INFORMATICS IN BIOLOGY, HEALTH, AND FOOD

Interdisciplinary Explorations in Life Science

Volume 1 Number 1, Dec. 2024 DOI: 10.22034/ibhf.2024.207921

Original Article

Isolation, Biochemical and Molecular Identification of Indigenous *Acetobacter* Strains from Household Vinegar

Azam Aliasghari Veshareh [1], Mohammad Rabbani Khorasgani [*2], Rasoul Shafiee [3]

[1] Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

[2] Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, Faculty of Biological Science & Technology, University of Isfahan, Isfahan, Islamic Republic of IRAN.

[3] Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, Faculty of Biological Science & Technology, University of Isfahan, Isfahan, Islamic Republic of IRAN

Received: 2024/08/12 **Accepted:** 2024/10/17 **Online Published:** 2024/10/17

Abstract

Vinegar is a valuable food additive and preservative effective against food spoilage. *Acetobacters* are the most important bacteria in vinegar with significant worldwide importance in the vinegar production industry. Therefore, many studies have been done on these bacteria. This study aimed to isolate and identify acetic acid bacteria from vinegar by common bacterial culture methods and sequencing of the 16S rRNA gene. To isolate *Acetobacter* from vinegar, 13 samples of different types of vinegar (made from grape, apple, and berry) were collected from various parts of Isfahan and transferred to the laboratory. The samples were cultured on specific media and identified using macroscopic and microscopic observations, and PCR through 16S rRNA gene sequencing. Among the investigated samples, 3 *Acetobacter* samples were isolated. After performing PCR and comparing the sequence of the PCR product of all three 16S rDNA genes of bacteria with the data available in the NCBI gene bank, 99% similarity with *Acetobacter pasteurianus* was shown. By isolating *Acetobacter* from different types of vinegar, it is possible to investigate their ability to grow at high temperatures and with varying amounts of acetic acid and ethanol at various temperatures for the industrial applications of these bacteria.

Keywords: *Acetobacter pastorianum*, Acetic acid, PCR, Isfahan

Cite this article: Aliasghari Veshareh A, Rabbani Khorasgani M, Shafiee R. Isolation and biochemical and molecular Identification of Indigenous Acetobacter strains from household vinegar. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2024;1(1):1-8.

Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education

Corresponding author: Mohammad Rabbani Korasgani **Email**: m.rabbani@ biol.ui.ac.ir

Journal Homepage: https://ibhf.shandiz.ac.ir/

انفورماتیک در زیست‌شناسی، بهداشت و غذا

کاوش‌های بین رشته‌ای در علوم زیستی

DOI: 10.22034/ibhf.2024.207921

دوره: ۱. شماره ۱. آذر ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی سویه‌های بومی *استوباکتر* از سرکه خانگی

اعظم علی اصغری وشاره [۱]، محمد ربانی خوراسگانی*[۲]، رسول شفیعی [۳]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران.

[۲] گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

[۳] گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۲ **پذیرش:** ۱۴۰۳ /۷/۲۶ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۷/۲۶

