

مقاله پژوهشی

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

(تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۹/۰۱، تاریخ آخرین بازنگری: ۱۴۰۴/۱۰/۰۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۴)

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* به طور ناقص و از طریق فعالیت آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و آلدهید 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 غوطه‌وری است. در روش سطحی، میکروارگانیسم‌ها 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٪ 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 دارابودن 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 به طور معمول حداقل اسیدیته را بین ۴ تا ۵٪ و حداکثر اتانول را ۰/۵٪ حجمی تعیین می‌کنند [۸]. کیفیت سرکه نه تنها به میزان ترکیبات زیست‌فعال آن، بلکه به اصالت محصول نیز وابسته است. با افزایش مطالعات علمی درباره 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 مخلوط‌کردن، افزودن استیک اسید صنعتی می‌تواند عواقب منفی ویژه‌ای، مانند افزایش فلزات سنگین را داشته باشد [۸]. بنابراین این احتمال وجود دارد که محصولات 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 پیچیده‌بودن ماهیت سرکه، تشخیص تقلب با افزایش تعداد تقلب‌هایی که با محصول

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 کمرنگ تیترا شد. در نهایت، اسیدیته کل طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

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

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

۳.۲. آزمون ارزش اکسیداسیون

آزمون ارزش اکسیداسیون، مطابق استاندارد ۱۳۹۴ انجام گرفت [۱۱]. ابتدا ۵ ml از آزمون (سرکه) در یک بالن ۲۵۰ ml در سمباده‌ای ریخته و ۱۰ ml سولفوریک اسید (نسبت حجمی ۱:۳) و ۱۵ ml محلول پتاسیم پرمنگنات ($N=0/1$) افزوده شد. سپس ظرف محلول با درب بسته به مدت ۳۰ دقیقه در مکانی تاریک در دمای 20°C قرار داده شد. در ادامه، ۵ ml محلول یدرو پتاسیم به آن افزوده و ید آزاد شده، با سدیم تیوسولفات ($N=0/02$) عیارسنجی شد. در نزدیکی نقطه پایانی تیتراسیون، مقدار ۰/۵ ml معرف ناشسته به آن اضافه کرده و تیتراسیون تا بی‌رنگ شدن کامل محیط ادامه یافت. به‌منظور 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 میلی‌لیتر، B : میلی‌لیتر سدیم تیوسولفات مصرفی برای آزمون شاهد، A : میلی‌لیتر سدیم تیوسولفات مصرفی برای آزمون نمونه

۴.۲. تعیین محتوای فنلی کل

برای سنجش محتوای فنلی کل نمونه‌ها، از معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها به‌صورت رقیق شده تهیه گردیدند و به هر لوله آزمایش، حجم مشخصی از معرف فولین

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 چندبعدی 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 تاییدشده نمونه‌برداری 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 نمونه‌های بازار) ارزیابی شد. نمونه‌های تجاری خریداری‌شده از بازار با نمونه‌های شاهد مقایسه شدند و بر اساس میزان تطابق با شاخص‌های تعریف‌شده، در گروه سرکه تخمیری، تقطیری یا پایه اسید استیک صنعتی طبقه‌بندی شدند. تعیین اصالت نمونه‌های سرکه بر اساس تحلیل ترکیبات شیمیایی آن صورت گرفت. شاخص‌های مورد بررسی، شامل محتوای ترکیبات فنولی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، گروه‌های عاملی، اسیدهای آلی و عناصر کم مقدار بودند که با نمونه‌های تقلبی مبتنی بر استیک اسید صنعتی مقایسه شدند. کلیه آزمون‌های فیزیکی، شیمیایی و میکروبی مطابق با روش‌های استاندارد ملی ایران انجام شد و آزمون‌ها روی هر نمونه نیز در دو تکرار انجام شد.

