمیری است. افزایش منیزیم در سرکه های طبیعی احتمالاً ناشی از آزادسازی یون های معدنی از مواد گیاهی در طول تخمیر و فعالیت میکروبی می باشد که این موضوع قبلاً نیز توسط Judith و همکاران (۲۰۲۱) تأیید شده است (۳۰).

مطالعه Judith (2021) گزارش کرد که سرکه های صنعتی حاوی مقادیر بالاتری از فلزات سمی از جمله سرب، کروم و کادمیوم بودند، در حالی که سرکه های سنتی تخمیری غنی از عناصر مفید مانند منیزیم، پتاسیم و کلسیم بودند. در پژوهش مشابهی، سطح عناصر معدنی ضروری در سرکه های تخمیری خانگی به طور معنی داری بالاتر گزارش شد که نشان دهنده قابلیت جذب زیستی و مزایای عملکردی این محصولات است (۳۱).

جدول (۶) میزان عناصر کم مقدار در نمونه های سرکه.

Table 6. Trace Elements in Vinegar Samples.

۴- پیشنهادات برای پژوهش های آینده

به منظور توسعه و تکمیل نتایج این پژوهش، پیشنهاد می شود در مطالعات آتی تنوع و حجم نمونه های سرکه افزایش یابد و نمونه هایی از مناطق جغرافیایی مختلف کشور و همچنین سرکه های وارداتی مورد بررسی قرار گیرند. چنین رویکردی می تواند به ایجاد یک پایگاه داده جامع تر از ویژگی های شیمیایی، زیستی و ایمنی سرکه ها منجر شده و قابلیت تعمیم نتایج اصالت سنجی را ارتقا دهد. همچنین توصیه می شود در پژوهش های آینده شاخص های میکروبی و بار زیستی سرکه ها در کنار پارامترهای شیمیایی و طیفی مورد ارزیابی قرار گیرند تا ارتباط فرآیند تخمیر با ایمنی، پایداری و کیفیت نهایی محصول با دقت بیشتری تبیین شود. علاوه بر این، انجام مطالعات کنترل شده روی مخلوط های متنوع سرکه تخمیری از میوه های متنوع به همراه مخلوط آنها با سرکه تقطیری در نسبت های مختلف و استیک اسید می تواند امکان تعیین آستانه تشخیص تقلب، به ویژه در سطوح پایین را فراهم آورد. از سوی دیگر به کارگیری روش های کمومتریک و تحلیل های چندمتغیره مبتنی بر داده های FTIR، پروفایل اسیدهای آلی و فعالیت آنتی اکسیدانی، رویکردی کارآمد برای تقویت سامانه های پایش اصالت سرکه در آینده خواهد بود.

۵- نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان داد که سرکه های تخمیری، به واسطه فرآیند طبیعی تولید و غنی بودن از ترکیبات زیست فعال، از برتری قابل توجهی در جنبه های تغذیه ای، زیستی و ایمنی در مقایسه با سرکه های تقطیری برخوردارند. این تفاوت ها در افزایش معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی، غلظت ترکیبات فنولی و اسیدهای آلی مشهود بود. با توجه به نتایج حاصل؛ محتوای فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی را می توان به عنوان یک شاخص تشخیص تقلب در سرکه های تخمیری در نظر گرفته می شود. گرچه این شاخص جهت تشخیص تقلب در سرکه های تقطیری چندان کارآمد نمی باشد. نتایج به دست آمده از داده ها تعیین اسیدیته نشان داد، اسیدیته صرفا به عنوان یک شاخص ارزیابی کیفی محسوب می شود و نمی تواند به عنوان ملاک تشخیص تقلب در سرکه محسوب شود.

نتایج تعیین سرب در سرکه های تقطیری و تخمیری و مقایسه آن با استیک اسید صنعتی نشان داد؛ میزان سرب در نمونه های سرکه تقطیری به طور معنا داری کمتر از استیک اسید صنعتی است. نتایج تعیین مقدار نیکل و کبالت نشان داد، میزان نیکل در استیک اسید صنعتی بیش از سرکه تقطیری و تخمیری است و می تواند، در کنار سایر عوامل مورد ارزیابی به عنوان شاخص ارزیابی تشخیص تقلب سرکه به کار رود. اما با توجه به اینکه در سرکه های تخمیری امکان آلودگی اولیه به سرب جهت تولید محصول وجود دارد، بنابراین این شاخص را نمی توان به تنهایی بعنوان ملاک تشخیص استیک اسید صنعتی و حضور کاتالیزور صنعتی در سرکه نسبت داد. نتایج تعیین منیزیم در نمونه های سرکه و استیک اسید صنعتی مورد بررسی نشان داد؛ اندازه گیری منیزیم شاخص مناسبی جهت ارزیابی یا تشخیص تقلب در نمونه های سرکه تخمیری و تقطیری محسوب نمی شود؛ زیرا در سرکه های تخمیری مقادیر منیزیم بالا بود و در صورت استفاده از کاتالیزور منیزیم در فرایند تولید استیک اسید صنعتی وجه تمایزی بین انواع سرکه ایجاد نمی کند و نمی تواند به عنوان ملاک تشخیص تقلب در سرکه محسوب شود.