چکیده

سرکه یک افزودنی و نگهدارنده غذایی با ارزش و مؤثر علیه فساد مواد غذایی است. *استوباکتر*ها از مهمترین باکتری‌های موجود در سرکه هستند که اهمیت به‌سزایی در صنعت تولید سرکه در سراسر جهان دارند. به دلیل اهمیت *استوباکترها* در تولید سرکه، مطالعات زیادی روی این باکتری‌ها در حال انجام است. لذا هدف از انجام این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسیداستیک از سرکه خانگی توسط روش معمول کشت میکروبی و همچنین تعیین توالی ژن 16s rRNA بود. به منظور جداسازی *استوباکتر* از سرکه، ۱۳ نمونه سرکه خانگی از انواع مختلف انگور، سیب و توت از مناطق مختلف اصفهان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها بر روی محیط‌های اختصاصی کشت داده شدند و با استفاده از مشاهدات ماکروسکوپی و میکروسکوپی و همچنین انجام ,واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با پرایمرهای 16s rRNA بر روی DNA باکتری‌ها و تعیین توالی آن‌ها، هویت آنها مشخص شد. در بین نمونه‌های مورد بررسی سه نمونه *استوباکتر* جداسازی شد. بعد از انجام Polymerase chain reaction (PCR) و مقایسه توالی محصول PCR هر سه ژن 16s rRNA باکتری‌ها با داده‌های موجود در بانک ژنی(NCBI) National Center for Biotechnology Information شباهت بالای ۹۹ درصد آن‌ها با باکتری *استوباکتر پاستوریانوم*، نشان داده شد. با جداسازی *استوباکتر* از انواع مختلف سرکه می‌توان در پژوهش‌های آینده به بررسی توانایی رشد آن ها در دماهای بالا و با مقدار متغیر اسیداستیک و اتانول در دماهای مختلف برای کاربردهای صنعتی این باکتری‌ها پرداخت.

کلمات کلیدی: *استوباکتر پاستوریانوم*، اسیداستیک، PCR، اصفهان

Cite this article: Aliasghari Veshareh A, Rabbani Khorasgani M, Shafiee R. Isolation and biochemical and molecular Identification of Indigenous Acetobacter strains from household vinegar. Informatics in Biology, Health, and Food. 2024;1(1):1-8.

Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education

Corresponding author: Mohammad Rabbani Korasgani **Email**: m.rabbani@ biol.ui.ac.ir

Journal Homepage: https://ibhf.shandiz.ac.ir/

مقدمه

سرکه[1] از کلمه‌ی فرانسوی vin aigre به معنای شراب ترش گرفته شده است (۱). سرکه به‌عنوان محلول اسید استیک ۴ درصد تعریف می‌شود که از تخمیر الکلی مواد قندی به دست می‌آید (۲) و می‌تواند تقریباً از هر منبع کربوهیدرات قابل تخمیر مانند خرما، ذرت، ملاس، سیب، گلابی، انگور، خربزه، نارگیل، سیب‌زمینی، چغندر، جو و آب‌پنیر ساخته شود (۱). اسید استیک ترکیب اصلی سرکه است. ترکیبات دیگر شامل آنتوسیانین (سیانیدین ۳- گلوکوزید)، فلاونول (مانند کوارستین، کامفرول)، ویتامین‌ها، موادمعدنی، آمینواسیدها و اسیدهای آلی غیر فرار (اسیدتارتاریک، اسیدسیتریک، اسیدمالیک، اسیدلاکتیک) می‌باشد (۳).

سرکه یک محصول جهانی است و تاریخ استفاده از آن به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش بازمی‌گردد که بشر از آن برای حفظ و طعم دادن به غذاها، مبارزه با عفونت‌ها، التیام زخم‌ها، ضدعفونی کردن سطوح، درمان دیابت، حذف چربی و از بین بردن بو استفاده می‌کرده است (۴). سرکه کاربردهای زیادی در صنایع غذایی، دارویی و شیمیایی دارد به‌عنوان‌مثال از آن به‌عنوان افزودنی، طعم‌دهنده، محافظت‌کننده و حلال شیمیایی استفاده می‌شود (۵). در روند تولید سرکه، ابتدا مخمرها قند موجود در مواد را به الکل و سپس باکتری‌های اسیداستیک (*استوباکتر*)، الکل را به اسیداستیک تبدیل می‌کنند (۱).