۲.۲. اسیدیته کل

تعیین اسیدیته کل نمونه‌ها، مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۳۹۴ انجام شد [۱۱]. در این روش، ۲۵۰ ml آب مقطر تازه جوشیده و سردشده به ۱۰ ml نمونه

در حمام آب قرار گرفتند و توسط دستگاه آنالیز شد. در نهایت، طیف به‌دست آمده از دستگاه در عدد موجی ۴۰۰ و ۴۰۰ (یک بر سانتیمتر) با تعداد میانگین ۵ اسکن برای هر طیف انجام شد [۱۵].

۷.۲. بررسی وجود اسیدهای آلی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۴ (HPLC)

از آزمون HPLC برای جداسازی، شناسایی و اندازه‌گیری مقادیر کم از ترکیبات موجود در نمونه استفاده می‌شود 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 می‌کند و ترکیبی که تمایل بیشتری به فاز متحرک دارد با سرعت بیشتری از ستون عبور می‌کند. از آنجایی که سرکه طبیعی حاوی مقدار کمی تارتاریک اسید، سیتریک اسید و دیگر اسیدهای گیاهی است، عدم وجود این ترکیبات در سرکه صنعتی می‌تواند شاخص تشخیص تقلب در نظر گرفته شود. مشخصات دستگاه به شرح ۱ بود.

در ابتدا استانداردهای موردنظر را به‌صورت مخلوط تزریق کرده تا منحنی کالیبراسیون را به‌دست آید. سپس هر یک از سرکه‌ها را به‌طور مجزا تزریق شد و با مقایسه با منحنی کالیبراسیون جایگاه هر کدام از اسیدهای آلی تشخیص داده شد. جهت ساخت استاندارد، میزان ۱ g از استیک اسید، مالیک اسید، سیتریک اسید، ۰/۸ g از فوماریک اسید با آب مقطر به حجم ۲۵ ml رسانده شد. سپس از هرکدام از اسید-های آلی نامبرده، ۱ ml برداشته و با آب مقطر به حجم ۱۰ ml رسانده شد تا محلول کالیبراسیون (۴ mg/ml) به دست آید. در مرحله بعد، میزان ۰/۸ ml از نمونه‌های سرکه با آب مقطر به حجم ۱۰ ml رسانده شد تا محلول ۴ mg/ml به‌دست آید. جهت ساخت فاز متحرک نیز میزان ۱۰ mμ/L از دی هیدروژن پتاسیم فسفات را همراه با فسفریک اسید با آب دیونیزه به حجم رسانده و در نهایت pH آن به ۲/۴ رسانده شد.

سیوکالتیو افزوده شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق، محلول سدیم کربنات ۷/۵٪ به لوله‌ها اضافه گردید و مخلوط به‌خوبی هم زده شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲ ساعت، در محیط تاریک نگهداری شدند. در پایان، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ nm با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و نتایج به‌صورت غلظت معادل میلی‌گرم گالیک اسید در لیتر نمونه گزارش گردید [۱۳].

۵.۲. تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش مهار رادیکال آزاد^۱ ABTS جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های سرکه استفاده شد که بر اساس کاهش رنگ رادیکال ABTS انجام می‌شود [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 nm 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.

۶.۲. بررسی نمونه‌ها با روش مادون قرمز تبدیل فوریه^۳ (FTIR)

از این آزمون که برای شناسایی گروه‌های عاملی از آن استفاده شد که می‌تواند میزان شدت طیف مادون قرمز را بر اساس طول موج جذبی رسم نماید. برای آنالیز نمونه‌های سرکه، از روش ساختن قرص استفاده شد، بدین صورت که ابتدا میزان ۰/۱۴۴۵ g از پتاسیم برماید در جایگاه مخصوص گذاشته شد تا با اعمال فشار قرص شفاف ساخته شود. پس از آن مقدار ۱۰ μL از نمونه را روی قرص ریخته و داخل دستگاه قرار گرفت. سپس، نمونه‌ها تا رسیدن به دمای ثابت