نتایج حاصل از طیف سنجی FTIR و سایر آزمون های تحلیلی، وجود ساختارهای مولکولی خاص و ترکیبات مغذی را در سرکه های تخمیری تأیید می کنند؛ ساختارهایی که در نمونه های صنعتی و تقطیری به ندرت یافت شد که می توانند به عنوان شاخص های تشخیصی معتبر برای تمایز سرکه های طبیعی از نمونه های تقلبی و صنعتی مورد استفاده قرار گیرند. این امر به ویژه در شرایطی که بازار با نمونه های تقلبی و کم کیفیت مواجه است، از اهمیت بالایی برخوردار است.

در مجموع، این مطالعه بر ضرورت شناخت دقیق تر ترکیبات زیست فعال و شاخص های اصالت در سرکه های تخمیری تأکید دارد. ادامه تحقیقات در این زمینه می تواند به ارتقا کنترل کیفیت، سلامت مصرف کنندگان، و توسعه کاربردهای درمانی و عملکردی سرکه های طبیعی در صنایع غذایی منجر شود.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مرکز تحقیقات حلال سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران انجام شده است. بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از همکاری آن‌ها اعلام می‌داریم.

منابع

1. Román-Camacho JJ, García-García I, Santos-Dueñas IM, García-Martínez T, Mauricio JC. Latest trends in industrial vinegar production and the role of acetic acid bacteria: classification, metabolism, and applications—a comprehensive review. *Foods*. 2023; 12(19), 3705. <https://doi.org/10.3390/foods12193705>.
2. Luzón-Quintana LM, Castro R, Durán-Guerrero E. Biotechnological processes in fruit vinegar production. *Foods*. 2021;10(5):945. <https://doi.org/10.3390/foods10050945>.
3. Shahi T JS, Pouyan M, Ebrahimi M, Hosseini S, Raghara H, et al. Comparison of physicochemical and antioxidant properties of traditional jujube, apple, and grape vinegars with industrial apple vinegar. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 2022;18(121):173.doi. 10.52547/fsct.18.121.14.
4. Liu Q, Tang G-Y, Zhao C-N, Gan R-Y, Li H-B. Antioxidant activities, phenolic profiles, and organic acid contents of fruit vinegars. *Antioxidants*. 2019;8(4):78. doi: 10.3390/antiox8040078.
5. Perumpuli P, Dilrukshi D. Vinegar: A functional ingredient for human health. *International Food Research Journal*. 2022;29(5):959–74. doi:10.47836/ifrj.29.5.01.
6. Chen G-L, Zheng F-J, Lin B, Yang Y-X, Fang X-C, Verma KK, et al. Vinegar: A potential source of healthy and functional food with special reference to sugarcane vinegar. *Frontiers in nutrition*. 2023;10:1145862. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1145862>.
7. Wagner M, Heredia JZ, Montemerlo A, Ortiz D, Camiña JM, Garrido M, et al. Multiparametric analysis and authentication of Argentinian vinegars from spectral sources. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2024;125:105801. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105801>
8. Cavdaroglu C, Ozen B. Applications of UV–visible, fluorescence and mid-infrared spectroscopic methods combined with chemometrics for the authentication of apple vinegar. *Foods*. 2023;12(6):1139. <https://doi.org/10.3390/foods12061139>.
9. Cavdaroglu C, Ozen B. Authentication of vinegars with targeted and non-targeted methods. *Food Reviews International*. 2023;39(1):41–58. DOI: 10.1080/87559129.2021.1894169
10. Cavdaroglu C, Ozen B. Detection of vinegar adulteration with spirit vinegar and acetic acid using UV–visible and Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*. 2022;379:132150. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132150>.
11. ISIRI 1394. Spice and Condiments—Vinegar—Test Methods. Iran National Standards Organization. 3th Revision 2022. <file:///C:/Users/f.hashempour/Downloads/1394.pdf>.
12. Teimorimanesh M, Abbasi H. Optimization of ammonium phosphate, potassium sulfate and *Saccharomyces cerevisiae* in the production of acetic acid in a batch fermentor using response surface methodology. 2022. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 18(4), 397-413. DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.70315.1043
13. Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965;16(3):144–58. DOI: 10.5344/ajev.1965.16.3.144
14. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 199. ۷–۱۲۳۱:(۱۰–۹)۲۶;۹. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
15. Calle JLP, Ferreiro-González M, Ruiz-Rodríguez A, Barbero GF, Álvarez JÁ, Palma M, et al. A methodology based on FT-IR data combined with random forest model to generate spectralprints for the characterization of high-quality vinegars. *Foods*. 2021;10(6):1411. <https://doi.org/10.3390/foods10061411>
16. Hajimahmoodi M, Khanavi M, Sadeghpour O, Ardekani MRS, Mazde FZ, Khoddami MS, et al. Application of organic acid based artificial neural network modeling for assessment of commercial vinegar authenticity. *Food Analytical Methods*. 2016;9(12):3451–9. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0510-x>
17. Hashemi M, Salehi T, Aminzare M, Raeisi M, Afshari A. Contamination of toxic heavy metals in various foods in Iran: a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017;9(10):1692–7.