باکتری‌های اسیداستیک باکتری‌های گرم منفی و هوازی اجباری هستند که اسیداستیک را با اکسیداسیون اتانول تولید می‌کنند. این باکتری‌ها در خانواده *استوباکتریاسه*[2] طبقه‌بندی می‌شوند. جنس *استوباکتر* نماینده باکتری‌های سیداستیک است. *استوباکتر*ها دارای توانایی اکسید کردن استات و لاکتات به CO_2 و آب هستند (۶, ۷). تاکنون از جنس *استوباکتر* ۲۸ گونه معتبر شناسایی شده‌است که از محصولات تخمیر الکلی مختلف مانند انگور، شراب، کفیر، کامبوجا، آبجو، شراب برنج و دانه کاکائو و سرکه آن‌ها جداشده است. سلول‌های *استوباکتر* میله‌ای بیضی‌شکل، کوتاه، متحرک یا غیر متحرک هستند که معمولاً فعالیت کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی نشان می‌دهند. همچنین این باکتری‌ها دارای یوبیکوئینون با ۹ واحد ایزوپرن به‌عنوان کینون تنفسی غالب هستند (۶).

اعضای این خانواده در صنعت تولید سرکه مفید هستند. باکتری‌های اسیداستیک سوبستراهایی مانند گلوکز، اتانول، لاکتات و یا گلیسرول را به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند (۸). باکتری‌های اسیداستیک شامل جنس‌های *استوباکتر*، *گلوکونواستوباکتر*[3]، *فراتوریا*[4]، *اسیدوموناس*[5] و *گلوکونوباکتر*[6] می‌باشند. *استوباکتر*ها به‌عنوان مهم‌ترین آغازگر سرکه در این خانواده هستند. باکتری‌های اسیداستیک به‌ویژه *استوباکتر* و *گلوکونوباکتر*ها انواع پلی‌ساکاریدها مانند سلولز، دکستران و لوان که در کیفیت تولید سرکه تأثیرگذار هستند را می‌توانند تولید کنند. برخی *استوباکتر*های جهش‌یافته هگزو پلی‌ساکاریدهای هتروژنیک که با گلوکز، مانوز، رامنوز و گلوکورونیک‌اسید ترکیب می‌شوند را می‌توانند آزاد کنند (۹). از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در زنده ماندن باکتری‌های اسیداستیک می‌توان به غلظت اسیداستیک، غلظت اتانول، میزان اکسیژن و مواد غذایی در دسترس اشاره کرد (۲).

یکی از بزرگ‌ترین موانع در مطالعه باکتری‌های اسیداستیک، به‌ویژه آن‌هایی که از منابع حاوی غلظت بالایی از اتانول و اسیداستیک مانند سرکه جداسازی می‌شوند، جداسازی، کشت و نگهداری آن‌ها در محیط خالص می‌باشد (۱۰). ازنظر صنعتی، حساسیت باکتری‌های اسیداستیک به دماهای بالا و غلظت‌های بالای اتانول، نگرانی اصلی تولیدکنندگان است (۱۱).

در این مطالعه چندین نمونه سرکه بومی از سطح شهر اصفهان جهت جداسازی باکتری‌های مولد اسیداستیک موردبررسی قرار گرفت و بعد از شناسایی این باکتری‌ها با روش‌های کشت رایج، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[7] (PCR) صورت گرفت و سپس برای تعیین صحت کار و تعیین گونه باکتری‌ها توالی یابی انجام شد. همچنین توانایی رشد این جدایه ها در دماهای ۴۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد موردبررسی قرار گرفت.

---

[1] vinegar
[2] *Acetobacteriaceae*
[3] *Gluconacetobacter*
[4] *Fratueria*
[5] *Acidomonas*
[6] *Gluconobacter*
[7] Polymerase Chain Reaction

مواد و روش‌ها

۱۳ نمونه سرکه خانگی از نوع انگور، توت و سیب از شهرستان اصفهان و شهرضا تهیه شد. میزان اسیدیته آن‌ها با روش تیتراسیون تعیین شد.