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

2. Eliza reader

3. Fourier Transform Infrared Spectrometer

4. High Performance Liquid Chromatography

جدول (۱). مشخصات دستگاه HPLC استفاده شده برای ارزیابی نمونه‌های سرکه

Table 1. Specifications of the HPLC System Used for Vinegar Sample Analysis

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

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 g/100 ml 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 به جز 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٪ معنادار نبود [۳]. مطالعه دیگری نیز در راستای نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر بود که نشان داد سرکه‌های خانگی سنتی مقادیری بین ۰/۳۲ تا ۵/۰۹ استیک اسید در ۱۰۰ ml داشتند، در مقایسه با سرکه‌های تجاری که مقادیر بالاتری بین ۴/۱۴ تا ۹/۶۳ استیک اسید در ۱۰۰ ml داشتند [۱۹].

۸.۲. اندازه‌گیری مقدار عناصر کم مقدار با روش طیف‌سنجی جذب اتمی

برای اندازه‌گیری مقادیر کمیاب از فلزات از روش طیف‌سنجی جذب اتمی استفاده شد [۱۷]. در ابتدا به ۵/۰ ml نمونه سرکه ۱۰ ml نیتریک اسید (نسبت حجمی ۱:۱) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. پس از سرد شدن، مجدداً ۵ ml نیتریک اسید غلیظ به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. سپس، ۲ ml آب مقطر و ۳ ml آب اکسیژنه ۳۰٪ اضافه و مجدداً حرارت داده شد. در نهایت ۵ ml کلریدریک اسید همراه با ۱۰ ml آب مقطر اضافه و بعد از حرارت دادن به حجم ۵۰ ml رسانده شد. سپس به کمک کاغذ صافی محلول صاف و مقدر منیزیم، کبالت، نیکل، سرب توسط دستگاه طیف‌سنجی 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 به عنوان شاخصی برای تعیین میزان استیک اسید در نمونه‌های سرکه می‌باشد. افزایش اسیدیته معمولاً

جدول (۲). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های سرکه

Table 2. Physicochemical Properties of Vinegar Samples

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.

۲.۳. 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 معنی‌دار با سایر نمونه‌ها بود ($p < 0.05$)، درحالی‌که این مقدار در نمونه تقطیری به‌طور قابل‌توجهی 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 به‌دلیل 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 به‌دلیل غنی‌شدن محیط از مواد مغذی موردنیاز 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 اکسیدشدن (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 شاخص 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 انتخاب‌شده و ماهیت میکروارگانیسم‌های دخیل در فرآیند تخمیر دارد. مولکول‌های

کند که در مواد خام میوه وجود ندارند یا به‌ندرت وجود دارند. از این‌رو، تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرکه‌های مختلف ارزشمند است [۴]. مطابق با جدول (۲)، تنها نمونه سرکه تخمیری دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی بود و اختلاف معناداری با سایر نمونه‌ها داشت ($p < 0.05$). در حالی‌که 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 حالی‌که 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 ($FRAP^1$) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس ($TEAC^2$) 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].

۵.۳. 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 به‌دست آمده از استیک اسید را نشان داده است.

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 فنولی موجود در سرکه‌های تخمیری به‌طور قابل‌توجهی نسبت به سرکه‌های تقطیری و استیک اسید صنعتی بالاتر بود که این شاخص به‌عنوان یک ملاک ارزیابی حائز اهمیت در تشخیص اصالت سرکه به شمار 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 فنولی، مانند گالیک اسید، وانیلین 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 فنولی دارد [۲۳]. علاوه بر این، مطالعه دیگری که بر روی سرکه‌های انگور خانگی انجام شد و نشان داد که میزان ترکیبات فنولی در سرکه‌های تخمیری به‌طور قابل‌توجهی 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].