18. Solieri L, Giudici P. Yeasts associated to traditional balsamic vinegar: ecological and technological features. *International Journal of Food Microbiology*. 2008;125(1):36–45. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.022
19. Cosmulescu S, Stoenescu A-M, Trandafir I, Tuțulescu F. Comparison of chemical properties between traditional and commercial vinegar. *Horticulturae*. 2022;8(3):225. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030225>
20. Qi Z, Yang H, Xia X, Wang W, Yu X. High strength vinegar fermentation by *Acetobacter pasteurianus* via enhancing alcohol respiratory chain. *Biotechnology and bioprocess engineering*. 2014;19(2):197–204. DOI: 10.1007/s12257-013-0727-0
21. Ho CW, Lazim AM, Fazry S, Zaki UKHH, Lim SJ. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food chemistry*. 2017;221:1621–30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.128>
22. Ousaaid D, Mechchate H, Laaroussi H, Hano C, Bakour M, El Ghouizi A, et al. Fruits vinegar: Quality characteristics, phytochemistry, and functionality. *Molecules*. 2021;27(1):222. doi: 10.3390/molecules27010222.
23. Yildiz E. Characterization of fruit vinegars via bioactive and organic acid profile using chemometrics. *Foods*. 2023;12(20):3769. <https://doi.org/10.3390/foods12203769>
24. Antoniewicz J, Kochman J, Jakubczyk K, Janda-Milczarek K. The influence of time and storage conditions on the antioxidant potential and total phenolic content in homemade grape vinegars. *Molecules*. 2021;26(24):7616. <https://doi.org/10.3390/molecules26247616>
25. Bakir S, Devecioglu D, Kayacan S, Toydemir G, Karbancioglu-Guler F, Capanoglu E. Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars. *European Food Research and Technology*. 2017;243(12):2083–94. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2908-0>
26. Mohamed SH, Salim AI, Issa YM, Ali AE. Detection and Identification of Adulteration in Vinegar Samples Based on Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatographic (RP-HPLC) Strategies. *ACS Food Science & Technology*. 2021;2(1):21–30. doi:10.1021/acsfoodscitech.1c00169.
27. Kadiroğlu P. FTIR spectroscopy for prediction of quality parameters and antimicrobial activity of commercial vinegars with chemometrics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018;98(11):4121–7. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8929>
28. Shao L, Zhao X, Cai W, Zhang Q, Shan C. Changes in nutrient composition, antioxidant capacity, phenolics, and volatile organic compounds in black mulberry vinegar across different fermentation stages. *Food Bioscience*. 2025;66:106222. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106222>
29. Karavoltzos S, Sakellari A, Sinanoglou VJ, Zoumpoulakis P, Plavšić M, Dassenakis M, et al. Copper complexing capacity and trace metal content in common and balsamic vinegars: impact of organic matter. *Molecules*. 2020;25(4):861. <https://doi.org/10.3390/molecules25040861>.
30. Judith OO, Ezemba AS, Ajeh JE, Chude CO, Ezemba CC. Evaluation of the proximate and elemental composition of traditional and industrial produced vinegar. *International Journal of Innovative Research & Development*. 2021;10(5). DOI. : 10.24940/ijird/2021/v10/i5/MAY21040
31. Antoniewicz J, Jakubczyk K, Kupnicka P, Bosiacki M, Chlubek D, Janda K. Analysis of selected minerals in homemade grape vinegars obtained by spontaneous fermentation. *Biological Trace Element Research*. 2022; 200, 910-919. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02671-9>