جداسازی *استوباکتر* از سرکه و شناسایی با روش بیوشیمیایی

ابتدا باکتری‌های سرکه در محیط براث غنی‌سازی شدند. به این صورت که ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های سرکه به محیط براث YCGE[1] (۱ درصد عصاره مخمر، ۱ درصد کربنات کلسیم، ۰/۵ درصد گلوکز، ۵ درصد اتانول) اضافه شد. اسیدیته محیط با KOH بین ۶-۵/۵ تنظیم شد و به مدت ۳-۲ روز روی شیکر با دور ۱۵۰-۱۴۰ دور در دقیقه قرار گرفت. بعد از رشد باکتری‌ها در این محیط و مشاهده کدورت، ۱۰۰ میکرولیتر از آن‌ها در محیط YCGE آگار (۱ درصد عصاره مخمر، ۱ درصد کربنات کلسیم، ۰/۵ درصد گلوکز، ۵ درصد اتانول، ۱/۵ درصد آگار) و GYC (۵۰ گرم گلوکز، ۱۰ گرم عصاره مخمر، ۳۰ گرم کربنات کلسیم، ۱۵ گرم آگار، یک لیتر آب با pH =۶) کشت خطی داده شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. پس از پایان گرماگذاری پلیت‌ها ازلحاظ تغییر محیط کشت بررسی شدند. برای تعیین ویژگی‌های ماکروسکوپی کلنی‌های جداشده، مورفولوژی آن‌ها با استریو میکروسکوپ مشاهده شد. آزمایش‌های میکروسکوپی و بیوشیمیایی کلنی‌های خالص با رنگ‌آمیزی گرم، آزمون کاتالاز و تست اکسیداز انجام شد. همچنین برای بررسی توانایی *استوباکترها* در مصرف کربنات کلسیم و تخمیر گلوکز، این باکتری‌ها در محیط YCGE آگار و محیط (حاوی ۵ گرم گلوکز، ۰/۵ گرم $MgSO_4$، یک گرم H_2PO_4 (NH_4)، یک گرم KH_2PO_4، ۷ گرم عصاره مخمر، ۱۵ گرم آگار، ۱۰ گرم کربنات کلسیم، ۰/۰۲ گرم بروموکروزول ارغوانی، ۵ درصد اتانول ویک لیتر آب مقطر) کشت خطی داده شد. باکتری‌های جداشده با رنگ‌آمیزی گرم، آزمون اکسیداز و کاتالاز و توانایی تخمیر گلوکز موردبررسی قرار گرفتند.

شناسایی *استوباکتر* با روش مولکولی

استخراج DNA با روش جوشاندن

DNA باکتری‌های جداشده به روش جوشاندن استخراج شد. برای این منظور، استخراج DNA مطابق روش جونیور (۲۰۱۶) انجام شد. به‌طور خلاصه، چند کلنی از باکتری‌های جداشده به ۲۰۰ میکرولیتر بافر TE(10mM Tris-HCl and 1 mM EDTA) با pH=8 اضافه شد و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه جوشانده شد. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در یخ قرار داده شد و سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، مایع رویی حاوی DNA به یک میکروتیوب استریل منتقل شد (۱۲). برای تعیین میزان خلوص DNA استخراجی، جذب نوری آن در طول‌موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر خوانده شد.

روش انجام PCR

برای انجام PCR، ۵ میکرولیتر نمونه DNA، ۱ میکرولیتر پرایمر SP0 (SP05′-GAAGAGTTTGATCCTGGCTCA-3′) و 1 میکرولیتر پرایمر SP6 (SP6 5′-CTACGGCTACCTTGTTACGA -3)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR(10X)، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq polymerase در هر میکروتیوپ مخصوص PCR ریخته و حجم نهایی با آب دو بار تقطیر استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش PCR با ۲۹ سیکل با مراحل ۱) باز شدن DNA در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۲) اتصال پرایمر در دمای ۵۸/۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۳) مرحله پلیمریزه شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵۰ ثانیه و مرحله انتهایی در درجه حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. پس از انجام PCR محصول آن روی ژل آگارز ۱درصد مشاهده شد. محصولات PCR جهت تائید همراه با پرایمرهای استفاده‌شده برای تعیین توالی به شرکت ژن فن‌آوران ارسال شد. نتایج حاصل از تعیین توالی پس از خواندن توسط نرم افزار Chromas با داده‌های موجود در بانک ژنی National Center for Biotechnology Information (NCBI) با استفاده از برنامه BLAST مقایسه شد.