۴.۳. 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 مؤثر 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

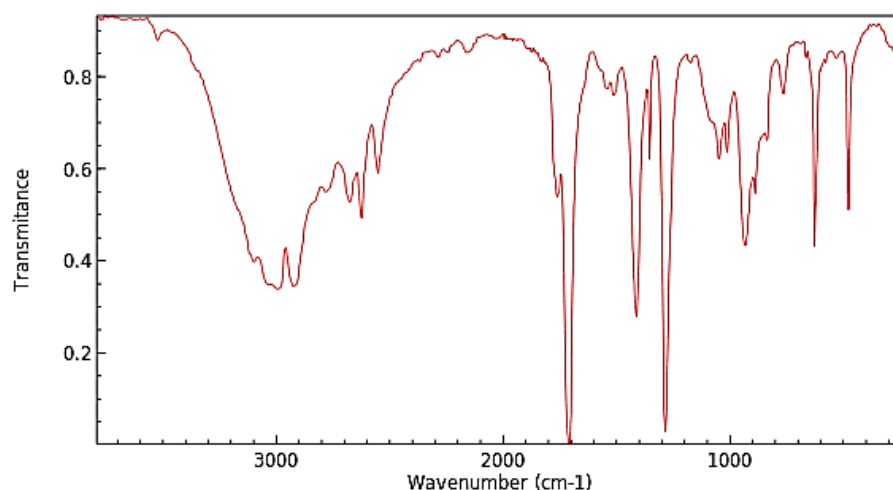
1. Ferric Reducing Antioxidant Power

2. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

جدول (۳). گروه‌های عاملی استیک اسید

Table 3. Functional Group of acetic acid

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



شکل (۱). طیف FTIR استیک اسید.

Fig. 1. FTIR Spectrum of Acetic Acid

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. به‌علاوه، با توجه به این‌که 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].

بر اساس نتایج FTIR ارائه‌شده در جدول (۴)، تحلیل طیفی نمونه‌های سرکه در ناحیه عدد موجی 3300 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، درحالی‌که در اسید استیک صنعتی و محلول ۵٪ آن، به‌دلیل 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].

در ناحیه عدد موجی 1800 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} ، باندهای مشخص مربوط به ارتعاش کششی گروه کربونیل (C=O)

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

Vinegar Type	3300–3600 cm ⁻¹	1500–1800 cm ⁻¹
	(X: Wavenumber, Y: Transmittance)	(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

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 قابل‌توجهی 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. درحالی‌که 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 به‌ویژه 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 به‌طور چشمگیری افزایش یافت که نشان‌دهنده غنی‌تر شدن ترکیب زیستی و بهبود خواص عملکردی سرکه تخمیری بود [۲۸]. این وضعیت تأیید می‌کند که سرکه‌های تقطیری عمدتاً از اتانول خالص یا اسید استیک رقیق‌شده تولید شده‌اند و فاقد متابولیت‌های تخمیری ثانویه هستند؛ بنابراین، می‌توان پروفایل اسیدهای آلی را به‌عنوان اثر انگشت بیوشیمیایی^۲ برای تشخیص اصالت و شناسایی تقلب در سرکه به کار برد.

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»^۱ برای تشخیص تقلب به کار برده شود [۲۷].

بنابراین، نتایج FTIR مطالعه حاضر تأیید 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].

۶.۳. کروماتوگرافی مایع

اسیدهای آلی، یکی از مهم‌ترین شاخص‌های بیوشیمیایی در ارزیابی کیفیت و اصالت سرکه به شمار می‌روند. این ترکیبات نه تنها 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

جدول (۵). تعیین اسیدهای آلی و زمان بازداری در نمونه‌های سرکه با استفاده از HPLC

Table 5. HPLC Analysis Results of Organic Acids in Vinegar Samples

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.