Tables

Column	PerkinElmer BrownleeValidated Aqueous C18,5µm, 4.6×250 mm
Mobile phase	Isocratic,25Mm K-Phosphate buffer;Ph:2.4
Analysis Time	8.0 min;wash/ equilibration time=6.0 min
Flow Rate	1.5mL/min
Oven Temp	30 C°
UV Detection	Wavelength:210 nm
Injection Volume	20µL
Sampling (Data)Rate	5 pts./sec

Vinegar Type	Total Acidity (g/100 mL)	Oxidation Value (mL)	Phenolic Content (mg/L Gallic Acid)	ABTS Radical Scavenging (%)
Fermented Vinegar (N:9)	5.02 ± 0.44 ^a	2875.909 ± 35.73 ^a	73.96 ± 0.108 ^a	75.051 ± 1.309 ^a
Distilled Vinegar (N:5)	5.20 ± 0.001 ^a	113.25 ± 9.82 ^b	0.698 ± 0.07 ^b	0.00 ± 0.00 ^b
Industrial Acetic Acid (N:2)	—	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^b

Values are presented as mean ± standard deviation. Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$) within each column.

Functional Group	Wavenumber (cm ⁻¹)
CH ₃	93, 1048, 2996, 1382, 1430, 2944, 3051
OH	1264, 3583
C=O	642, 1788

Vinegar Type	3300–3600 cm ⁻¹ (X: Wavenumber, Y: Transmittance)	1500–1800 cm ⁻¹ (X: Wavenumber, Y: Transmittance)
Fermented Vinegar	X: 3450.3199 Y: 24.6299	X: 1646.7513 Y: 50.6009
Distilled Vinegar	X: 3450.3199 Y: 8.8159	X: 1649.7513 Y: 31.2481
Acetic Acid	X: 3450.3199 Y: 17.3974	X: 1646.7513 Y: 41.1021

Mixed samples were analyzed using FTIR

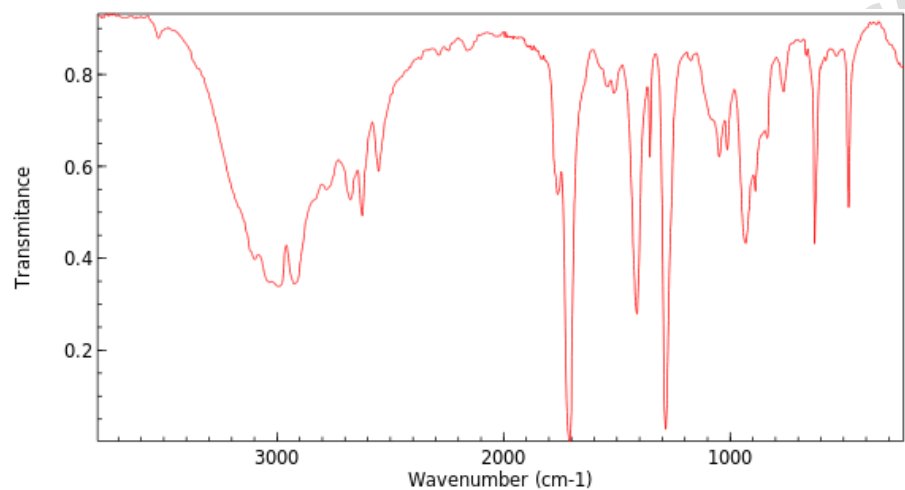
Vinegar Type	Malic Acid (mg/100 mL)	Acetic Acid (mg/100 mL)	Citric Acid (mg/100 mL)	Fumaric Acid (mg/100 mL)
Fermented Vinegar (N:9)	59.662±1.85	4.893±0.21	49.184±3.08	0.079± 0.008
Distilled Vinegar (N:5)	Nd	5.41± 0.54	Nd	Nd
Industrial Acetic Acid (N:2)	Nd	3.8± 0.02	Nd	Nd
Retention Time (Rt) - min	3.666	4.567	7.888	10.192

Nd: Not detected.