[1] Yeast extract Calcium carbonate Glucose Ethanol

نتایج

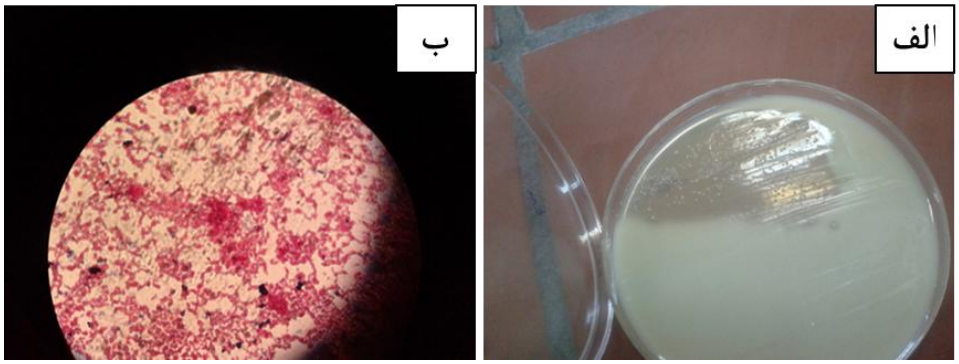
کشت و شناسایی بیوشیمیایی

از سه نمونه سرکه مختلف، یک نمونه سرکه سیب، یک نمونه توت و یک نمونه انگور، سویه‌های *استوباکتر* جداسازی شدند. نتایج حاصل از آزمون‌های افتراقی انجام‌شده نشان داد گونه‌های جداسازی شده متعلق به باکتری‌های اسیداستیک هستند. تمامی باکتری‌های جداشده گرم منفی و هوازی بودند. توانایی تمام این باکتری‌ها در حل کربنات کلسیم در محیط EM آگار و ایجاد هاله‌ای شفاف اطراف منطقه‌ی رشدشان نشان می‌دهد این باکتری‌ها توانایی استفاده از کربنات کلسیم را دارند که این ویژگی منحصر به جنس *استوباکتر* است. همچنین در محیط حاوی بروموکروزول ارغوانی نیز به دلیل تخمیر گلوکز محیط و تولید اسید، رنگ محیط در اطراف منطقه رشد باکتری‌ها زردرنگ شد. نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام‌شده که منجر به شناسایی جنس *استوباکتر* جداسازی شده از سرکه می‌باشد در جدول شماره (۱) آورده شده است.

جدول ۱. ویژگی‌های میکروسکوپی و بیوشیمیایی *استوباکترهای* جداسازی شده از سرکه.

Table 1. Microscopic and biochemical characteristics of *Acetobacter* isolated from vinegar.

	رشد در شرایط هوازی	+
	رشد در شرایط بی‌هوازی	–
تست‌های بیوشیمیایی	اکسیداز	–
	کاتالاز	+
	تخمیر گلوکز	+
	توانایی استفاده از کربنات کلسیم	+

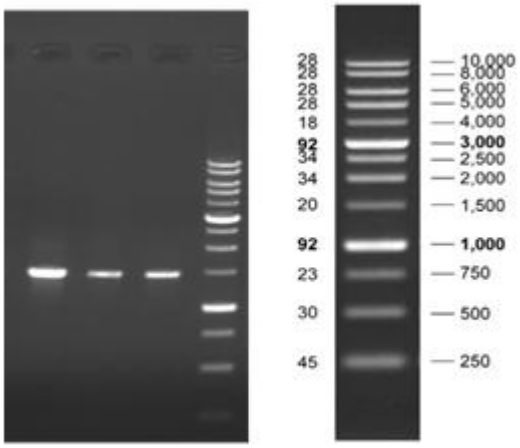


شکل ۱. تصویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی *استوباکتر* الف) نمایی از انحلال کربنات کلسیم در محیط YCGE آگار، ب) تصویر میکروسکوپی باکتری گرم منفی *استوباکتر*.