۷.۳. عناصر کم مقدار

در خصوص نیکل (Ni)، استیک اسید صنعتی بیشترین غلظت را نشان داد که ممکن است ناشی از استفاده از کاتالیست‌های 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 آن‌ها است. در تمامی نمونه‌ها، غلظت کبالت (Co) کمتر از حد تشخیص دستگاه بود که نشان‌دهنده 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 به‌عنوان یک ریزمغذی ضروری در واکنش‌های بیوشیمیایی و تعادل الکترولیتی بدن نقش دارد و حضور آن نشان‌دهنده منشأ طبیعی و ارزش تغذیه‌ای بالاتر سرکه‌های تخمیری است. افزایش منیزیم در سرکه‌های طبیعی احتمالاً ناشی از آزادسازی یون‌های معدنی از مواد گیاهی در طول تخمیر و فعالیت میکروبی می‌باشد که این موضوع قبلاً نیز توسط Judith و همکاران (۲۰۲۱) تأیید شده است [۳۰].

مطالعه Judith (2021) گزارش کرد که سرکه‌های صنعتی حاوی مقادیر بالاتری از فلزات سمی از جمله سرب، کروم و کادمیوم بودند، در حالی که سرکه‌های سنتی تخمیری غنی از عناصر مفید مانند منیزیم، پتاسیم و کلسیم بودند. در پژوهش مشابهی، سطح عناصر معدنی ضروری در سرکه‌های تخمیری خانگی به‌طور معنی‌داری بالاتر گزارش شد که نشان‌دهنده قابلیت جذب زیستی و مزایای عملکردی این محصولات است [۳۱].

وجود فلزات سنگین در سرکه، یکی از نگرانی‌های اساسی در حوزه ایمنی مواد غذایی است، زیرا این عناصر در غلظت‌های بالا می‌توانند باعث سمیت عصبی، سرطان‌زایی و اختلالات کلیوی شوند. منابع بالقوه آلودگی فلزی در سرکه شامل: مواد اولیه کشاورزی (به‌ویژه میوه‌هایی که از خاک یا آب آلوده تغذیه شده‌اند)، تجهیزات فلزی در مراحل تخمیر و تقطیر، افزودنی‌های شیمیایی صنعتی و ظروف ذخیره‌سازی می‌باشد [۲۹]. براساس استاندارد کدکس، سرکه‌های خوراکی باید از نظر فلزات سنگین مانند سرب، نیکل و کادمیوم در محدوده مجاز باقی بمانند و هرگونه افزایش غیرطبیعی در این عناصر می‌تواند نشان‌دهنده 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 به‌طور معنی‌داری بالاتر از دو گروه دیگر ($p < 0.05$) گزارش شد. این امر نشان‌دهنده منشأ سنتتیک و احتمال آلودگی از مسیرهای صنعتی است. در مقابل سرکه‌های تخمیری، به‌دلیل استفاده از مواد خام گیاهی و نقش میکروارگانیسم‌ها در رسوب‌گذاری یا جذب زیستی سرب، دارای غلظت به‌مراتب پایین‌تری 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.

جدول (۶). میزان عناصر کم مقدار در نمونه‌های سرکه.

Table 6. Trace Elements in Vinegar Samples.

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.

۴. پیشنهادات برای پژوهش‌های آینده

به‌منظور توسعه و تکمیل نتایج این پژوهش، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی تنوع و حجم نمونه‌های سرکه افزایش یابد و نمونه‌هایی از مناطق جغرافیایی مختلف کشور و همچنین سرکه‌های وارداتی مورد بررسی قرار گیرند. چنین رویکردی می‌تواند به ایجاد یک پایگاه داده جامع‌تر از ویژگی‌های شیمیایی، زیستی و ایمنی سرکه‌ها منجر شده و قابلیت تعمیم نتایج اصالت‌سنجی را ارتقا دهد. همچنین توصیه می‌شود در پژوهش‌های آینده شاخص‌های میکروبی و بار زیستی سرکه‌ها 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 کنترل‌شده روی مخلوط‌های متنوع سرکه تخمیری از میوه‌های متنوع به همراه مخلوط آنها با سرکه تقطیری در نسبت‌های مختلف و استیک اسید می‌تواند امکان تعیین آستانه تشخیص تقلب، به‌ویژه در سطوح پایین را فراهم آورد. از سوی دیگر به‌کارگیری روش‌های کمومتریک و تحلیل‌های چندمتغیره مبتنی بر داده‌های FTIR، پروفایل اسیدهای آلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رویکردی کارآمد برای تقویت سامانه‌های پایش اصالت سرکه در آینده خواهد بود.