Vinegar Sample	Lead (µg/L)	Cobalt (µg/L)	Nickel (µg/L)	Magnesium (µg/L)
Fermented Vinegar (N:9)	339.935 ± 25.00 ^b	<0.009	382.066 ± 37.08 ^b	152874.194 ± 828.36 ^c
Distilled Vinegar (N:5)	18.077 ± 0.78 ^a	<0.009	94.232 ± 11.20 ^a	149620.008 ± 140.11 ^b
Industrial Acetic Acid (N:2)	8037.81 ± 0.03 ^c	<0.0036	6323.138 ± 0.00 ^c	626.026 ± 0.00 ^a

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at $p < 0.05$. Same letters indicate no significant difference.

Figure



Authenticity of vinegar based on the determination of phenolic compounds, antioxidant capacity, and FTIR spectroscopy: comparison of fermented, distilled vinegar, and industrial acetic acid

Short title: Vinegar Authenticity via Phenolics, Antioxidants, and FTIR Analysis

Farnaz Vaziri Nasrin¹, Fatemeh Ghamari^{2*}, Maryam Moslehishad³, Fataneh Hashempour-baltork¹

1. Halal Research Center of IRI, Food and Drug Administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
2. Department of Science, Payame Noor University, P.O.Box 19395-4697, Tehran, Iran
3. Department of Food Science and Technology, ShQ. C., Islamic Azad University, Shahr-e Qods, Iran

* Corresponding author: Fatemehghamari@pnu.ac.ir

Abstract

Introduction

Vinegar is a widely consumed functional condiment with well-documented nutritional, antioxidant, and therapeutic properties. However, increasing economic adulteration—particularly the replacement of naturally fermented vinegar with industrial acetic acid—raises concerns about authenticity, safety, and nutritional quality. This study aimed to authenticate commercial vinegar products and compare the physicochemical, antioxidant, biochemical, and safety characteristics of fermented and distilled vinegars with those of acetic acid-based industrial products. Such comparisons are crucial for consumer protection, regulatory oversight, and promoting the use of naturally fermented vinegar as a functional food ingredient.

Materials and Methods

Fifteen commercial vinegar samples, including fermented, distilled, and industrial acetic acid-based products, were analyzed. Total acidity, oxidation value, ABTS radical scavenging activity, and total phenolic content were determined using standard titrimetric and spectrophotometric methods. Organic acids (malic, citric, fumaric, and acetic acids) were profiled via high-performance liquid chromatography (HPLC), while trace elements (Pb, Ni, Mg, Co) were quantified by atomic absorption spectroscopy. Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy was employed to identify functional groups and biochemical fingerprints associated with natural fermentation. Data were statistically analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Results and Discussion

Fermented vinegars showed significantly higher total phenolic content, antioxidant activity, and oxidation values than distilled and acetic acid-based vinegars ($p < 0.05$), indicating a richer composition of bioactive compounds produced during natural fermentation. HPLC analysis confirmed the presence of natural organic acids—malic, citric, and fumaric—exclusively in fermented samples, while distilled and industrial samples contained only acetic acid, providing a clear marker of authenticity. FTIR spectra further highlighted the unique biochemical fingerprint of fermented vinegar, with functional groups corresponding to phenolics, alcohols, and carbonyl-containing metabolites, which were absent or minimal in acetic acid-based products.

Trace element analysis revealed higher magnesium levels in fermented vinegars, reflecting a nutritional advantage, whereas industrial acetic acid samples exhibited elevated lead and nickel levels ($p < 0.05$), likely due to residues from industrial synthesis, indicating potential safety concerns. Overall, the combined analysis of organic acids, phenolics, antioxidant capacity, FTIR profiles, and trace elements offered a reliable multimetric approach to distinguish authentic fermented vinegars from adulterated or synthetic products.

Conclusions

Fermented vinegars demonstrate superior nutritional quality, bioactive compound content, and antioxidant capacity compared with distilled and industrial acetic acid-based vinegars. The presence of natural organic acids and distinct FTIR fingerprints provides robust evidence of authenticity, while elevated heavy metals in synthetic products highlight safety concerns. Integrating chemical, spectral, and elemental analyses offers a comprehensive strategy for vinegar authentication. These findings support the promotion of naturally fermented vinegars as functional foods with enhanced health benefits and improved safety profiles.

Keywords: Vinegar, Fermentation, Antioxidant, Authentication, Acetic Acid