Figure 1. Macroscopic and microscopic image of *Acetobacter*. a) View of calcium carbonate dissolution in YCGE, b) Microscopic image of gram-negative *Acetobacter*.

شناسایی مولکولی

نتایج حاصل از مقایسه تعیین توالی ژن 16S rRNA سویه‌های جداسازی شده با توالی‌های دیگر موجود در بانک ژن مشابهت بیش از ۹۹٪ با *استویاکتر پاستوریانوس* (accession number:KP637023) را نشان داد.



شکل ۲. محصول نهایی PCR با مشاهده باندهای ۱۵۰۰bp (سمت چپ). مارکر ۱ Kb DNA ladder. Cat.No. PR901645 (سمت راست).

Figure 2. The final PCR product by observing the bp1500 bands (left side). 1Kb DNA ladder marker. Cat.No. PR901645 (right side)

بحث

باکتری‌های اسیداستیک به دلیل توانایی اکسیداسیون سریع و ناکامل مواد کربنی به‌ویژه قند و الکل در چندین فرایند زیست‌فناوری ازجمله تولید سرکه استفاده می‌شوند (۱۳). بین باکتری‌های اسیداستیک، گونه‌های *استوباکتر* مهم‌ترین باکتری‌ها در صنعت تولید سرکه هستند (۲). این باکتری‌ها اکسیداسیون زیستی اتانول به اسیداستیک را توسط دو آنزیم متصل به غشا به نام کوئینوپروتئین الکل دهیدروژناز (۴) و آلدئید دهیدروژناز کاتالیز می‌کنند (۱۴). ازآنجاکه اکسیداسیون یک فرایند گرمازاست و باعث افزایش دما می‌شود ویژگی تحمل در برابر دما در باکتری‌های اسیداستیک یک مزیت در صنعت تولید سرکه می‌باشد (۱۳).

مطالعه حاضر به‌منظور جداسازی، شناسایی و خالص‌سازی *استوباکتر پاستوریانوم* از سرکه انجام گرفت که بدین منظور از چند نمونه سرکه خانگی انگور، سیب و توت در استان اصفهان استفاده شد. در این مطالعه استفاده از روش PCR که روش سودمندی در شناسایی باکتری‌ها به دلیل دقت، حساسیت و همچنین صرفه‌جویی در زمان و هزینه می‌باشد، برای شناسایی باکتری‌های جداسازی شده، روش‌های کشت در محیط‌های اختصاصی و بیوشیمیایی نیز استفاده شد. همچنین برای تعیین گونه باکتری‌ها، نمونه‌ها تعیین توالی شدند و با مقایسه با داده‌های موجود در بانک ژنی نشان داده شد که باکتری‌های جداشده از نوع *استوباکتر پاستوریانوس* هستند.

در مورد جداسازی *استوباکتر* از سرکه گزارش‌های زیادی وجود دارد چنانچه از ایران هم گزارش جداسازی صورت گرفته است. مقدمی و همکاران (۱۳۸۳)، با جداسازی باکتری‌های مولد اسیداستیک از ۷۰ نمونه سرکه خانگی و همچنین تمایز متابولیسمی آن‌ها به روش کشت در محیط‌های اختصاصی از میان ۳۹ جنس جداسازی شده ۲۳ جنس *استوباکتر* گزارش کردند و با بررسی تحمل حرارتی نمونه‌های جداسازی شده در محیط GYC، نشان دادند یک‌سوم آن‌ها مقاوم به‌گرما هستند. در این پژوهش گونه *استوباکترهای* جداشده ذکر نشده است (۱۵).

Ndoye و همکاران (۲۰۰۶) دو باکتری *A.* CWBI-B418 *tropicalis* و *A. pasteurianus* CWBIB419 را به ترتیب از انبه و غلات جداسازی کردند و میزان تولید اسیداستیک توسط

این باکتری‌ها را در دماهای مختلف مورد بررسی قراردادند (۱۴).