۵. نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که سرکه‌های تخمیری، به‌واسطه فرآیند طبیعی تولید و غنی‌بودن از ترکیبات زیست‌فعال، از برتری قابل‌توجهی در جنبه‌های تغذیه‌ای، زیستی و ایمنی در مقایسه با سرکه‌های تقطیری برخوردارند. این تفاوت‌ها در افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی،

غلظت ترکیبات فنولی و اسیدهای آلی مشهود بود. با توجه به نتایج حاصل، محتوای فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی را می‌توان به‌عنوان یک شاخص تشخیص تقلب در سرکه‌های تخمیری در نظر گرفته می‌شود. گرچه این شاخص جهت تشخیص تقلب در سرکه‌های تقطیری چندان کارآمد نمی‌باشد. نتایج به‌دست آمده از داده‌ها تعیین اسیدیته نشان داد، اسیدیته صرفاً به‌عنوان یک شاخص ارزیابی کیفی محسوب می‌شود و نمی‌تواند به‌عنوان ملاک تشخیص تقلب در سرکه محسوب شود.

نتایج تعیین سرب در سرکه‌های تقطیری و تخمیری و مقایسه آن با استیک اسید صنعتی نشان داد؛ میزان سرب در نمونه‌های سرکه تقطیری به‌طور معناداری 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 می‌تواند، در کنار سایر عوامل مورد ارزیابی به‌عنوان شاخص ارزیابی تشخیص تقلب سرکه به‌کار رود؛ اما با توجه به اینکه در سرکه‌های تخمیری امکان آلودگی اولیه به سرب جهت تولید محصول وجود دارد، بنابراین این شاخص را نمی‌توان به تنهایی به‌عنوان ملاک تشخیص استیک اسید صنعتی و حضور کاتالیزور صنعتی در سرکه نسبت داد. نتایج تعیین منیزیم در نمونه‌های سرکه و استیک اسید صنعتی مورد بررسی نشان داد اندازه‌گیری منیزیم شاخص مناسبی جهت ارزیابی یا تشخیص تقلب در نمونه‌های سرکه تخمیری و تقطیری محسوب نمی‌شود؛ زیرا در سرکه‌های تخمیری مقادیر منیزیم بالا بود و در صورت استفاده از کاتالیزور منیزیم در فرایند تولید استیک اسید صنعتی وجه تمایزی بین انواع سرکه ایجاد نمی‌کند و نمی‌تواند به‌عنوان ملاک تشخیص تقلب در سرکه محسوب شود.

کاربردهای درمانی و عملکردی سرکه‌های 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.

نتایج حاصل از طیف‌سنجی FTIR و سایر آزمون‌های تحلیلی، وجود ساختارهای مولکولی خاص و ترکیبات مغذی را در سرکه‌های تخمیری تأیید می‌کنند؛ ساختارهایی که در نمونه‌های صنعتی و تقطیری به‌ندرت یافت شد که می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های تشخیصی معتبر برای تمایز سرکه‌های طبیعی از نمونه‌های تقلبی و صنعتی مورد استفاده قرار گیرند. این امر به‌ویژه در شرایطی که بازار با نمونه‌های تقلبی و کم‌کیفیت مواجه است، از اهمیت بالایی برخوردار است.