در مطالعه‌ای دیگر Kommanee و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که ۷ سویه *استوباکتر* از بین ۴۷ باکتری جداشده از میوه‌ها و گل‌ها در تایلند که بر اساس فنوتایپیک، شیمیوتاکسونومیک و تعیین توالی 16S rRNA شناسایی شدند، *استوباکتر پاستوریانوم* PHD-23 بیشترین میزان اسیداستیک از اتانول را تولید کرده است (۷).

Konate و همکاران (۲۰۱۴)، ۱۰۴ سویه باکتری از شراب نخل[1] جداسازی کردند و از بین آن‌ها ۵ سویه که بهترین توانایی از نظر رشد داشتند را انتخاب و با آزمایش‌های بیوشیمیایی، مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی نشان دادند هر ۵ سویه *استوباکتر پاستوریانوس* بوده که قادر بودند شرایط اسیدی و الکلی و همچنین دمای ۳۷ درجه را به خوبی تحمل کنند (۸).

Illeghems و همکاران (۲۰۱۳)، با جداسازی *استوباکتر پاستوریانوم* از تخمیر دانه کاکائو[2] این سویه را به دلیل تحمل در برابر مقدار اسید، الکل و دمای بالا به‌عنوان یک استارتر کاربردی پیشنهاد کردند (۱۶).

Ilabaca و همکاران (۲۰۰۸)، به ارزیابی تنوع باکتری‌های اسیداستیک در تولید سرکه با استفاده از روش‌های مولکولی مستقل از توانایی رشد آن‌ها در محیط کشت پرداختند و گزارش کردند *استوباکتر پاستوریانوس* مهم‌ترین میکروارگانیسم شناسایی‌شده در سرکه است که در پایان فرایند استریفیکاسیون به‌عنوان تنها میکروارگانیسم موجود در نظر گرفته شد (۱۷).

Sampaio و همکاران (۲۰۱۴)، مطالعه‌ای را با هدف شناسایی مولکولی باکتری‌های جداشده به‌عنوان آلاینده‌های صنعت اتانول در ایالت پرنامبوکو، انجام دادند و با تعیین توالی 16S rDNA و آنالیز آن، *استوباکتر پاستوریانوم* و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* را به‌عنوان آلودگی در صنعت تولید اتانول به روش مولکولی شناسایی کردند (۱۸)

نتیجه‌گیری

استوباکتر پاستوریانوس از مهم‌ترین باکتری‌های مسئول تخمیر استیک و ویژگی طعم دهندگی به سرکه است و سویه‌هایی که ازنظر تحمل شرایط دمایی و اتانول بالا برتری داشته باشند، در صنعت تولید سرکه اهمیت دارند. با جداسازی این باکتری از سرکه در این پژوهش می‌توان زمینه تحقیقات بیشتر و کامل‌تری را در آینده برای بررسی توانایی رشد باکتری‌های جداسازی شده در شرایط مختلف با مقادیر متغیری از اسیداستیک و اتانول و در دماهای مختلف فراهم نمود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در دانشکده علوم و فناوری های زیستی دانشگاه اصفهان و با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان انجام شد بدینویسله از این معاونت محترم تشکر می‌نماییم.

References

1. Johnston CS, Gaas CA. Vinegar: medicinal uses and antiglycemic effect. Medscape General Medicine. 2006;8(2):61. PMID: 16926800; PMCID: PMC1785201.
2. Maal KB, Shafiee R. Isolation and identification of an Acetobacter strain from Iranian white-red cherry with high acetic acid productivity as a potential strain for cherry vinegar production in food and agriculture biotechnology. Word Academy of Science, Engineering and Technology. 2009;3:06-23.
3. Setorki M, Asgary S, Eidi A, Rohani AH, KHazaei M. Acute effects of vinegar intake on some biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. Lipids in health and disease. 2010;9:1-8. Doi: 10.1186/1476-511X-9-10
4. Al-Kharousi ZS, Al-Ramadhani Z, Al-Malki FA, Al-Habsi N. Date Vinegar: First Isolation of Acetobacer and Formulation of a Starter Culture.Foods.2024;13(9):1389.doi:10.3390/foods13091389
5. Maal KB. Identification of a thermo-tolerant Acetobacter strain isolated from Iranian date palm (rotab) suitable for date vinegar production in agricultural biotechnology. Advances in Environmental Biology. 2014;8(10):106371.
6. Baek JH, Kim KH, Moon JY, Yeo S-H, Jeon CO. Acetobacter oryzoeni sp. nov., isolated from Korean rice wine vinegar. International

[1] Palm wine
[2] Cocoa bean

Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2020;70(3):2026-33. doi: 10.1099/ijsem.0.004008
7. Kommanee J, Tanasupawat S, Yukphan P, Thongchul N, Moonmangmee D, Yamada Y. Identification of Acetobacter strains isolated in Thailand based on the phenotypic, chemotaxonomic, and molecular characterizations.2012. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20123157316
8. Konate M, Akpa EE, Koffi LB, Sévérin Kra KA, Megnanou R-M, Niamke S. Isolation of thermotolerant and high acetic acid-producing Acetobacter pasteurianus from Ivorian palm wine. Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA).2014;26(9).doi:10.9755/ejfa.v26i9.18122
9. Maal KB, Shafiee R. Characterization of an Acetobacter strain isolated from Iranian peach that tolerates high temperatures and ethanol concentrations. World Academy of Science Engineering and Technology. 2010;62:141-5. https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2539326
10. Torija M, Mateo E, Guillamón J, Mas A. Identification and quantification of acetic acid bacteria in wine and vinegar by TaqMan–MGB probes. Food Microbiology. 2010;27(2):257-65. doi:10.1016/j.fm.2009.10.001
11. Es-sbata I, Lakhlifi T, Yatim M, El-Abid H, Belhaj A, Hafidi M, et al. Screening and molecular characterization of new thermo-and ethanol-tolerant Acetobacter malorum strains isolated from two biomes Moroccan cactus fruits. Biotechnology and Applied Biochemistry.2021;68(3):476-85. doi:10.1002/bab.1941
12. Junior JCR, Tamanini R, Soares BF, de Oliveira AM, de Godoi Silva F, da Silva FF, et al. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. Semina: Ciências Agrárias. 2016;37(5):3069-78. doi:10.5433/16790359.2016v37n5p3069
13. Gullo M, Giudici P. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for starter cultures selection. International journal of food microbiology. 2008;125(1):46-53. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.076
14. Ndoye B, Lebecque S, Dubois-Dauphin R, Tounkara L, Guiro A-T, Kere C, et al. Thermoresistant properties of acetic acids bacteria isolated from tropical products of Sub-Saharan Africa and destined to industrial vinegar. Enzyme and Microbial Technology. 2006;39(4):916-23. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.01.020
15. Moghadami, Fauzia, Soudi, Zadeh R, Sepehr, Shayesteh. Isolation of acetic acid-producing bacteria from domestic vinegar and evaluation of their thermal stability. Journal of Tehran university. 200305.
16. Illeghems K, De Vuyst L, Weckx S. Complete genome sequence and comparative analysis of Acetobacter pasteurianus 386B, a strain well-adapted to the cocoa bean fermentation ecosystem. BMC genomics. 2013;14:1-14. doi: 10.1186/1471-2164-14-526
17. Ilabaca C, Navarrete P, Mardones P, Romero J, Mas A. Application of culture culture-independent molecular biology based methods to evaluate acetic acid bacteria diversity during vinegar processing. International Journal of Food Microbiology. 2008;126(1-2):245-9. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.001
18. Sampaio M, Calazans G, Silva M. Molecular identification of Acetobacter pasteurianus and Lactobacillus fermentum, contaminating an ethanol industry in the state of Pernambuco. InBMC Proceedings 2014 Oct 1 (Vol. 8, No. Suppl 4, p. P200). London: BioMed Central. doi: 10.1186/1753-6561-8-S4-P200.