در مجموع، این مطالعه بر ضرورت شناخت دقیق‌تر ترکیبات زیست‌فعال و شاخص‌های اصالت در سرکه‌های تخمیری تأکید دارد. ادامه تحقیقات در این زمینه می‌تواند به ارتقا کنترل کیفیت، سلامت مصرف‌کنندگان، و توسعه

منابع

- [1] Román-Camacho, J.J., García-García, I., Santos-Dueñas, I.M., García-Martínez, T., & Mauricio, J.C. (2023). Latest trends in industrial vinegar production and the role of acetic acid bacteria: classification, metabolism, and applications—a comprehensive review. *Foods*, 12(19), 3705. <https://doi.org/10.3390/foods12193705>.
- [2] Luzón-Quintana, L.M., Castro, R., Durán-Guerrero, E. (2021). Biotechnological processes in fruit vinegar production. *Foods*, 10(5), 945. <https://doi.org/10.3390/foods10050945>.
- [3] Shahi, T.J.S., Pouyan, M., Ebrahimi, M., Hosseini, S., Raghara, H., et al. (2022). Comparison of physicochemical and antioxidant properties of traditional jujube, apple, and grape vinegars with industrial apple vinegar. *Iran. J. Food Sci. Technol.*, 18(121), 173. <https://doi.org/10.52547/fsct.18.121.14>.
- [4] Liu Q, Tang G-Y, Zhao C-N, Gan R-Y, & Li H-B. (2019). Antioxidant activities, phenolic profiles, and organic acid contents of fruit vinegars. *Antioxidants*, 8(4), 78. <https://doi.org/10.3390/antiox8040078>.
- [5] Perumpuli, P., Dilrukshi, D., Vinegar, A. (2022) functional ingredient for human health. *Int. Food Res. J.*, 29(5), 959–74. <https://doi.org/10.47836/ifrj.29.5.01>.
- [6] Chen, G-L., Zheng, F-J., Lin, B., Yang, Y-X., Fang, X-C., Verma, K.K., et al. (2023). Vinegar: A potential source of healthy and functional food with special reference to sugarcane vinegar. *Front. Nutr.*, 10, 1145862. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1145862>
- [7] Wagner, M., Heredia, J.Z., Montemerlo, A., Ortiz, D., Camiña, J.M., Garrido, M., et al. (2024). Multiparametric analysis and authentication of Argentinian vinegars from spectral sources. *J. Food Compos. Anal.*, 125, 105801. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105801>
- [8] Cavdaroglu, C., & Ozen, B. (2023). Applications of UV-visible, fluorescence and mid-infrared spectroscopic methods combined with chemometrics for the authentication of apple vinegar. *Foods*, 12(6), 1139. <https://doi.org/10.3390/foods12061139>.
- [9] Cavdaroglu, C., & Ozen, B. (2023). Authentication of vinegars with targeted and non-targeted methods. *Food Rev. Int.*, 39(1), 41–58. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1894169>
- [10] Cavdaroglu, C., & Ozen, B. (2022). Detection of vinegar adulteration with spirit vinegar and acetic acid using UV-visible and fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chem.*, 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. (2022). Optimization of ammonium phosphate, potassium sulfate and *Saccharomyces cerevisiae* in the production of acetic acid in a batch fermentor using response surface methodology. *Iran. Food Sci. Technol. Res. J.*, 18(4), 397-413. <https://doi.org/10.22067/IFSTRJ.2021.70315.1043>
- [13] Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-

- phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16(3), 144–58.
<https://doi.org/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 Rad. Bio. Med.* [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. (2021). A methodology based on FT-IR data combined with random forest model to generate spectralprints for the characterization of high-quality vinegars. *Foods*, 10(6), 1411.
<https://doi.org/10.3390/foods10061411>
- [16] Hajimahmoodi, M., Khanavi, M., Sadeghpour, O., Ardekani, MRS., Mazde, FZ., Khoddami, MS., et al. (2016). Application of organic acid based artificial neural network modeling for assessment of commercial vinegar authenticity. *Food Anal. Methods*, 9(12), 3451–9.
<https://doi.org/10.1007/s12161-016-0510-x>
- [17] Hashemi, M., Salehi, T., Aminzare, M., Raeisi, M., & Afshari, A. (2017). Contamination of toxic heavy metals in various foods in Iran: a review. *J. Pharm. Sci. Res.*, 9(10), 1692–7.
- [18] Solieri, L., & Giudici, P. (2008). Yeasts associated to traditional balsamic vinegar: ecological and technological features. *Int. J. Food Microbiol.*, 125(1), 36–45.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2007.06.022>
- [19] Cosmulescu, S., Stoenescu, A-M., Trandafir, I., & Tuțulescu, F. (2022). Comparison of chemical properties between traditional and commercial vinegar. *Horticulturae*, 8(3), 225.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae8030225>
- [20] Qi, Z., Yang, H., Xia, X., Wang, W., & Yu, X. (2014). High strength vinegar fermentation by *Acetobacter pasteurianus* via enhancing alcohol respiratory chain. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 19(2), 9-289, <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0727-0>
- [21] Ho, CW., Lazim, AM., Fazry, S., Zaki, UKHH., Lim, SJ. (2017). Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food Chem.*, 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. (2021). Fruits vinegar: Quality characteristics, phytochemistry, and functionality. *Molecules*, 27(1), 222.
<https://doi.org/10.3390/molecules27010222>
- [23] Yildiz E. (2023). Characterization of fruit vinegars via bioactive and organic acid profile using chemometrics. *Foods*, 12(20), 3769.
<https://doi.org/10.3390/foods12203769>
- [24] Antoniewicz, J., Kochman, J., Jakubczyk, K., & Janda-Milczarek, K. (2021). The influence of time and storage conditions on the antioxidant potential and total phenolic content in homemade grape vinegars. *Molecules*, 26(24), 7616.
<https://doi.org/10.3390/molecules26247616>
- [25] Bakir, S., Devecioglu, D., Kayacan, S., Toydemir, G., Karbancioglu-Guler, F., Capanoglu, E. (2017). Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars. *Eur. Food Res. Technol.*, 243(12), 2083–94.
<https://doi.org/10.1007/s00217-017-2908-0>
- [26] Mohamed, SH., Salim, AI., Issa, YM., & Ali, AE. (2021). Detection and identification of adulteration in vinegar samples based on reversed-phase high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) strategies. *ACS Food Sci. Technol.*, 2(1), 21–30.
<https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00169>
- [27] Kadiroğlu, P. (2018). FTIR spectroscopy for prediction of quality parameters and antimicrobial activity of commercial vinegars with chemometrics. *J. Sci. Food Agric.*, 98(11), 4121–7.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.8929>
- [28] Shao, L., Zhao, X., Cai, W., Zhang, Q., & Shan, C. (2025). Changes in nutrient composition, antioxidant capacity, phenolics, and volatile organic compounds in black mulberry vinegar across different fermentation stages. *Food Bios.*, 66, 106222.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106222>
- [29] Karavoltsos, S., Sakellari, A., Sinanoglou, VJ., Zoumpoulakis, P., Plavšić, M., Dassenakis, M., et al. (2020). Copper complexing capacity and trace metal content in common and balsamic vinegars: impact of organic matter. *Molecules*, 25(4), 861.
<https://doi.org/10.3390/molecules25040861>
- [30] Judith, OO., Ezemba, AS., Ajeh, JE., Chude, CO., & Ezemba, CC. (2021). Evaluation of the proximate and elemental composition of traditional and industrial produced vinegar. *Int. J. Innov. Res. Dev.*, 10(5).
<https://doi.org/10.24940/ijird/2021/v10/i5/MAY21040>
- [31] Antoniewicz, J., Jakubczyk, K., Kupnicka, P., Bosiacki, M., Chlubek, D., Janda, K. (2022). Analysis of selected minerals in homemade grape vinegars obtained by spontaneous fermentation. *Biol. Trace Elem. Res.*, 200, 910-919.
<https://doi.org/10.1007/s12011-021-02671-9>

*Research Article***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 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, Tehran, Iran

3. Department of Food Science and Technology, ShQ. C., Islamic Azad University, Shahr-e Qods, Iran

(Received 22 November 2025, Received in revised form 27 December 2025, Accepted 4 January 2026)

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

* Corresponding author: Fatemehghamari@pnu.ac.ir



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*